

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI DAUN MAJAPAHIT
(*Crescentia cujete L.*) TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* ATCC 25922 SECARA *IN-VITRO***

SKRIPSI



Oleh:

NIKEN DESI WULANDHARI

1813206020

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

2022

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI DAUN MAJAPAHIT
(*Crescentia cujete L.*) TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* ATCC 25922 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:

NIKEN DESI WULANDHARI

1813206020

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

2022

HALAMAN PERSETUJUAN

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI DAUN MAJAPAHIT
(*Crescentia cujete L.*) TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli*
ATCC 25922 SECARA *IN-VITRO***

SKRIPSI

Yang diajukan oleh:

NIKEN DESI WULANDHARI

1813206020

Tanggal: Agustus 2022

Telah disetujui oleh:

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

apt. Choirul Huda, M.Farm
NIDN. 072 603 8502


Rahma Diyan M., S.Si., M.Sc
NIDN. 071 002 9101

HALAMAN PENGESAHAN

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI DAUN MAJAPAHIT
(*Crescentia cujete L.*) TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli*
ATCC 25922 SECARA *IN-VITRO***

SKRIPSI

Oleh:

NIKEN DESI WULANDHARI

1813206020

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

Tanggal: Agustus 2022

Ketua Penguji : apt. Choirul Huda, M. Farm

Anggota Penguji : 1. Rahma Diyan Martha, S.Si., M.Sc

2. apt. Amalia Eka Putri, M. Farm

3. Afidatul Muadhifah, S.Si., M.Si

Mengetahui,

Ketua STIKes Karya Putra Bangsa



apt. Arif Santosa, M. Farm

HALAMAN PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan diterbitkan dalam daftar pustaka.

Tulungagung, Agustus 2022

Niken Desi Wulandhari

KATA PENGANTAR



Assalamu'alaikum warrahmatullahi wabarakatuh.

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas segala limpahan rahmat dan kasih sayang-Nya, penulis dapat menyelesaikan proposal dengan judul **“Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 Secara *In-Vitro*”** ini dengan lancar meskipun banyak kekurangan.

Proposal ini merupakan salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Farmasi (S. Farm) pada Jurusan S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan (STIKes) Karya Putra Bangsa. Penyusunan proposal ini tidak akan terselesaikan dengan baik dan lancar tanpa bantuan banyak pihak, baik secara moril maupun materiil. Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Bapak apt. Arif Santoso, M.Farm selaku ketua STIKes Karya Putra Bangsa.
2. Ibu apt. Dara Pranidya Tilarso, M.Farm selaku Ketua Program Studi S1 Farmasi.
3. Bapak apt. Choirul Huda, M.Farm selaku dosen pembimbing utama yang telah memberikan bimbingan dalam penyelesaian proposal hingga skripsi.
4. Ibu Rahma Diyan Martha, S.Si., M.Sc selaku dosen pembimbing II yang telah memberikan saran dan masukan selama penyusunan proposal hingga skripsi.
5. Kepada Ketua Laboran dan seluruh laboran yang ada di STIKes Karya Putra Bangsa yang telah membantu saya dalam menyelesaikan penelitian.
6. Seluruh teman serta angkatan 2018 Jurusan Farmasi yang telah memberikan dukungan semangat dan do'a yang tulus.

7. Teman Departemen Bahan Alam yang telah memberikan dukungan semangat.
8. Kedua orang tua saya yang memberikan dukungan semangat, do'a dan selalu membantu baik moril maupun materiil selama penyusunan proposal hingga skripsi dengan penuh kesabaran dan ketulusan.
9. Bias saya Min Yoongi yang telah memberikan motivasi dan dukungan semangat selama penyusunan proposal hingga skripsi.
10. Seluruh anggota Grup Calon Orang Sukses yang telah memberikan dukungan semangat dalam menyelesaikan proposal hingga skripsi.
11. Seluruh anggota Happy Family yang telah memberikan dukungan semangat dalam menyelesaikan proposal hingga skripsi.
12. Niken Desi Wulandhari karena telah berhasil sampai pada tahap ini dengan menyelesaikan skripsi tepat waktu.
13. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu-persatu.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna, sehingga kritik dan saran yang bersifat membangun dari semua pihak sangat diharapkan untuk memperbaiki skripsi. Penulis berharap semoga skripsi ini memberikan manfaat bagi pembaca dan menambah pengetahuan bagi semua pihak. Terimakasih.

Wassalamu'alaikum warrahmatullahi wabarakatuh.

Tulungagung, Agustus 2022

Niken Desi Wulandhari

HALAMAN PERSEMBAHAN

Tugas akhir ini saya persembahkan untuk kedua orang tua saya, dosen, sahabat, teman, orang yang membenci saya dan semua pihak yang telah bertanya:

“kapan sidang?”, “kapan wisuda?”

“kapan menyusul?”, “kapan selesai study?” dan lain sejenisnya,

Kalian adalah alasan saya segera menyelesaikan skripsi ini dengan tepat waktu.

“Skripsi yang baik adalah skripsi yang selesai”- dr. Vioent Firdausy Fitriani

Untuk diri saya sendiri Niken Desi Wulandhari saya persembahkan skripsi ini untuk kamu lebih semangat melanjutkan ke jenjang berikutnya ingat “tangga kesuksesan tak pernah penuh sesak di bagian puncak”- *Napoleon Hill*

Terimakasih kepada semua pihak yang telah mendukung saya dalam penyelesaian skripsi hingga akhir dengan menjaga mental health tetap aman terkendali.

Terakhir terimakasih Kepada Tuhan Yang Maha Esa untuk semuanya,

Diberikan kesehatan, ketentraman dan kesabaran dalam menyelesaikan skripsi.

DAFTAR ISI

LEMBAR JUDUL PROPOSAL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
KATA PENGANTAR	v
HALAMAN PERSEMBAHAN	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
INTISARI	xv
ABSTRACT	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Tanaman Majapahit (<i>Crescentia cujete L.</i>)	5
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi	5
2.1.2 Manfaat atau Khasiat	6
2.2 Kandungan senyawa	7
2.2.1 Alkaloid	7

2.2.2 Saponin.....	7
2.2.3 Flavonoid.....	8
2.3 Simplisia.....	9
2.3.1 Penggolongan Simplisia.....	10
2.3.2 Pembuatan Simplisia.....	10
2.4 Ekstraksi.....	12
2.4.1 Maserasi.....	12
2.4.2 Perkolasi.....	13
2.4.3 Soxhletasi.....	13
2.4.4 Refluks.....	14
2.4.5 Digesti.....	14
2.4.6 Infus.....	14
2.5 Metode Pemurnian dengan Fraksinasi.....	14
2.6 Pelarut.....	15
2.6.1 Aquades atau Air.....	15
2.6.2 Etanol.....	16
2.6.3 Diklorometana.....	16
2.6.4 N-heksana.....	17
2.6.5 DMSO.....	17
2.7 Bakteri.....	17
2.8 Antibakteri.....	20
2.9 Uji Aktivitas Antibakteri.....	21
2.9.1 Metode Difusi.....	22
2.9.2 Metode Dilusi.....	23
2.10 Obat Antibakteri Chlorampenicol.....	24

2.11 Hipotesis.....	25
2.12 Kerangka Penelitian.....	26
BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....	27
3.1 Bahan dan Alat	27
3.1.1 Bahan.....	27
3.1.2 Alat.....	27
3.2 Populasi Penelitian	27
3.3 Sampel Penelitian	27
3.4 Variabel Penelitian.....	28
3.4.1 Variabel Bebas.....	28
3.4.2 Variabel Kontrol	28
3.4.3 Variabel Terikat	28
3.5 Metode Penelitian	28
3.5.1 Determinasi Tanaman	28
3.5.2 Pembuatan Simplisia.....	29
3.5.3 Pemeriksaan karakteristik simplisia.....	29
3.5.4 Pembuatan ekstrak daun majapahit (<i>Crescentia cujete L.</i>)	30
3.5.5 Pemeriksaan karakteristik ekstrak.....	31
3.5.6 Skrining Fitokimia	31
3.5.7 Fraksinasi.....	32
3.5.8 Uji Daya Hambat Bakteri Ekstrak Daun Majapahit	32
3.6 Analisis Statistika	36
3.6.1 Uji Normalitas Data	36
3.6.2 Uji <i>Kruskal Wallis</i>	36
3.7 Jadwal Penelitian	37

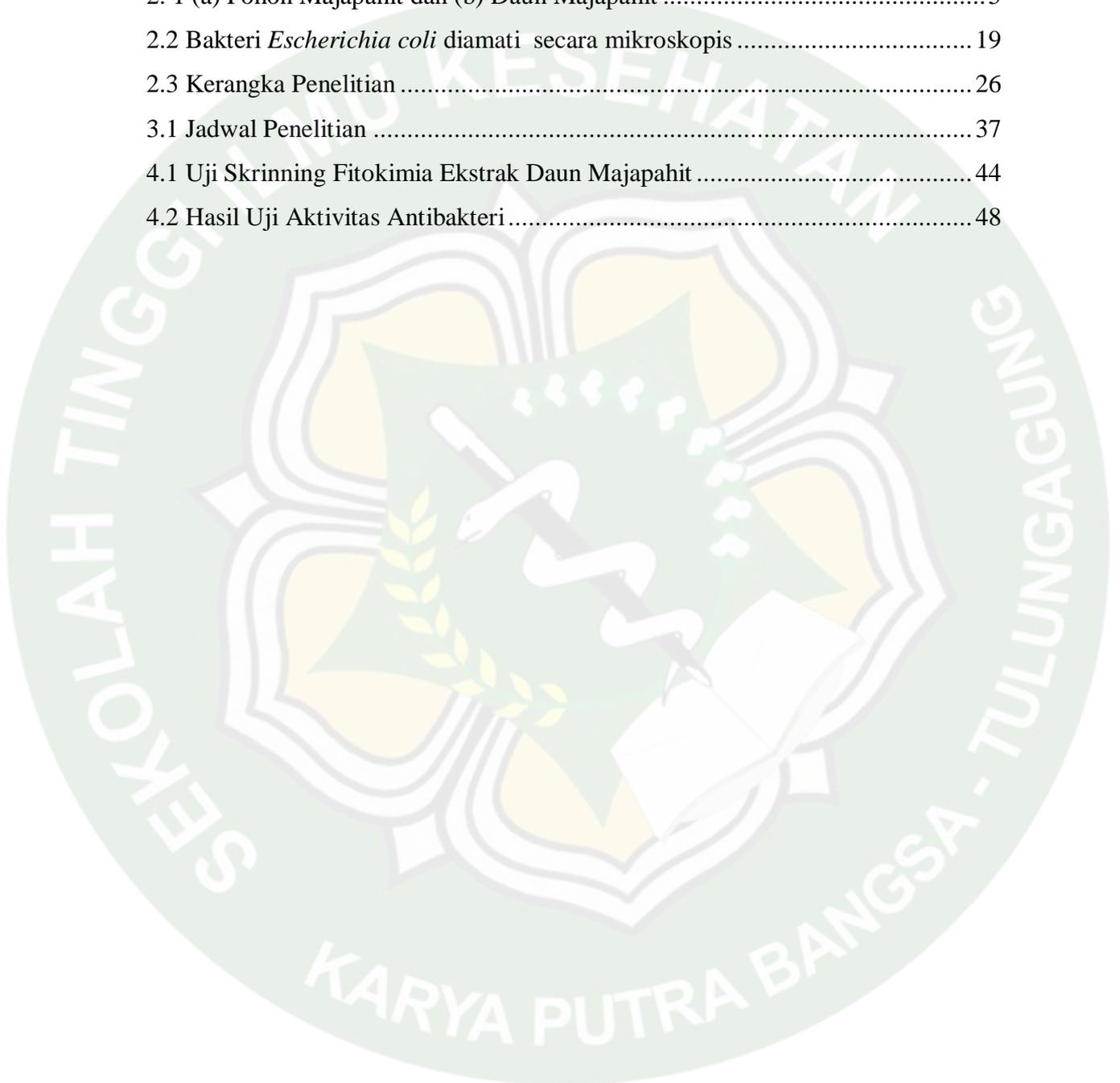
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	38
4.1 Determinasi Tanaman	38
4.2 Pembuatan Simplisia Serbuk Daun Majapahit	38
4.2.1 Uji Susut Pengeringan	39
4.2.2 Uji Kadar Air Simplisia	40
4.3 Pembuatan Ekstrak Daun Majapahit	41
4.3.1 Uji Organoleptik	42
4.3.2 Uji Bebas Etanol	43
4.4 Skrining Fitokimia	44
4.4.1 Flavonoid	45
4.4.2 Alkaloid	45
4.4.3 Saponin	46
4.5 Fraksinasi Daun Majapahit (<i>Crescentia cujete L.</i>)	46
4.6 Analisis Data	50
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	53
5.1 Kesimpulan	53
5.2 Saran	53
DAFTAR PUSTAKA	54

DAFTAR TABEL

Tabel	Hal
2.1 Kategori respon hambatan pertumbuhan bakteri berdasarkan diameter zona hambat	23
4.1 Hasil Uji Susut Pengerinan Simplisia Daun Majapahit	40
4.2 Hasil Uji Kadar Air Simplisia Serbuk Daun Majapahit	40
4.3 Hasil Rendemen Ekstrak Daun Majapahit	42
4.4 Hasil Uji Bebas Etanol Esktrak Daun Majapahit.....	43
4.5 Hasil Uji Skrinning Fitokimia Ekstrak Daun Majapahit	44
4.6 Hasil Rendemen Fraksi Daun Majapahit.....	47
4.7 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Majapahit Terhadap Bakteri Escherichia Coli.....	49

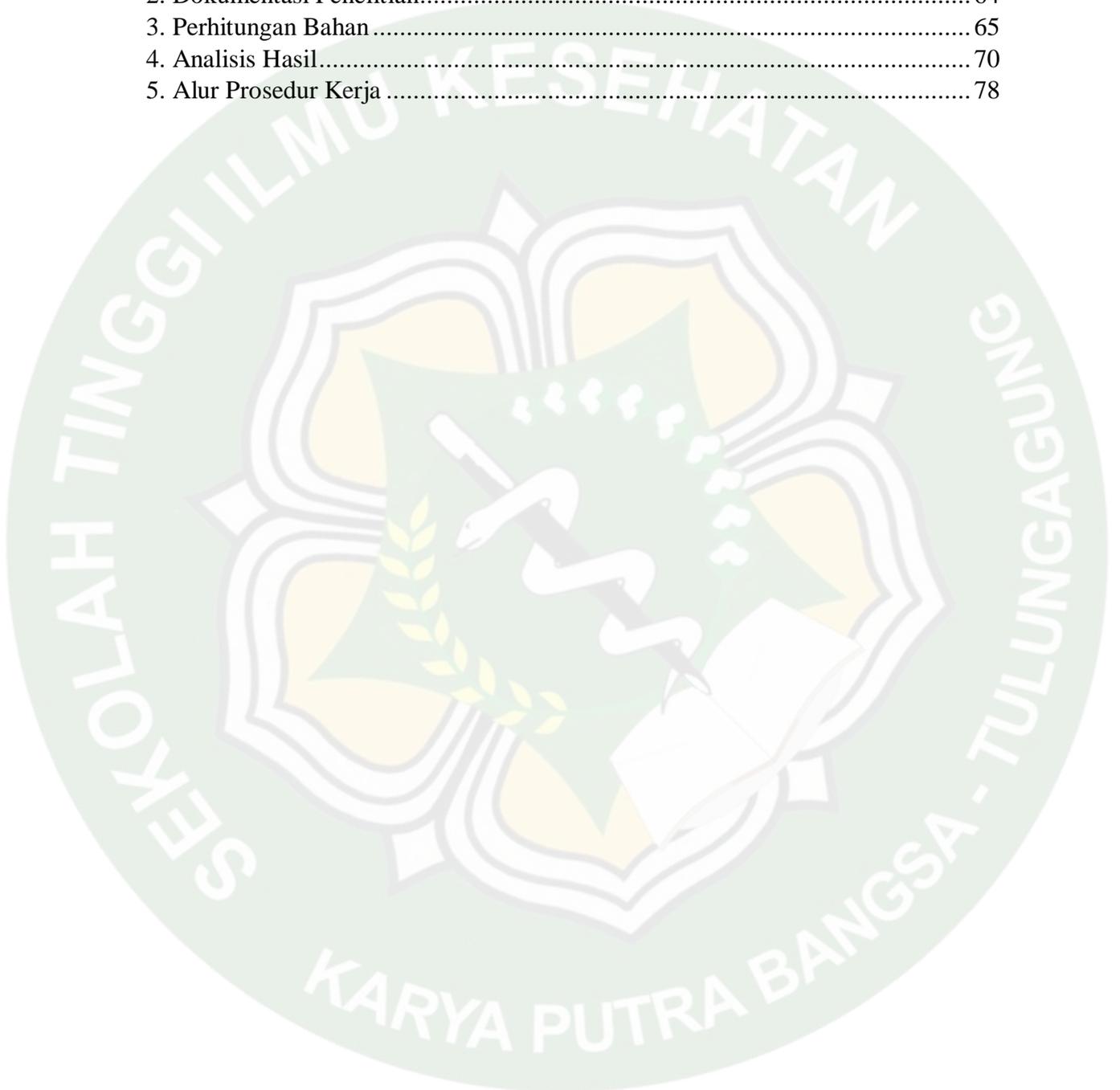
DAFTAR GAMBAR

Gambar	Hal
2. 1 (a) Pohon Majapahit dan (b) Daun Majapahit	5
2.2 Bakteri <i>Escherichia coli</i> diamati secara mikroskopis	19
2.3 Kerangka Penelitian	26
3.1 Jadwal Penelitian	37
4.1 Uji Skrinning Fitokimia Ekstrak Daun Majapahit	44
4.2 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri.....	48



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Hal
1. Hasil Determinasi Daun Majapahit (<i>Crescentia cujete L.</i>)	63
2. Dokumentasi Penelitian.....	64
3. Perhitungan Bahan	65
4. Analisis Hasil.....	70
5. Alur Prosedur Kerja	78



**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI DAUN MAJAPAHIT
(*Crescentia cujete L.*) TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli*
ATCC 25922 SECARA *IN-VITRO***

**Niken Desi Wulandhari
Program Studi S1 Farmasi**

INTISARI

Escherichia coli ialah suatu bakteri, yang bisa menakibatkan penyakit infeksi kepada manusia, antara lain infeksi saluran kemih, kram perut, serta diare. *Escherichia coli* ialah bakteri gram yang negatif. Untuk tujuan penelitiannya sendiri ialah supaya tahu aktivitas dari antibakteri fraksi daun Majapahit dan konsentrasi optimum untuk menghambat bakteri *Escherichia coli*. Daun Majapahit diekstraksi dengan metode maserasi memakai etanol 70% berikutnya fraksinasi memakai pelarut Aqua dest, diklorometana, dan n-Heksana. Skrining fitokimia ekstrak daun Majapahit terhadap kandungan flavonoid, alkaloid, dan saponin. Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi paper disc dengan kontrol positif kloramfenikol serta dengan kontrol negatif DMSO 10%. Hasil skrining fitokimia ekstrak positif ada senyawa flavonoid, alkaloid, dan saponin. Dari pengujian aktivitas ini, antibakteri fraksi daun Majapahit mempunyai aktivitas antibakteri yang ditunjukkan dengan ada suatu zona bening di sekitaran cakram. Fraksi aqua dest merupakan fraksi paling aktif yang dapat menghambat bakteri *Escherichia coli*. Berdasar dari analisa data yang sudah dilaksanakan bisa ditarik kesimpulan jika pemakaian jenis pelarut yang berbeda tidak menghasilkan perbedaan yang signifikan dalam menghambat bakteri *Escherichia coli*

Kata kunci: Antibakteri, daun majapahit, fraksinasi, *Escherichia coli*

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF MAJAPAHIT (*Crescentia
cujete L.*) LEAF FRACTION AGAINST *Escherichia coli*
ATCC 25922 BACTERIA BY IN-VITRO**

**Niken Desi Wulandhari
Pharmacy S1 Study Program**

ABSTRACT

Escherichia coli is a bacterium that can cause infectious diseases to humans, including urinary tract infections, stomach cramps, and diarrhea. *Escherichia coli* is a gram negative bacteria. The purpose of this study was to determine the antibacterial activity of the Majapahit leaf fraction and the optimum concentration to inhibit *Escherichia coli* bacteria. Majapahit leaves were extracted by maceration method using 70% ethanol followed by fractionation using Aqua dest solvent, dichloromethane, and n-Hexane. Phytochemical screening of Majapahit leaf extract for the content of flavonoids, alkaloids, and saponins. Antibacterial activity was tested using paper disc diffusion method with positive control of chloramphenicol and negative control of 10% DMSO. The results of the phytochemical screening of the extract were positive for flavonoid compounds, alkaloids, and saponins. From the results of the antibacterial activity test, the Majapahit leaf fraction had antibacterial activity which was indicated by the presence of a clear zone around the disc. The aqua dest fraction is the most active fraction that can inhibit *Escherichia coli* bacteria. Based on the data analysis that has been carried out, it can be concluded that the use of different types of solvents does not produce significant differences in inhibiting *Escherichia coli* bacteria.

Keywords: Antibacterial, Majapahit leaf, fractionation, *Escherichia coli*

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Indonesia termasuk negara berkembang yang mempunyai masalah kesehatan yang cukup tinggi (Sari, 2017). Masalah kesehatan yang dominan di Indonesia adalah penyakit infeksi diikuti oleh penyakit degeneratif yang dipengaruhi oleh gaya hidup (Sari, 2017). Permasalahan penyakit infeksi terjadi hampir di seluruh dunia, namun 10% permasalahan infeksi di Asia Tenggara didapatkan di negara Indonesia (Sari, 2017). Penyakit infeksi dapat menular dari satu individu ke individu lain, yaitu dapat ditularkan dari manusia ke manusia maupun dari hewan ke manusia. Infeksi merupakan suatu penyakit yang dapat disebabkan oleh mikroorganisme yaitu jamur, virus, parasit dan bakteri (Safitri, 2020).

Bakteri merupakan salah satu penyebab penyakit infeksi (Kusumawati *et al.*, 2017). Beberapa contoh bakteri yang menyebabkan penyakit infeksi yaitu *Clostridium botulinum*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhii*, *Shigella flexneri*, *Shigella shigae*, dan *Staphylococcus aureus* (Sari, 2017). Salah satu contohnya yaitu bakteri *Escherichia coli* yang merupakan flora normal yang terdapat pada manusia, namun dapat menyebabkan infeksi (Sari, 2017). Infeksi *Escherichia coli* disebabkan oleh makanan dan air minum atau kontak yang terkontaminasi langsung ke pasien atau dengan hewan yang membawa bakteri (Sumampouw, 2018).

Buah-buahan mentah, sayuran mentah, air minum yang tidak sehat dan produk-produknya kontak langsung dengan hewan ternak. Infeksi *Escherichia coli* dapat dengan mudah ditularkan dari orang ke orang. Persiapan dan kebersihan penanganan makanan yang aman kunci untuk mencegah penyebaran *Escherichia coli* (Sumampouw, 2018). Bakteri *Escherichia coli* merupakan bakteri Gram negatif yang mempunyai bentuk basil yang terdapat pada usus manusia dapat menyebabkan infeksi saluran kemih, kram perut dan diare (Sari, 2017).

Menurut Penelitian dari Zakki, (2015) dijelaskan bahwa bakteri *Escherichia coli* juga menyebabkan penyakit kardiovaskular dan dampak negatifnya pada ginjal yakni terjadi peradangan ginjal.

Pengobatan yang umum untuk penyakit infeksi dilakukan dengan pemberian obat-obatan antibiotik (Safitri, 2020). Pemberian antibiotik adalah pengobatan utama dalam terapi penyakit infeksi bakteri, manfaat dari penggunaan antibiotik tidak perlu diragukan lagi. Penggunaan antibiotik dalam pengobatan untuk manusia dimulai sejak tahun 1940 penggunaan antibiotik semakin luas dan mengakibatkan meluasnya potensi resistensi bakteri (Sari, 2017). Obat-obatan antibiotik yang pada awalnya sensitif terhadap adanya mikroorganisme ini dapat menjadi tidak sensitif, keadaan ini disebut dengan resistensi antibiotik (Safitri, 2020). Terjadinya resistensi obat-obatan antibiotik ini dapat disebabkan oleh faktor-faktor pemicu seperti penggunaan antibiotik yang tidak tepat. Timbulnya banyak kasus resistensi terhadap obat-obatan antibiotik ini menyebabkan kebutuhan untuk mencari alternatif antibiotik lain menjadi meningkat, termasuk antibiotik dari tumbuh-tumbuhan berkhasiat obat (Safitri, 2020).

Tumbuhan memiliki senyawa metabolit sekunder yang bersifat antibakteri dan dapat digunakan untuk antibiotik (Sari, 2017). Tumbuhan sudah banyak dimanfaatkan sebagai obat tradisional oleh masyarakat umumnya memiliki khasiat dalam mengobati penyakit tertentu sehingga bisa dikatakan bahwa tumbuhan memiliki potensi untuk menghasilkan senyawa antibiotik (Sari, 2017). Menurut WHO (2013), banyak di negara Asia masih menggunakan obat tradisional sebagai pencegahan penyakit.

Tumbuhan yang dapat digunakan sebagai obat tradisional untuk penyakit infeksi adalah tanaman majapahit (*Crescentia cujete L.*), tumbuhan ini berasal dari family *Bignoniaceae*. Kawasan Asia Tenggara dan Asia Selatan merupakan negara yang berpotensi ditumbuhi tanaman majapahit (Rismayani, 2013). Manfaat pada tanaman majapahit sangat banyak hampir semua bagian tanaman telah ditemukan manfaatnya (Ningrum, 2019). Tumbuhan majapahit sudah dimanfaatkan sebagai ekspektoran, obat cacing, analgesik, antiinflamasi dan antipiretik (Khan, 2015). Tanaman ini juga mempunyai khasiat sebagai antibakteri (Ningrum, 2019).

Tanaman majapahit khususnya pada daun majapahit (*Crescentia cujete L.*) mengandung senyawa metabolit sekunder meliputi alkaloid, saponin dan flavonoid (Ningrum, 2019). Obat tradisional cenderung menggunakan bagian tumbuhan yang memiliki khasiat untuk mengobati penyakit (Sari, 2017).

Pada penelitian yang dilakukan oleh Ningrum (2019), belum dilakukan proses fraksinasi, sehingga pada penelitian ini dilakukan proses fraksinasi untuk memisahkan senyawa berdasarkan kepolarannya secara sederhana serta untuk mengetahui aktivitas antibakteri pada pelarut yang digunakan. Fraksinasi juga mampu memperluas spektrum aktivitas maserat pada tumbuhan (Huda *et al.*, 2019). Berdasarkan permasalahan yang telah dipaparkan penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antibakteri fraksi daun majapahit (*Crescentia cujete L.*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*, yaitu salah satu bakteri yang dapat menyebabkan penyakit infeksi pada manusia.

1.2 Rumusan Masalah

- 1.2.1 Bagaimana aktivitas antibakteri fraksi daun majapahit (*Crescentia cujete L.*) terhadap bakteri *Escherichia coli*?
- 1.2.2 Berapakah konsentrasi optimum fraksi daun majapahit (*Crescentia cujete*) pada seri konsentrasi 5%, 10%, dan 15% terhadap bakteri *Escherichia coli*?

1.3 Tujuan Penelitian

- 1.3.1 Mengetahui aktivitas antibakteri fraksi daun majapahit (*Crescentia cujete*) terhadap bakteri *Escherichia coli*.
- 1.3.2 Mengetahui konsentrasi optimum fraksi daun majapahit (*Crescentia cujete*) pada seri konsentrasi terhadap bakteri *Escherichia coli*.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi Masyarakat

Memberikan informasi kepada masyarakat bahwa daun majapahit (*Crescentia cujete L.*) memiliki aktivitas antibakteri.

1.4.2 Bagi Instansi

Dapat menjadi referensi pengembangan obat dari bahan alam dan menjadi dasar penelitian lebih lanjut tentang kandungan yang dimiliki sebagai antibakteri.

1.4.3 **Bagi pendidikan**

Dapat menjadi bahan informasi dan pengembangan penelitian selanjutnya.

1.4.4 **Bagi peneliti**

Untuk pemenuhan tugas akhir sebagai persyaratan kelulusan pada strata satu farmasi dan dapat menambah pengetahuan serta pengalaman.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Majapahit (*Crescentia cujete* L.)



(a)

(b)

Gambar 2. 1 (a) Pohon Majapahit (*Crescentia cujete* L.) dan (b) Daun Majapahit (*Crescentia cujete* L.) (Dokumentasi Pribadi)

Gambar 2.1 (a) merupakan bentuk pada pohon majapahit (*Crescentia cujete* L.) dari atas hingga ke pangkal pohon sedangkan, gambar 2.1 (b) adalah bentuk dari daun majapahit (*Crescentia cujete* L.). Tanaman majapahit (*Crescentia cujete* L.) memiliki nama umum majapahit, mojopahit, mojo, maja, berenuk (Jawa); tabu kayu (Melayu); bila balanda (Makassar); dan buah no (Terate).

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

- Kingdom : Plantae (Tumbuhan)
- Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
- Class : Dicotyledonae
- Ordo : Scrophulariales
- Family : Bignoniaceae
- Genus : *Crescentia*
- Species : *Crescentia cujete* L. (MMI, 2021)

Pohon majapahit mempunyai tinggi \pm 10 m, mempunyai batang berkayu, bulat beralur berwarna putih kehitaman (MMI, 2021). Buah majapahit merupakan

tanaman perdu, dengan kulit buah berwarna hijau dan memiliki kulit tempurung yang sangat keras. Pohon majapahit dapat tumbuh sampai dua puluh meter dengan tajuk yang tumbuh menjulang ke atas dan kayunya sangat keras (Rismayani, 2013). Perbanyakannya bisa secara generatif (biji) maupun vegetatif (cangkok). Batangannya berkayu, bulat, bercabang dan berwarna putih kekuningan. Batang berkayu (lignosus), berbentuk silindris, batang tua kadang melintir satu sama lain, berwarna coklat dan permukaan kasar. Tanaman majapahit merupakan tanaman dari family *Bignoniaceae*, yang penyebarannya tumbuh di dataran rendah hingga ketinggian \pm 500 m dari permukaan laut. Indonesia salah satu kawasan yang berpotensi ditumbuhi tanaman majapahit. Pohon majapahit mampu tumbuh di lahan basah seperti rawa-rawa maupun di lahan kering dan ekstrim, pada suhu 49°C pada musim kemarau (Rismayani, 2013). Tanaman majapahit memiliki daun majemuk, menyirip, lonjong, bertepi rata, ujung meruncing, pangkal membulat, panjang sekitar 10-15 cm, lebar 5-7 cm, bertangkai pendek, berwarna hijau, tulang daun menyirip, dan berwarna hijau (MMI, 2021).

2.1.2 Manfaat atau Khasiat

Manfaat tanaman majapahit sangat beragam semua bagian pohon telah ditemukan berguna. Kayu digunakan untuk gagang alat, iga di kapal kuk bangunan dan ternak dan labu untuk cangkir, wadah dan alat musik (Ningrum, 2019). Berdasarkan uji fitokimia yang telah dilakukan, ekstrak daun majapahit (*Crescentia cujete L.*) mengandung senyawa flavonoid, saponin dan alkaloid. Senyawa tersebut diketahui memiliki sifat antibakteri (Ningrum, 2019). Ekstrak daun majapahit (*Crescentia cujete L.*) memiliki zona hambat paling besar dibandingkan dengan ekstrak yang terdapat di buah dan kulit batang (Rinawati, 2011).

Menurut penelitian yang telah dilakukan Ningrum (2019), ekstrak daun majapahit memberikan aktivitas antibakteri terhadap beberapa bakteri patogen. Ekstrak daun majapahit diberi perlakuan konsentrasi yang berbeda yaitu 10%, 15%, 20% dan 25%. Menghasilkan aktivitas antibakteri berupa zona hambat yang ditandai dengan terbentuknya lingkaran bening di sekitar disk. Zona hambat paling efektif ditunjukkan pada konsentrasi 25% dengan zona hambat paling luas 10,66

mm untuk bakteri *Escherichia coli* dan 12,33 mm untuk bakteri *Staphylococcus aureus*.

2.2 Kandungan senyawa

Daun majapahit (*Crescentia cujete L.*) mempunyai kandungan senyawa antara lain alkaloid, saponin dan flavonoid (Ningrum, 2019).

2.2.1 Alkaloid

Alkaloid salah satu senyawa metabolit sekunder pada tanaman. Alkaloid adalah suatu golongan senyawa organik yang banyak ditemukan dalam tumbuhan yang ada di alam. Hampir semua jenis tumbuhan mengandung alkaloid. Semua alkaloid terdapat atom nitrogen yang mempunyai sifat basa dan merupakan bagian dari cincin heterosiklik. Alkaloid mempunyai titik didih berkisar 87⁰-238⁰C (Lisiana, 2016). Alkaloid memiliki kegiatan fisiologi yang menonjol dan sering digunakan secara luas dalam bidang pengobatan. Alkaloid merupakan senyawa yang mempunyai satu atau lebih atom nitrogen biasanya dalam gabungan dan sebagian dari sistem siklik (Nilda, 2012).

Alkaloid merupakan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman. Kebanyakan alkaloid diturunkan dari asam amino, alkaloid berfungsi sebagai antimikroba (Charisma, 2020). Alkaloid biasanya tidak larut dalam air, tetapi mudah larut dalam pelarut organik yang bersifat semi polar (eter, benzena, dan kloroform). Dalam bentuk garamnya, alkaloid mudah larut dalam pelarut organik polar (Charisma, 2020). Sifat basa alkaloid menyebabkan senyawa tersebut sangat mudah mengalami dekomposisi, terutama oleh panas dan sinar dengan adanya oksigen. Senyawa alkaloid terdapat gugus basa yang mengandung nitrogen yang akan bereaksi dengan senyawa asam amino yang menyusun dinding sel bakteri dan DNA bakteri. Reaksi ini mengakibatkan terjadinya perubahan struktur dan susunan asam amino, sehingga akan menimbulkan perubahan keseimbangan genetik pada rantai DNA sehingga sel akan mengalami kerusakan dan mendorong terjadinya lisis bakteri yang menyebabkan kematian sel bakteri (Charisma, 2020).

2.2.2 Saponin

Saponin adalah senyawa metabolit sekunder dari tanaman (Charisma, 2020). Saponin merupakan glikosida yang tersusun dari gula yang berikatan dengan

aglikon (sapogenin) yang terdiri dari rantai triterpenoid atau steroid (Charisma, 2020). Saponin memiliki sifat cenderung polar karena ikatan glikosidanya. Saponin memiliki rumus kimia $C_{30}H_{48}O_{10}$. Struktur saponin menyebabkan saponin bersifat seperti deterjen (Damayanti, 2021). Saponin memiliki berat molekul tinggi yaitu 414,6231 g/mol. Saponin memiliki titik didih yang cukup tinggi yaitu 158°C dan densitas $0,5 \text{ g/cm}^3$ pada suhu 20°C (Damayanti, 2021). Saponin mempunyai karakteristik berupa buih atau busa, sehingga ketika direaksikan dengan air dan dikocok maka akan terbentuk buih atau busa yang dapat bertahan lama dan stabil. Saponin mudah larut dalam air dan sulit larut dalam eter, memiliki rasa pahit menusuk dan menyebabkan bersin serta iritasi pada selaput lendir. Saponin juga merupakan racun yang dapat menyebabkan hancurnya butir darah atau hemolisis pada darah, bersifat racun bagi hewan berdarah dingin. Asapotoksin merupakan saponin yang bersifat keras atau racun (Arif *et al.*, 2018).

Saponin dapat digunakan sebagai antibakteri dengan cara menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri. Saponin akan berikatan dengan lipopolisakarida yang terdapat pada dinding sel bakteri, hal ini mengakibatkan peningkatan permeabilitas dinding sel bakteri sehingga membran menjadi tidak stabil dan menurunkan tegangan permukaan dari dinding sel bakteri sehingga dinding sel tersebut akan mengalami lisis. Zat antibakteri akan masuk ke dalam sel kemudian zat tersebut akan mengganggu metabolisme yang dapat menyebabkan bakteri mati (Dwicahyani *et al.*, 2018).

2.2.3 Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa yang terdiri dari C₆-C₃-C₆. Flavonoid umumnya terdapat pada tumbuhan sebagai glikosida. Flavonoid banyak terdapat pada seluruh bagian tumbuhan, termasuk pada buah, tepung sari, dan akar (Charisma, 2020). Flavonoid merupakan senyawa polar yang dapat larut pada pelarut polar seperti metanol, etanol, dan air. Flavonoid merupakan salah satu senyawa aktif pada tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri. Mekanisme flavonoid yaitu akan mengakibatkan lisis dan menghambat proses pembentukan dinding sel bakteri. Dapat diketahui mekanisme diatas menyebabkan

daun majapahit dapat membunuh ataupun menghambat pembentukan bakteri (Ningrum, 2019).

Berdasarkan penelitian Wahyusi (2020) pada suhu 80⁰C merupakan suhu yang mendekati dengan titik didih senyawa flavonoid. Sistem aromatik terkonjugasi merupakan senyawa fenol yang terkandung dalam flavonoid. Sistem aromatik terkonjugasi pada suhu tinggi mudah rusak dan golongan flavonoid memiliki ikatan glikosida dengan molekul gula yang mudah rusak atau putus pada suhu tinggi (Oktavia, 2011). Flavonoid bersifat bakteristatik karena adanya reaksi dari suatu senyawa kimia. Flavonoid sebagai antibakteri memiliki 3 mekanisme kerja yaitu menghambat sintesis asam nukleat yang menyebabkan penghambatan pembentukan DNA dan RNA, merusak membran sitoplasma bakteri dan menghambat metabolisme energi (Rijayanti, 2014). Flavonoid dapat merusak membran sitoplasma senyawa tersebut menyebabkan bocornya metabolit penting dan dapat mengaktifkan sistem enzim bakteri. Kerusakan membran sitoplasma dapat menyebabkan nukleotida dan asam amino keluar, mencegah bahan-bahan aktif masuk ke dalam sel sehingga menyebabkan kematian bakteri. Flavonoid dapat menghambat metabolisme energi dengan menghambat sitokrom C reduktase sehingga pembentukan metabolisme dapat terhambat dan menghambat penggunaan oksigen oleh bakteri sehingga bakteri akan mati (Rijayanti, 2014). Flavonoid menghambat fungsi membran sel, membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri, diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler (Charisma, 2020).

2.3 Simplisia

Simplisia adalah bahan alami yang digunakan untuk membuat obat-obatan tradisional yang belum diproses kecuali untuk proses pengeringan. Proses pengeringan adalah proses pembuatan inti dari simplisia, karena merupakan bahan pengeringan alami. Proses pengeringan simplisia, merupakan faktor utama yang mempengaruhi adalah efek suhu. Simplisia adalah pengolahan tanaman obat yang paling sederhana dan tidak mengubah sifat alami tanaman. Simplisia merupakan bagian tanaman obat yang diolah menjadi simplisia kering. Tidak semua tanaman dapat digunakan atau diproses secara langsung, sehingga jika sisa panen dibiarkan

akan rusak dengan cepat. Selain itu, menjadikan Simplisia juga membantu menyediakan sumber daya tanaman musiman dan non-musiman yang tidak tersedia sepanjang musim. Misalnya, tanaman ini dalam pertumbuhan vegetatif dan sulit digunakan selama musim hujan dalam bentuk rimpang basah (Widaryanto *and* Azizah, 2018).

2.3.1 Penggolongan Simplisia

Terdapat beberapa golongan simplisia antara lain simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia mineral atau pelikan.

2.3.1.1 Simplisia Nabati

Simplisia yang terbentuk dari tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman (isi sel yang keluar secara langsung dari tanaman atau dengan cara dikeluarkan dari sel ataupun dengan cara tertentu dipisahkan dari tanaman dan belum berupa zat kimia murni) (Utami *et al.*, 2013). Jenis simplisia nabati yang paling banyak digunakan adalah daun (*folium*). Spesies tumbuhan obat yang dijadikan simplisia nabati teridentifikasi 126 jenis dari 54 famili (Irwanta *et al.*, 2015).

2.3.1.2 Simplisia Hewani

Simplisia yang terbentuk dari hewan utuh, sebagian hewan atau zat yang berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni (Utami *et al.*, 2013).

2.3.1.3 Simplisia Mineral atau Pelikan

Simplisia berupa mineral atau pelikan yang belum mengalami proses pengolahan sederhana dan belum berupa zat kimia murni (Utami *et al.*, 2013).

2.3.2 Pembuatan Simplisia

Tahapan dalam pembuatan simplisia pasca panen, yaitu sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan, sortasi kering serta pengepakan dan penyimpanan (Emilan *et al.*, 2011). Sortasi basah, dilakukan untuk mendapatkan bahan baku yang benar dan murni, yang berarti dari tanaman yang merupakan bahan baku simplisia yang dimaksud, bukan dari tanaman lain. Perlu dilakukan pemisahan dan pembuangan pengotor pada tumbuhan atau bagian tumbuhan lain

yang ikut. Bahan baku simplisia harus bersih, tidak tercampur dengan tanah, kerikil atau pengotor lainnya yang dapat mengganggu simplisia (Emilan *et al.*, 2011).

Pencucian, menggunakan air dan mata air, sumur, atau air PAM. Dalam air yang digunakan untuk mencuci, dilarutkan kalium permanganat untuk menekan angka kuman (Emilan *et al.*, 2011). Pencucian dilakukan dengan air bersih yang berasal dari sumur untuk menghilangkan tanah dan pengotoran lainnya yang melekat pada bahan simplisia (Charisma, 2020). Pencucian dilakukan tiga kali, satu kali dapat menghilangkan 25% dari jumlah mikroba, bila pencucian dilakukan sebanyak tiga kali, jumlah mikroba yang tertinggal hanya 42% dari jumlah mikroba awal (Damayanti, 2021).

Perajangan, dilakukan untuk mempercepat proses pengeringan. Perajangan dapat dilakukan secara manual maupun dengan menggunakan mesin perajangan dengan ketebalan yang sesuai. Bila perajangan terlalu tebal proses pengeringan akan terlalu lama dan mengakibatkan tumbuhnya jamur serta terjadi pembusukan. Perajangan yang terlalu tipis mengakibatkan rusaknya kandungan kimia karena oksidasi atau reduksi (Emilan *et al.*, 2011).

Pengeringan, merupakan proses pengawetan simplisia agar tahan lama selama penyimpanan. Pengeringan dilakukan untuk menghindari terurainya kandungan kimia karena pengaruh enzim (Damayanti, 2021). Pengeringan yang cukup akan mencegah pertumbuhan mikroorganisme dan kapang. Tanda dari simplisia telah kering adalah mudah hancur saat diremas dan mudah patah. Pengeringan sebaiknya tidak dilakukan di bawah matahari secara langsung, namun dapat dengan almari pengering yang dilengkapi dengan kipas penyedot udara sehingga terjadi sirkulasi yang baik ('Azizah, 2018). Bila tetap dilakukan pengeringan dibawah sinar matahari maka perlu ditutup dengan kain hitam untuk menghindari terurainya kandungan kimia dan debu. Agar pengeringan berlangsung dengan cepat, bahan dibuat rata dan tidak bertumpuk (Emilan *et al.*, 2011).

Sortasi kering, dilakukan untuk memisahkan kotoran, bahan organik asing, dan simplisia yang rusak karena sebagai akibat proses sebelumnya (Emilan *et al.*, 2011). Dilanjutkan dengan proses pengepakan dilakukan menggunakan bahan pengepak yang sesuai dengan simplisia. Bahan pengepak yang baik adalah

karung goni atau karung plastik, karena lebih mudah penempatannya ('Azizah, 2018). Penyimpanan harus teratur dan rapi untuk mencegah resiko tercemar atau saling mencemari satu sama lain, serta untuk memudahkan pengambilan, pemeriksaan dan pemeliharaan. Simplisia yang disimpan harus diberi label yang mencantumkan identitas, kondisi, jumlah, mutu dan cara penyimpanan. Tempat penyimpanan harus memenuhi syarat, yaitu bersih tertutup, sirkulasi udara baik, tidak lembab, penerangan cukup bila diperlukan, sinar matahari tidak boleh leluasa masuk ke dalam gudang, konstruksi konstruksi dibuat sedemikian rupa sehingga serangga atau tikus tidak dapat leluasa masuk, tidak mudah banjir serta terdapat alas dari kayu (hati-hati karena balok kayu sangat disukai rayap) atau bahan lain untuk meletakkan simplisia yang sudah dikemas tadi. Simplisia yang keluar dari penyimpanan harus dilaksanakan dengan cara mendahulukan bahan yang disimpan lebih awal ("*First in - First out*"=FIFO) (Emilan *et al.*, 2011).

2.4 Ekstraksi

Ekstraksi adalah penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Ekstraksi merupakan proses penarikan senyawa dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Simplisia mengandung senyawa aktif yang dapat larut dan senyawa yang tidak dapat larut seperti serat, karbohidrat, protein dan lain-lain (Mukhriani, 2014). Beberapa macam cara untuk melakukan Ekstraksi, yaitu ekstraksi cara dingin: maserasi dan perkolasi. Sedangkan ekstraksi cara panas: soxhlet, refluks, digesti dan infus (Emilan *et al.*, 2011)

2.4.1 Maserasi

Maserasi adalah proses perendaman sampel dalam pelarut untuk menarik komponen yang diinginkan dengan kondisi dingin. Keuntungannya yaitu lebih praktis dan tidak memerlukan pemanasan (Bawa *et al.*, 2014). Maserasi adalah cara ekstraksi yang paling sederhana. Bahan simplisia yang digunakan dibuat dalam serbuk kasar kemudian dilarutkan dengan bahan pengekstraksi (Damanik *et al.*, 2014). Metode maserasi dilakukan dengan cara merendam bahan ke dalam pelarut, metode ini sangat cocok untuk bahan yang tidak tahan dengan suhu tinggi dan akan rusak jika mengalami pemanasan yang berlebih. Proses maserasi dilakukan di

dalam tempat yang tertutup dan gelap dengan tujuan terhindar dari cahaya atau penerangan, agar proses berlangsung secara efektif. Proses maserasi dihentikan dan dilanjutkan dengan penyaringan (Damayanti *and* Fitriana, 2013).

Modifikasi dari maserasi adalah remaserasi atau maserasi bertingkat. Remaserasi menggunakan cairan penyari seperti cairan penyari pertama. Filtrat yang diperoleh dari maserasi pertama dimaserasi kembali dengan cairan penyari kedua (Charisma, 2020). Menurut Charisma (2020), hasil rendemen metode remaserasi menghasilkan jumlah rendemen tertinggi pada kisaran nilai 15,60% - 16,70%. Metode maserasi menghasilkan rendemen terendah dengan kisaran nilai 12,20% - 12,60%. Pelarut metode remaserasi lebih banyak dan memperoleh nilai rendemen yang lebih tinggi dibandingkan metode maserasi. Ekstraksi dengan metode remaserasi, residu pelarut yang digunakan merupakan pelarut baru, pelarut belum mengalami kejenuhan dan memiliki kemampuan mengekstrak lebih tinggi. Larutan jenuh merupakan larutan yang mengandung jumlah zat yang terlarut berlebihan pada suhu tertentu, sehingga kelebihan tersebut tidak dapat lagi melarut. Jenuh menandakan pelarut telah seimbang dengan zat terlarutnya atau larutan sudah tidak dapat melarutkan zat terlarut yang ditambahkan dan konsentrasi telah mencapai titik maksimal (Charisma, 2020).

2.4.2 Perkolasi

Perkolasi merupakan proses ekstraksi dengan pelarut yang dialirkan melalui kolom perkolator yang diisi dengan serbuk simplisia atau sampel, dan ekstrak akan dikeluarkan melalui keran secara perlahan. Secara umum proses perkolasi dilakukan pada suhu ruang. Parameter berhentinya penambahan pelarut adalah perkolat sudah tidak mengandung komponen senyawa yang diambil dengan pengamatan fisik pada ekstraksi bahan alam terlihat tetesan perkolat sudah tidak berwarna (Atun, 2014).

2.4.3 Soxhletasi

Soxhletasi adalah proses ekstraksi dilakukan dengan pelarut yang selalu baru, umumnya dilakukan dengan alat khusus soxhlet sehingga terjadi ekstraksi konstan dengan adanya pendingin balik. Serbuk bahan ditempatkan pada selongsong dengan pembungkus kertas saring, kemudian ditempatkan pada alat

soxhlet yang telah dipasang labu dibawahnya. Tambahkan pelarut sebanyak 2 kali sirkulasi. Pasang pendingin balik, panaskan labu, ekstraksi berlangsung minimal 3 jam dengan interval sirkulasi kira-kira 15 menit (Atun, 2014). Namun, terdapat juga kelemahan pada metode ini yaitu dapat menyebabkan rusaknya solute atau komponen lainnya yang tidak tahan panas karena pemanasan ekstrak yang dilakukan secara terus menerus (Tiwari *et al.*, 2011).

2.4.4 Refluks

Refluks adalah metode ekstraksi dengan cara panas menggunakan pelarut pada temperatur titik didihnya. Menggunakan jumlah pelarut yang terbatas dan relatif konstan dengan adanya pendingin balik dilakukan selama waktu tertentu. Umumnya akan dilakukan dengan pengulangan proses 3-5 kali sehingga dapat dikategorikan ekstraksi yang sempurna (Charisma, 2020).

2.4.5 Digesti

Digesti adalah metode maserasi kinetik dengan cara pengadukan kontinu pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan, secara umum dilakukan pada temperatur 40-45°C (Charisma, 2020).

2.4.6 Infus

Infus sebagai metode ekstraksi yang umumnya dilakukan menggunakan pelarut air, dipanaskan pada temperatur penangas air atau dalam bejana infus tercelup penangas air mendidih, pada suhu terukur 96-98°C, selama waktu tertentu 15-20 menit (Charisma, 2020).

2.5 Metode Pemurnian dengan Fraksinasi

Fraksinasi merupakan proses pemisahan senyawa berdasarkan perbedaan tingkat kepolarannya. Fraksinasi menggunakan prinsip *like dissolve like* yaitu senyawa pada tanaman akan larut dalam pelarut yang memiliki kepolaran yang sama, apabila kepolarannya berbeda maka akan terpisah. Fraksinasi memiliki prinsip proses penarikan senyawa suatu ekstrak menggunakan dua macam pelarut yang saling tidak bercampur. Hal tersebut memungkinkan karena adanya sifat senyawa yang dapat terlarut dalam air maupun senyawa yang dapat larut dalam pelarut organik. Fraksinasi dilakukan secara berkesinambungan dengan dimulai dari pelarut nonpolar, semi polar dan pelarut polar. Akhir dari fraksinasi akan

didapatkan fraksi yang mengandung senyawa yang secara berurutan dari senyawa nonpolar, semi polar dan polar ('Azizah, 2018). Kelebihan dari fraksinasi yaitu hasil fraksi yang di dapat lebih banyak dan proses yang cepat (Mawadah *et al.*, 2016).

2.6 Pelarut

Cairan pelarut merupakan pelarut yang optimal untuk kandungan senyawa yang berkhasiat atau senyawa aktif, sehingga senyawa dapat dipisahkan dari bahan dan senyawa kandungan lain, serta ekstrak hanya mengandung sebagian besar senyawa yang diinginkan. Faktor pemilihan cairan penyari yaitu, selektivitas, kemudahan bekerja pada proses cairan tersebut, ekonomis, ramah lingkungan dan keamanan. Pelarut yang digunakan pada proses ekstraksi dipilih berdasarkan kemampuan pelarut tersebut untuk melarutkan jumlah simplisia yang maksimum dari zat aktif dan seminimum mungkin untuk senyawa atau zat yang tidak diinginkan. Pada beberapa penelitian disebutkan beberapa jenis pelarut yaitu, air, etanol, dan DMSO (Charisma, 2020).

2.6.1 Aquades atau Air

Air memiliki bahasa latin *aquadestilata* yang berarti air suling. Air suling merupakan air yang diperoleh dari pengembunan uap air akibat penguapan atau pendidihan air (Charisma, 2020). Air senyawa yang tidak berwarna, tidak berbau dan tidak berasa yang memiliki titik didih 100°C. Air adalah pelarut universal yang digunakan untuk mengekstraksi produk tumbuhan dengan aktivitas antimikroba (Charisma, 2020).

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 (Charisma, 2020).

2.6.2 Etanol

Etanol (C_2H_5OH) mempunyai nama lain etil alkohol, hidroksietana, alkohol murni, dan alkohol absolut. Etanol merupakan molekul yang sangat polar karena adanya gugus hidroksil (OH) dengan keelektronegatifan oksigen yang sangat tinggi yang menyebabkan terjadinya ikatan hidrogen dengan molekul lain, sehingga etanol dapat berikatan dengan molekul polar dan molekul ion. Gugus etil (C_2H_5) pada etanol bersifat non-polar, sehingga etanol dapat berikatan juga dengan molekul non-polar. Oleh karena itu, etanol dapat melarutkan baik senyawa polar maupun nonpolar (Charisma, 2020). Etanol memiliki titik didih $78,4^{\circ}C$, dan tidak berwarna (Chandra, 2015). Ekstrak etanol 70% menghasilkan persentase rendemen lebih tinggi dibanding ekstrak etanol 96%. Hal ini dikarenakan adanya perbedaan polaritas antara pelarut etanol 96% dan 70% (Febryanto, 2017). Menurut penelitian oleh Kurniawati, (2015) pelarut etanol 70% sangat efektif dalam menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal dengan bahan pengganggu hanya dalam skala kecil dan etanol 70% dipertimbangkan sebagai cairan penyari karena memiliki keuntungan yaitu absorpsinya baik dan tidak beracun.

2.6.3 Diklorometana

Diklorometana atau metilena klorida adalah senyawa organik dengan rumus kimia CH_2Cl_2 . Diklorometana merupakan senyawa tidak berwarna atau jernih dalam bentuk cairan yang berbau. Diklorometana memiliki titik didih $39,8^{\circ}C$ dan memiliki berat molekul $84,94$ g/mol. Diklorometana larut dalam pelarut organik lainnya, tetapi tidak sepenuhnya larut dalam air. Diklorometana digunakan sebagai bahan dasar pembuatan sediaan farmasi dan sebagai pelarut (Charisma, 2020). Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan kontrol negatif yaitu diklorometana menunjukkan hasil bahwa diklorometana tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* sehingga zona hambat yang dihasilkan fraksi diklorometana bukan berasal dari pelarut diklorometana (Charisma, 2020). Menurut penelitian yang dilakukan Mariana *et al* (2013), pada proses fraksinasi ekstrak menggunakan pelarut *dichlorometana* pada daun keluwih menghasilkan senyawa flavonoid golongan kalkon.

2.6.4 N-heksana

Karakteristik n-heksana sangat tidak polar atau nonpolar, volatil, mempunyai bau khas. Titik didih heksana adalah 66 sampai 70°C. N-heksana merupakan jenis pelarut nonpolar sehingga n-heksana dapat melarutkan senyawa - senyawa bersifat nonpolar (Charisma, 2020). Menurut penelitian Rizal (2018) menggunakan kontrol negatif pelarut n-heksan, kloroform, etil asetat dan etanol memiliki hasil negatif tidak menunjukkan zona hambat. Hasil tersebut menunjukkan bahwa pelarut tersebut tidak memiliki aktivitas antibakteri.

2.6.5 DMSO

DMSO atau dimetil sulfoksida adalah senyawa organosulfur yang mempunyai rumus kimia $(\text{CH}_3)_2\text{SO}$ dan merupakan pelarut polar aprotik dapat digunakan sebagai pelarut senyawa polar maupun nonpolar, DMSO juga larut dalam berbagai pelarut organik maupun air. Pelarut DMSO 10% merupakan pelarut organik dan tidak bersifat bakterisidal. Selain itu, pelarut yang dapat melarutkan hampir semua senyawa polar maupun nonpolar adalah DMSO 10%. DMSO dapat digunakan sebagai pengencer ekstrak untuk memperoleh ekstrak dengan kadar konsentrasi tertentu. DMSO memiliki ciri-ciri tidak berwarna, tidak berbau, agak higroskopik, dan juga merupakan pelarut bagi bahan uji anorganik dan organik (Anggraini *and* Masfufatun, 2017). DMSO biasa dikenal dengan sebutan krioprotektan konvensional yang dapat ditambahkan ke dalam media sel untuk mencegah kematian sel sepanjang proses pembekuan DMSO menjadi pelarut unik yang bersifat universal karena mempunyai titik beku yang tinggi, pada suhu kamar akan berupa padatan yang memiliki peran kristalisasi saat proses kimia terjadi yaitu sebagai waktu cooling (Ninulia, 2016).

2.7 Bakteri

Bakteri pada umumnya tidak berklorofil, merupakan uniseluler, ada beberapa bakteri yang mengalami fotosintetik dan bereproduksi aseksual dengan cara membelah diri serta mempunyai ukuran sel yang kecil dimana hanya dapat dilihat dengan bantuan mikroskop. Secara umum bakteri memiliki ukuran sel 0,5-1,0 μm kali 2,0-5,0 μm , dengan tiga bentuk dasar yaitu bentuk batang atau bacillus, bentuk bulat atau coccus, bentuk spiral (Charisma, 2020).

Berdasarkan komposisi dinding sel dan sifat pewarnaan bakteri dibedakan menjadi dua, yaitu bakteri gram positif dan bakteri gram negatif (Charisma, 2020). Penggolongan bakteri berdasarkan pengecatan gram dibagi menjadi dua yaitu bakteri gram positif yang akan mempertahankan zat pewarna kristal violet maka dari itu akan terlihat warna ungu tua di mikroskop (Hiaranya *et al.*, 2017). Sedangkan, bakteri yang kehilangan zat pewarna kristal violet setelah dicuci dengan alkohol dan sewaktu diberi zat warna air fuchsin atau safranin akan tampak berwarna merah (Hiaranya *et al.*, 2017). Perbedaan ini disebabkan oleh perbedaan dalam struktur kimiawi dinding sel bakteri (Hiaranya *et al.*, 2017). Berikut salah satu contoh yaitu bakteri gram negatif.

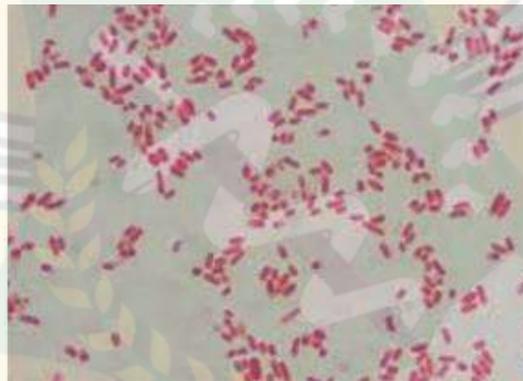
2.7.1 Bakteri Gram Negatif

Bakteri gram negatif berbentuk batang (*Enterobacteriaceae*) habitatnya adalah usus manusia dan binatang. Golongan *Enterobacteriaceae* yaitu *Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Proteus* (Charisma, 2020). Beberapa organisme yang berupa flora normal misalnya *Escherichia coli* dapat menyebabkan penyakit, sedangkan organisme lain seperti *shigella* dan *salmonella* termasuk dalam patogen yang umum bagi manusia (Charisma, 2020). Bakteri gram negatif akan kehilangan warna kristal violet setelah dicuci menggunakan alkohol dan akan tampak berwarna merah waktu pemberian zat pewarna safranin (Hiaranya *et al.*, 2017). Salah satu contoh bakteri gram negatif yaitu bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922.

2.7.1.1 Klasifikasi dan Morfologi *Escherichia coli*

Domain	: Bacteria
Kingdom	: Eubacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gammaproteobacteria
Orde	: Enterobacteriales
Family	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Eschericia</i>
Species	: <i>Escherichia coli</i> (Sutiknowati, 2014)

Escherichia coli merupakan bakteri gram negatif, berbentuk basil, panjang sekitar 2 mikrometer dan diameter 0,5 mikrometer. Bakteri ini bersifat anaerob fakultatif, biasanya dapat bergerak dan tidak membentuk spora. Bakteri ini umumnya hidup pada rentang 20 – 40°C, optimum pada 37°C. *Escherichia coli* merupakan flora normal yang terdapat pada saluran pencernaan manusia. Flora tetap yang hidup di bagian tubuh manusia mempunyai peran penting dalam mempertahankan kesehatan dan hidup secara normal. Flora normal dapat menimbulkan penyakit pada kondisi tertentu (Fhitryani *et al.*, 2017). Bakteri ini banyak ditemukan dalam usus besar manusia. Kebanyakan *Escherichia coli* ATCC 25922 tidak berbahaya, tetapi seperti *Escherichia coli* tipe O157:H7 dapat mengakibatkan keracunan makanan pada manusia yaitu diare berdarah karena eksotoksin yang dihasilkan bernama verotoksin (Sutiknowati, 2014).



Gambar 2.2 Bakteri *Escherichia coli* diamati secara mikroskopis (Kusumawardani, 2018)

2.7.1.2 Patofisiologi

Bakteri *Escherichia coli* dianggap sebagai organisme dari usus. Pada tahun 1935 *Escherichia coli* terbukti menjadi penyebab diare pada kalangan bayi. Bakteri *Escherichia coli* berasal dari famili *enterobacteriaceae*, bakteri enterik, termasuk golongan gram negatif yang anaerob yang hidup pada saluran pencernaan dalam keadaan sehat atau sakit (Kusumawardani, 2018).

Enterobacteriaceae merupakan bakteri yang paling penting secara medis. Beberapa keluarga adalah patogen usus manusia (*shigella*, *salmonella* dan *yersinia*) dan koloni normal saluran normal gastrointestinal manusia (*escherichia*,

enterobacter dan *klesiella*) namun, bakteri ini juga sering dikaitkan dengan penyakit pada manusia. Saat ini, penyebab diare patogen *Escherichia coli* digolongkan berdasarkan faktor virulensi dan hanya dapat diidentifikasi oleh sifat-sifatnya. Strain patogen *Escherichia coli* menyebabkan 3 jenis infeksi pada manusia: infeksi saluran kemih (ISK), meningitis neonatal, dan penyakit usus (gastroenteritis). Penyakit yang disebabkan oleh strain bakteri *Escherichia coli* tertentu tergantung pada distribusi tanda dari berbagai faktor penentu misalnya virulensi (Kusumawardani, 2018).

2.8 Antibakteri

Antibakteri adalah senyawa kimia yang dihasilkan oleh mikroorganisme tertentu yang memiliki kemampuan dalam konsentrasi rendah untuk menghambat atau membunuh, secara selektif mikroorganisme lain. Antibiotika berasal dari fungi dan bakteri yang menghasilkan suatu zat kimia yang memiliki khasiat menghambat atau mematikan pertumbuhan kuman, dengan toksisitasnya bagi manusia relatif kecil (Charisma, 2020). Beberapa mekanisme yang dimiliki oleh senyawa antimikroba antara lain:

2.8.1 Menghambat Sintesis Dinding Sel

Senyawa antimikroba dapat menghambat sintesis atau menghambat aktivitas enzim seperti enzim transpeptidase yang dapat menimbulkan kerusakan dinding sel yang berakibat sel mengalami lisis. Jenis mikroba dengan mekanisme tersebut, antara lain Basitrasin, Sefalosporin, Sikloserin, Penisilin, Vankomisin (Charisma, 2020).

2.8.2 Menghambat Sintesis Protein

Kehidupan suatu sel tergantung pada kondisi terjaganya molekul-molekul protein dan asam nukleat dalam keadaan alamiah. Suatu kondisi atau substansi yang mengubah keadaan ini seperti proses denaturasi protein dan asam-asam nukleat dapat merusak sel tersebut dan tidak dapat diperbaiki kembali. Tingginya Suhu dan konsentrasi beberapa zat kimia dapat menyebabkan terjadinya koagulasi (denaturasi) yang bersifat ireversibel (tidak dapat kembali seperti awal) dari komponen-komponen seluler penting. Contoh jenis antimikroba dengan

aktivitas tersebut adalah aminoglikosida, kloramfenikol, tetrasiklin eritromisin, dan linkomisin (Charisma, 2020).

2.8.3 Menghambat Fungsi DNA

DNA dan RNA memegang peranan penting di dalam proses kehidupan normal sel. Hal ini berarti bahwa gangguan apapun yang akan terjadi pada pembentukan atau pada fungsi zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel. Jenis mikroba dengan aktivitas tersebut, antara lain quinolon, pyrimethamine, sulfonamide, trimethoprim dan trimetrexate (Charisma, 2020).

2.8.4 Menghambat Metabolisme Sel Mikroba

Enzim yang ada di dalam sel merupakan sasaran potensial bagi bekerjanya suatu penghambat. Banyak zat kimia telah diketahui dapat mengganggu reaksi biokimia. Penghambatan ini dapat mengakibatkan terganggunya metabolisme atau matinya sel. Antimikroba bekerja dengan menghambat metabolit spesifik dari suatu mikroba, contohnya sulfonamida. Pertumbuhan sel dihambat oleh senyawa sulfonamida melalui penghambatan sintesis asam folat, para amino benzoic acid (PABA), dan enzim secara kompetitif langsung mempersatukan PABA dan sebagian pteridin menjadi asam dihidraptroa (Damayanti, 2021).

2.9 Uji Aktivitas Antibakteri

Kultur *in-vitro* adalah metode yang digunakan untuk mengisolasi bagian-bagian sel, jaringan atau organ yang ditumbuhkan di atas media tanam secara aseptik dalam ruangan yang terkendali, sehingga bagian-bagian dapat memperbanyak diri dan meregenerasi menjadi sel, jaringan ataupun organ yang lengkap (Damayanti, 2021). Sel mempunyai sifat autonom yang artinya dapat melakukan metabolisme, tumbuh dan berkembang secara mandiri jika diisolasi dari jaringan induknya (Damayanti, 2021). Faktor yang mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan sel pada metode kultur antara lain sumber eksplan, media, hormon, lingkungan fisik kultur jaringan dan zat pengatur tumbuh (Damayanti, 2021). Kultur *in-vitro* mempunyai tujuan untuk memperbanyak sel bakteri dengan waktu relatif singkat, sebagai langkah dalam pemulihan bakteri serta menghasilkan jumlah bakteri yang diinginkan (Damayanti, 2021). Kultur *in-vitro* juga memiliki keuntungan untuk pengadaan bibit bakteri yang tidak dapat diproduksi dalam

jumlah besar dengan waktu yang relatif cepat, bibit yang dihasilkan bersifat seragam, bebas terhadap kontaminasi (Damayanti, 2021). Uji *in-vitro* merupakan uji aktivitas antimikroba yang terdapat 2 metode, yaitu metode difusi dan metode dilusi (Charisma, 2020).

2.9.1 Metode Difusi

Metode ini menggunakan cakram uji atau *disc* untuk menyerap konsentrasi ekstrak tumbuhan yang diinginkan (Damayanti, 2021). Cakram atau *disc* tersebut kemudian diletakkan pada permukaan media agar padat yang sesuai, setelah media diinokulasi dengan mikroorganisme uji (Charisma, 2020). Cakram atau *disc* kemudian diinkubasi selama 1 X 24 jam pada suhu 37⁰C untuk bakteri dan 2 X 24 jam pada suhu 25⁰C untuk fungi, setelah diinkubasi diameter zona hambat yang terbentuk di sekitar cakram diukur (Charisma, 2020). Menurut Charisma (2020), metode difusi meliputi:

2.9.1.1 Metode *Disk Diffusion*

Metode yang menggunakan piringan yang berisi bahan antimikroba. Piringan berisi bahan antimikroba kemudian diletakkan pada media agar yang sebelumnya telah berisi mikroba patogen sehingga bahan antimikroba dapat berdifusi pada media agar (Damayanti, 2021). Aktivitas antimikroba dapat dilihat berdasarkan pada pembentukan zona bening disekitar bahan antimikroba tersebut (Charisma, 2020).

2.9.1.2 Metode *E-Test*

Metode ini untuk memperkirakan Kadar Hambat Minimum (KHM), yaitu konsentrasi minimum dari bahan antimikroba untuk menghambat suatu mikroorganisme (Damayanti, 2021). Dalam metode ini, digunakan suatu strip plastik yang mengandung bahan antimikroba dengan konsentrasi terendah hingga konsentrasi tertinggi, yang diletakkan pada permukaan media agar yang sebelumnya telah berisi mikroba patogen (Damayanti, 2021). Aktivitas antimikroba didasarkan pada pembentukan zona bening disekitar bahan antimikroba tersebut dan dapat ditentukan konsentrasinya (Damayanti, 2021).

2.9.1.3 Ditch-plate Technique

Metode ini dilakukan dengan membuat suatu parit yang dibuat dengan cara memotong bagian tengah dari media pada cawan petri secara membujur, kemudian diisi dengan bahan antimikroba sedangkan mikroba patogen digores ke arah parit yang berisi bahan antimikroba (Damayanti, 2021).

2.9.1.4 Cup-plate Technique

Metode ini hampir sama dengan metode *disk diffusion* (Damayanti, 2021). Pada metode ini, dibuat sumur dibagian tengah media yang sebelumnya telah berisi mikroba patogen (Charisma, 2020). Sedangkan sumur tersebut berisi antibakteri (Damayanti, 2021).

Tabel 2.2 Kategori respon hambatan pertumbuhan bakteri berdasarkan diameter zona hambat (Susanto and Ruga, 2012)

Diameter Zona Hambat	Respon Hambatan
≥ 21 mm	Sangat Kuat
11-20 mm	Kuat
6-10mm	Sedang
< 5 mm	Lemah

2.9.2 Metode Dilusi

Metode dilusi dengan mencampurkan zat antimikroba dan media agar, diinokulasikan dengan mikroba uji. Hasil dilakukan pengamatan tumbuh atau tidaknya mikroba di dalam media (Yasjudani, 2017).

2.9.2.1 Metode Dilusi Cair / *broth dilution test (serial dilution)*

Metode dilusi cair menggunakan tabung reaksi yang diisi dengan inokulum kuman dan larutan antibakteri dalam berbagai konsentrasi (Yasjudani, 2017). Zat untuk uji aktivitas antibakteri diencerkan dalam media cair, diinokulasikan dengan kuman dan diinkubasi pada waktu dan suhu yang sesuai dengan mikroba uji (Yasjudani, 2017)

2.9.2.2 Metode Dilusi Padat (*solid dilution test*)

Zat antibakteri diencerkan dalam media agar, dituangkan dalam cawan petri. Media agar membeku kemudian diinokulasikan kuman dan diinkubasi. Konsentrasi hambat minimum merupakan konsentrasi terendah larutan zat

antibakteri yang masih memberikan hambatan terhadap pertumbuhan kuman (Yasjudani, 2017).

2.10 Obat Antibakteri *Chloramphenicol*

Chloramphenicol menghambat ikatan asam amino baru pada rantai peptida yang memanjang, karena kloramfenikol menghambat enzim peptidil transferase. *Chloramphenicol* bersifat bakteriostatik dan bakteri bisa tumbuh lagi jika pengaruh obat dihilangkan (Charisma, 2020). *Chloramphenicol* merupakan suatu golongan antibiotika dengan spektrum kerja yang luas. Antibiotik ini berkhasiat sebagai bakteriostatik terhadap hampir semua bakteri gram positif dan sejumlah bakteri gram negatif. *Chloramphenicol* merupakan antimikroba dengan aktivitas mengubah proses denaturasi protein dan asam-asam nukleat sehingga dapat merusak sel tersebut dan tidak dapat diperbaiki kembali (Charisma, 2020). Berdasarkan penelitian Syafriana *et al* (2020), antibiotik *chloramphenicol* termasuk antibiotik yang sering digunakan oleh masyarakat dan termasuk kedalam golongan antibiotik berspektrum luas. Antibiotik *chloramphenicol* tergolong sensitif terhadap isolat uji sebesar 75% dan menunjukkan masih termasuk efektif untuk melawan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922. *Chloramphenicol* bekerja dengan mengganggu sintesis protein dengan cara berikatan pada sub unit ribosom 50S (Syafriana *et al.*, 2020). Berdasarkan penelitian Samputri *et al* (2020), Mekanisme kerja *chloramphenicol* sama dengan mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri yaitu dengan menghambat sintesis protein pada dinding sel yang akan menyebabkan lisis pada sel sehingga sel akan mati. Menurut Rijayanti, (2014) *Chloramphenicol* digunakan sebagai kontrol positif karena memiliki mekanisme yang sama dengan kandungan flavonoid sebagai antibakteri dengan mekanisme kerja menghambat sintesis asam nukleat yang menyebabkan penghambatan pembentukan DNA dan RNA serta merusak membran sel bakteri. Karakteristik *chloramphenicol* menurut FI IV adalah sebagai berikut:

Nama Umum	: Kloramfenikol
Nama Lain	: <i>Chloramphenicolum</i>
Nama Kimia	: <i>D(-)treo-2-diklorosetaminido-1-p-itrofenilpropana-1,3diol</i>

Suhu Lebur	: 149 ⁰ C – 153 ⁰ 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.

2.11 Hipotesis

Hipotesis merupakan jawaban sementara yang diambil dari suatu penelitian, patokan, dugaan, atau dalil sementara yang akan dibuktikan kebenarannya dalam penelitian tersebut. Pembuktian dapat dilakukan melalui hasil penelitian sehingga dapat diambil hipotesis benar atau salah, dapat diterima atau ditolak (mia audina curnia Safitri, 2020). Berdasarkan pada masalah yang ada, maka dapat dirumuskan hipotesis sebagai berikut:

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

Ho: Fraksi daun majapahit (*Crescentia cujete L.*) tidak memiliki aktivitas antibakteri.

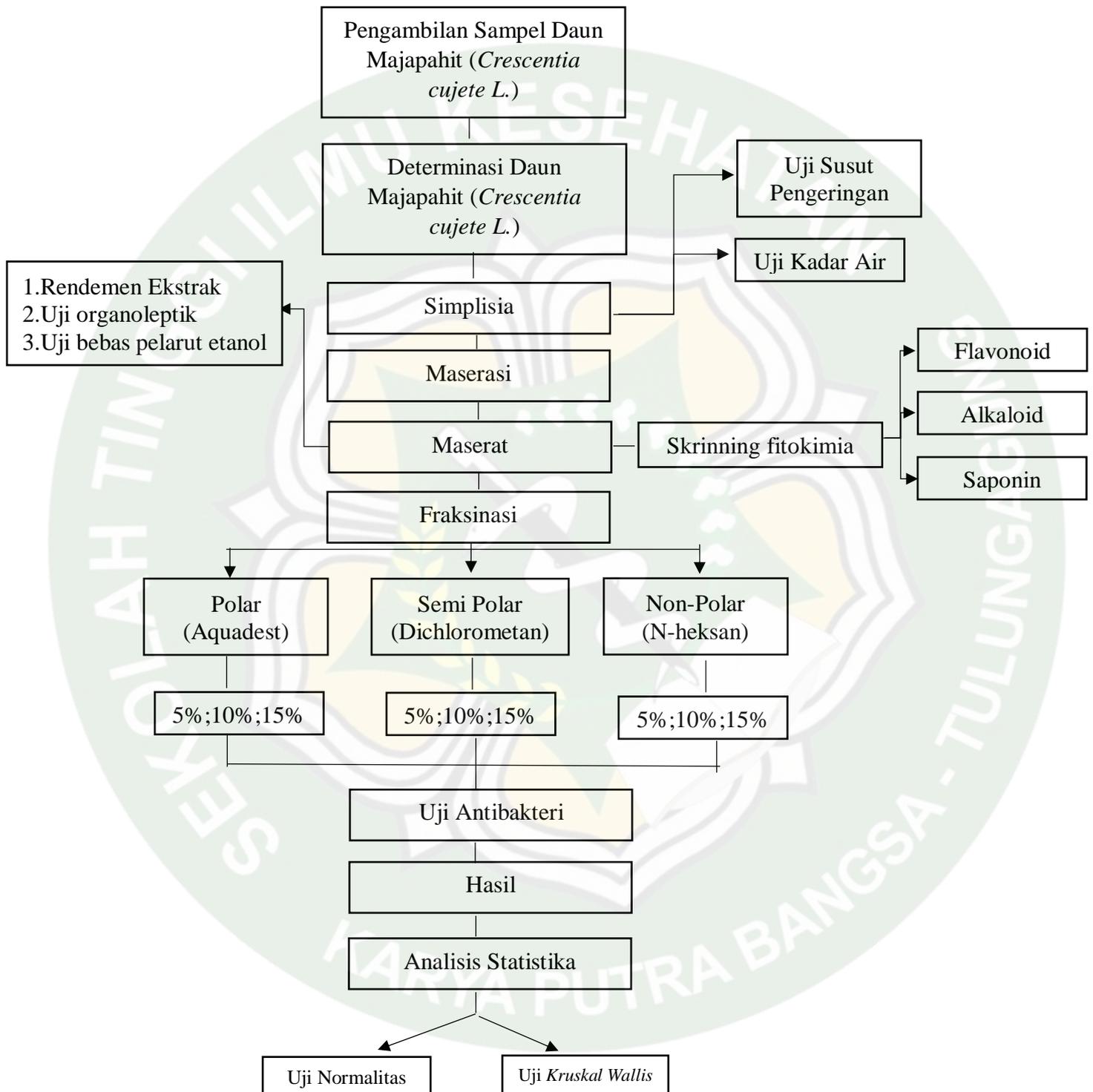
Ha: Fraksi daun majapahit (*Crescentia cujete L.*) memiliki aktivitas antibakteri.

2.11.2 Fraksi daun majapahit (*Crescentia cujete L.*) mempunyai konsentrasi optimum pada konsentrasi 5% terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922.

Ho: Konsentrasi 5% bukan merupakan konsentrasi optimum.

Ha: Konsentrasi 5% merupakan konsentrasi optimum.

2.12 Kerangka Penelitian



Gambar 2.3 Kerangka Penelitian

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Bahan dan Alat

3.1.1 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian diantaranya daun majapahit (*Crescentia cujete L.*) sebanyak 2 kg, etanol 70%, asam asetat glasial, asam sulfat (H_2SO_4) pekat, dichloromethane, N-Heksan, *Aqua Destilata*, Asam Klorida (HCl), Natrium Hidroksida (NaOH), Pereaksi Mayer, Media *Nutrient Agar* (NA), Media *Nutrient Broth* (NB), Bakteri uji (*Escherichia coli*), hidrogen peroksida (H_2O_2), Kapsul Antibiotik *Chloramphenicol*, *Dimethylsulfoxide* (DMSO), cat gram A (Kristal Violet), cat gram B (lugol iodine), cat gram C (etanol), cat gram D (safranin).

3.1.2 Alat

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

3.2 Populasi Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah daun majapahit (*Crescentia cujete L.*) yang ada di Lapangan STIKes Karya Putra Bangsa di Jalan Raya Tulungagung-Blitar KM 4, Sumbergempol, Kabupaten Tulungagung, Jawa Timur.

3.3 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun majapahit (*Crescentia cujete L.*) segar sebanyak 2 kg untuk membuat serbuk simplisia, yang diperoleh di Lapangan STIKes Karya Putra Bangsa di Jalan Raya Tulungagung-Blitar KM 4, Sumbergempol, Kabupaten Tulungagung, Jawa Timur.

3.4 Variabel Penelitian

Variabel penelitian adalah segala sesuatu berupa bentuk apapun yang ditetapkan peneliti sebagai hal yang akan digunakan untuk dipelajari sehingga diperoleh informasi tentang hal tersebut untuk diambil kesimpulan (Sugiyono, 2013). Variabel yang akan digunakan pada penelitian ini yaitu, variabel bebas, variabel kontrol, dan variabel terikat.

3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas adalah variabel yang dapat menjadi penyebab atau yang mempengaruhi perubahan atau munculnya variabel dependen (terikat) (Sugiyono, 2013). Variabel bebas yang digunakan pada penelitian ini adalah variasi konsentrasi 5%, 10%, dan 15% fraksi daun majapahit (*Crescentia cujete L.*) yang dilakukan uji aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli*.

3.4.2 Variabel Kontrol

Variabel kontrol atau terkendali adalah variabel yang dibuat konstan atau dikendalikan sehingga hubungan variabel terikat terhadap variabel bebas tidak dipengaruhi oleh faktor luar yang tidak diteliti (Sugiyono, 2013). Penelitian ini menggunakan variabel kontrol metode maserasi dan bakteri *Escherichia coli*.

3.4.3 Variabel Terikat

Variabel terikat adalah variabel yang menjadi akibat atau yang dipengaruhi oleh adanya variabel bebas (Sugiyono, 2013). Variabel terikat yang digunakan pada penelitian ini adalah daya hambat fraksi daun majapahit (*Crescentia cujete L.*) terhadap bakteri *Escherichia coli*.

3.5 Metode Penelitian

3.5.1 Determinasi Tanaman

Sampel daun majapahit (*Crescentia cujete L.*) dideterminasi di UPT Materia Medica Batu, Jawa Timur. Tujuan determinasi untuk mengetahui kebenaran identitas dengan jelas dari tanaman yang diteliti dan menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan utama penelitian (Diniatik, 2015).

3.5.2 Pembuatan Simplisia

Pembuatan simplisia daun majapahit (*Crescentia cujete L.*) dilakukan dengan mengumpulkan daun majapahit sebanyak 2 kg yang masih segar dan hijau. Daun majapahit (*Crescentia cujete L.*) yang telah terkumpul akan dilakukan proses sortasi basah bertujuan untuk membersihkan daun dari kotoran-kotoran dan bahan-bahan asing lainnya (Damayanti, 2021). Pencucian dilakukan menggunakan air bersih yang mengalir dengan proses pencucian sebanyak tiga kali yang bertujuan untuk menghilangkan tanah atau pengotor lain yang masih melekat pada daun dan selanjutnya ditiriskan (Damayanti, 2021). Menurut Safitri, (2020) pencucian sebanyak tiga kali, satu kali pencucian dapat menghilangkan sebanyak 25% dari jumlah mikroba, apabila proses pencucian dilakukan tiga kali, jumlah mikroba yang tertinggal hanya sekitar 42% dari jumlah total mikroba awal.

Daun majapahit (*Crescentia cujete L.*) yang telah dicuci kemudian akan dilakukan proses pengeringan dengan dimasukkan kedalam oven suhu 40-50°C. Simplisia yang telah dikeringkan selanjutnya dilakukan sortasi kering bertujuan untuk memisahkan dari kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing lainnya yang masih tertinggal setelah pencucian (Damayanti, 2021). Simplisia akan disimpan dalam wadah dan dihaluskan sampai menjadi serbuk halus.

Simplisia kering yang telah menjadi serbuk akan diayak dengan ayakan ukuran 80 mesh, serbuk halus tersebut akan lebih mudah diekstraksi karena permukaan dari serbuk simplisia yang bersentuhan dengan cairan penyari makin luas. Selanjutnya serbuk yang telah diayak akan ditimbang dengan bobot tertentu sesuai dengan kebutuhan untuk dilakukan proses ekstraksi secara maserasi (Damayanti, 2021).

3.5.3 Pemeriksaan karakteristik simplisia

3.5.3.1 Uji susut pengeringan simplisia

Susut pengeringan adalah pengurangan berat setelah dikeringkan dengan cara yang telah ditetapkan (Damayanti, 2021).

$$\text{Rumus \% pengeringan} = \frac{A-B}{B} \times 100\%$$

Ket:

A: Bobot Daun Basah

B: Bobot Daun Kering

3.5.3.2 Uji Kadar Air

Uji kadar air serbuk simplisia dilakukan dengan memasukkan kurang lebih 10 g serbuk dan timbang seksama dalam wadah yang telah ditara. Ekstrak tersebut dikeringkan menggunakan oven pada suhu 105°C selama 5 jam dan kemudian ditimbang (Charisma, 2020).

$$\text{Rumus \% kadar air} = \frac{A-B}{B} \times 100\%$$

Ket:

A: Bobot sebelum dioven

B: Bobot setelah dioven

3.5.4 Pembuatan ekstrak daun majapahit (*Crescentia cujete L.*)

Simplisia serbuk dari daun majapahit (*Crescentia cujete L.*) ditimbang sebanyak 500 gram. Serbuk direndam dengan pelarut etanol 70% sebanyak 500 gram dalam 1500 mL atau sampai terendam (Padmasari *et al.*, 2013). Masukkan serbuk simplisia dan pelarut di dalam botol maserasi yang tertutup rapat dan dibiarkan pada temperatur kamar, terlindung dari sinar matahari langsung, setiap satu hari sekali dilakukan pengadukan (Hartati *et al.*, 2011). Proses maserasi dilakukan hingga terjadi kesetimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel (Akti, 2010).

Setelah proses pengadukan selesai, disaring untuk mendapatkan filtrat. Filtrat ditampung dalam wadah atau botol maserasi. Dilakukan pengulangan penambahan pelarut atau remaserasi dengan jumlah pelarut yang sama setelah pada residu. Seluruh filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan oven pada suhu 80°C hingga diperoleh ekstrak daun majapahit (*Crescentia cujete L.*). Suhu pada oven diatur sebesar 80°C karena pada suhu tersebut etanol atau pelarut yang digunakan mempunyai titik didih sebesar 78,6°C dan etanol dapat menguap (Handayani *and* Juniarti, 2012).

3.5.5 Pemeriksaan karakteristik ekstrak

3.5.5.1 Rendemen ekstrak

Rendemen adalah perbandingan antara ekstrak yang didapatkan dengan simplisia awal. Rendemen ekstrak daun majapahit (*Crescentia cujete L.*) dihitung dengan membandingkan bobot simplisia dengan bobot akhir yang dihasilkan (Charisma, 2020).

$$\text{Rumus \% rendemen} = \frac{A}{B} \times 100\%$$

Ket:
A: Bobot awal ekstrak yang dihasilkan
B: Bobot awal simplisia serbuk

3.5.5.2 Organoleptik

Pemeriksaan organoleptik menggunakan bantuan panca indera secara langsung untuk mengamati bentuk, warna dan bau (Charisma, 2020).

3.5.5.3 Uji Bebas Etanol Ekstrak

Uji bebas etanol ekstrak dilakukan dengan menambahkan 5 tetes H₂SO₄ pekat dan 2 mL larutan kalium dikromat, adanya kandungan etanol ditandai dengan perubahan warna dari jingga menjadi hijau kebiruan (Ramadhani *et al.*, 2020).

3.5.6 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia terhadap ekstrak daun majapahit (*Crescentia cujete L.*) meliputi pemeriksaan senyawa flavonoid, alkaloid dan saponin.

3.5.6.1 Flavonoid

Sebanyak 1 mL sampel ditambahkan dengan 3 tetes NaOH 0,1 N kemudian diamati perubahan warna yang terbentuk, hasil positif ditunjukkan dengan perubahan warna kuning hingga jingga (Tohir *et al.*, 2011).

3.5.6.2 Alkaloid

Sebanyak 0,5 g ekstrak sampel + 1 ml 2N HCl. Filtrat ditempatkan dalam tabung dan ditambahkan pereaksi Mayer. Sampel positif ditandai, menghasilkan endapan putih kekuning-kuningan (Pradana, 2014).

3.5.6.3 Saponin

Menimbang sebanyak 0,5 g ekstrak sampel, di tambahkan dengan 10 ml *aquades* panas, dinginkan, dan ditambahkan HCl 2N kemudian diaduk larutan selama 10 menit. Hasil positif menunjukkan bahwa busa terbentuk dan tetap stabil selama minimal 10 menit. Busa yang dihasilkan menunjukkan adanya glikosida yang dapat membentuk busa dalam air, yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Sulistyarini *et al.*, 2020).

3.5.7 Fraksinasi

Ditimbang sejumlah ekstrak 5 gram, dilarutkan menggunakan 75 mL *aquadest*. Larutan sampel dimasukkan dalam corong pisah, ditambah dengan 25 mL n-heksan sebagai pelarut non-polar (Ramadhani, 2020). Kocok sambil di buka kran pada corong pisah, gantung corong pisah pada statif dan lihat batas antara *aquadest* dengan n-heksan. *Aquadest* akan terletak pada bagian bawah karena mempunyai berat jenis yang lebih besar dari n-heksan. Fraksinasi dengan pelarut n-heksan direplikasi sebanyak tiga kali. Fraksi *aquadest* dimasukkan kembali ke dalam corong pisah ditambah dengan *diklorometana* 25 mL sebagai pelarut semi polar. Lakukan replikasi proses fraksinasi sebanyak tiga kali bertujuan supaya senyawa metabolit sekunder benar-benar terpisah. Hasil masing-masing rendemen dipekatkan menggunakan oven (Charisma, 2020).

3.5.8 Uji Daya Hambat Bakteri Ekstrak Daun Majapahit

3.5.8.1 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. Sterilisasi alat dan bahan dilakukan menggunakan autoklaf pada suhu 121⁰C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Sterilisasi larutan uji dan media dilakukan dalam wadah yang sesuai seperti erlenmeyer dengan mulut ditutup kapas dan dibungkus menggunakan aluminium foil (Charisma, 2020).

3.5.8.2 Pembuatan Media *nutrient broth* (NB)

Serbuk *Nutrien Broth* (NB) ditimbang sebanyak 0,08 g dilarutkan dalam 10 mL *aquadestilata*, kemudian dipanaskan sampai mendidih sehingga semuanya larut dan terlihat bening serta mendidih. Selanjutnya media disterilkan dengan

menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Kemudian media dituangkan ke dalam tabung reaksi dan didinginkan (Charisma, 2020).

3.5.8.3 Pembuatan Media *nutrient agar* (NA)

Serbuk *Nutrient Agar* (NA) ditimbang sebanyak 0,3 g dimasukkan erlenmayer, dilarutkan dan dicampur dengan *aquadestilata* 15 ml. Dipanaskan sampai semua larut dan mendidih. Media ditutup dengan menggunakan kapas yang dibaluti aluminium foil. Kemudian media disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Media dituang pada cawan petri dan dibiarkan pada suhu ruang sampai media memadat sempurna (Juariyah *and* Sari, 2018). Cawan petri terdiri dari berbagai ukuran diameter. Cawan petri dengan diameter 9 cm dapat menampung media sebanyak 10 sampai 20 ml (Yunilas *and* Yusni, 2017).

3.5.8.4 Pembuatan larutan uji

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

3.5.8.5 Pembuatan Kontrol Positif

Pembuatan kontrol positif menggunakan antibiotik yang ada di pasaran yaitu *Chloramphenicol* 0,01% (WHO, 2003).

3.5.8.6 Pembuatan Kontrol Negatif

Kontrol negatif yang digunakan berupa larutan DMSO 10% sesuai dengan yang digunakan sebagai pelarut larutan uji fraksi daun majapahit (*Crescentia cujete L.*) (Damayanti, 2021). DMSO 10% merupakan kosolven yang baik yang dapat melarutkan sampel uji tanpa memberi pengaruh penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri (Maulana *et al.*, 2021).

3.5.8.7 Peremajaan Bakteri

Proses peremajaan digunakan untuk merawat bakteri agar tetap dalam kondisi baik. Media yang digunakan adalah *Nutrient Agar* (NA) sebanyak 5 ml,

dimasukkan kedalam tabung reaksi ('Azizah, 2018). Caranya dengan diambil satu koloni biakan murni *Escherichia coli* ATCC 25922 menggunakan ose steril dari kultur murninya, kemudian ditanamkan dengan menggoreskan ose pada masing-masing media agar miring yang sudah memadat. Semua proses dilakukan di lemari *Laminar Air Flow* (LAF) (Izudin *et al.*, 2020). Biakan bakteri uji diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C (Kursia *et al.*, 2016). Proses peremajaan dilakukan karena untuk pengujian aktivitas antibakteri memerlukan koloni bakteri yang segar yang berusia 24 jam. Setelah dilakukan peremajaan dilanjutkan dengan identifikasi pewarnaan gram yang berguna untuk memastikan bakteri uji (Damayanti, 2021).

3.5.8.8 Uji Identifikasi *Escherichia coli* ATCC 25922 dengan Pewarnaan Bakteri

Pengamatan morfologi sel bakteri dilakukan menggunakan pewarnaan gram. *Aqua destilata* sebanyak 1-2 tetes diletakkan di atas kaca objek, koloni bakteri di ambil satu ose dari media diletakkan di atas aquades steril dan sebarkan hingga merata, biarkan olesan tersebut kering karena udara. Setelah olesan benar-benar kering kemudian lewatkan kaca objek tersebut beberapa kali di atas nyala api sampai kaca objek terasa agak panas bila ditempelkan pada punggung tangan. Kemudian ditetesi dengan larutan kristal ungu (Gram A), dan didiamkan selama satu menit, kemudian cuci menggunakan *aqua destilata* pada botol semprot dan dikeringkan. Selanjutnya ditetesi dengan larutan iodium (Gram B) dan dibiarkan selama 2 menit, dicuci menggunakan *aqua destilata* pada botol semprot dan dikeringkan. Kemudian ditetesi dengan larutan etanol 96% (Gram C) selama 30 detik, dicuci menggunakan *aqua destilata* pada botol semprot dan dikeringkan. Setelah itu ditetesi dengan larutan safranin (Gram D) atau zat penutup dan didiamkan selama 30 detik, kemudian dicuci menggunakan aquades pada botol semprot dan dikeringkan. Selanjutnya diamati dengan menggunakan mikroskop pada pembesaran kuat. Indikasi pewarnaannya yaitu bakteri gram positif akan berwarna violet dan bakteri gram negatif akan berwarna merah (Nurhidayati *et al.*, 2015).

3.5.8.9 Pembuatan Suspensi Bakteri

Biakan bakteri diambil satu ose menggunakan ose steril, disuspensikan pada tabung yang berisi 5 ml *Nutrient Broth* (NB) dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C (Nuria *et al.*, 2010). Setelah menjadi suspensi, lalu diencerkan dengan larutan garam fisiologis (NaCl 0,9%) steril sampai kekeruhannya setara dengan larutan standar *Mc. Farland* 0,5 (biakan cair yang memiliki populasi 1×10^7 CFU/ml sampai 1×10^8 CFU/ml) (Kursia *et al.*, 2016).

3.5.8.10 Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) dengan Perbandingan Konsentrasi 5%, 10% dan 15%

Pada prosedur uji aktivitas antibakteri pada fraksi daun majapahit (*Crescentia cujete L.*) dilakukan menggunakan metode difusi cakram. Disiapkan dan disterilkan kertas cakram yang berdiameter 6 mm ('Azizah, 2018). Menyiapkan media yang sudah diinkubasi dengan bakteri. Fraksi daun majapahit (*Crescentia cujete L.*) dengan seri konsentrasi 5%, 10%, dan 15% ditambahkan pada masing-masing cakram steril dengan jumlah 20 µL. Kertas cakram steril yang sudah diresapi dengan fraksi daun majapahit (*Crescentia cujete L.*) diletakkan pada permukaan media dengan pinset steril dan ditekan perlahan kebawah untuk memastikan kontak antara kertas cakram dengan permukaan media. Kontrol positif digunakan kloramfenikol diteteskan sejumlah 10 µL, sedangkan pada kontrol negatifnya dengan membasahi kertas cakram menggunakan *dimethylsulfoxide* (DMSO) 10%. Cawan petri diinkubasi dengan waktu 24 jam pada suhu 37°C. Diamati dan diukur diameter zona hambatnya (Maradona, 2013).

3.5.8.11 Pengukuran Zona Hambat

Pengukuran zona hambat yang terbentuk diukur diameternya menggunakan alat yaitu jangka sorong, dan diperoleh diameter (mm) daerah hambatan pertumbuhan bakteri termasuk pada diameter kertas cakram. Dilakukan pengulangan tiga kali untuk menunjukkan hasil yang akurat pada setiap daerah hambatan dari arah yang berbeda (Octaviani *et al.*, 2019).

3.6 Analisis Statistika

Data hasil uji aktivitas fraksi daun majapahit (*Crescentia cujete L.*) terhadap pengukuran diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dianalisis secara statistik menggunakan program *Statistical Product Services Solution* (SPSS 25). Pengolahan data sebagai berikut:

3.6.1 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. Apabila data tidak berdistribusi normal, pengujian dilanjutkan dengan menggunakan *Kruskal Wallis*.

Perumusan hipotesis:

- 1) H_0 : data berdistribusi normal
- 2) 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

3.6.2 Uji *Kruskal Wallis*

Uji *Kruskal Wallis* bertujuan untuk membandingkan tiga atau lebih kelompok data sampel. Uji *Kruskal Wallis* digunakan apabila uji normalitas tidak terpenuhi atau nilai varians tidak sama.

Perumusan hipotesis:

- 1) H_0 : data tidak berbeda bermakna
- 2) H_1 : data berbeda bermakna

Pengambilan keputusan:

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

3.7 Jadwal Penelitian

Jadwal Penelitian	Tahun 2021 Bulan Ke-			Tahun 2022 Bulan Ke-							Tempat
	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	
1. Pengajuan Judul											Kampus STIKes KARTRASA
2. Studi pustaka											Kampus STIKes KARTRASA
3. Persiapan Penelitian											Kampus STIKes KARTRASA
a. Determinasi Tanaman											UPT Materia Medica
b. Pembuatan Simplisia											Laboratorium KARTRASA
c. Maserasi											Laboratorium KARTRASA
4. Penelitian Laboratorium											Laboratorium KARTRASA
a. Identifikasi Kandungan											Laboratorium KARTRASA
b. Penelitian											Laboratorium KARTRASA
5. Pengumpulan dan Analisis Data											Laboratorium KARTRASA
6. Penyusunan Laporan											Kampus STIKes KARTRASA

Gambar 3.1 Jadwal Penelitian

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman majapahit dilakukan di UPT Laboratorium Materia Medica, Batu. Hasil dari determinasi menunjukkan bahwa sampel yang digunakan merupakan tanaman majapahit (*Crescentia cujete L.*) dengan kunci determinasi 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14b-16b-286a-287a: Bignoniaceae-1b-3a: *Crescentia-3:C. cujete*. Surat hasil determinasi tanaman majapahit terdapat pada **Lampiran 1**, menunjukkan morfologi habitus: pohon, Daun: majemuk, menyirip, lonjong, tepi rata, ujung meruncing, pangkal membulat, panjang 10-15 cm, lebar 5-7 cm, bertangkai pendek, berwarna hijau. Berdasarkan surat hasil determinasi dapat disimpulkan bahwa tanaman yang digunakan merupakan tanaman majapahit.

4.2 Pembuatan Simplisia Serbuk Daun Majapahit

Pembuatan simplisia daun majapahit (*Crescentia cujete L.*) dilakukan dengan mengumpulkan daun majapahit sebanyak 2 kg yang masih segar, hijau dan sudah tua. Pemilihan daun yang tua memiliki kandungan senyawa aktif yang lebih tinggi dibandingkan dengan daun muda dan ketuaan daun juga berpengaruh terhadap aktivitasnya (Felicia *et al.*, 2016). Pada penelitian Pujaningsih *et al* (2018), dengan membandingkan aktivitas antibakteri pada daun tua dan muda, menghasilkan aktivitas penghambatan lebih besar pada bakteri *Escherichia coli* pada daun tua karena kandungan flavonoid lebih tinggi dibandingkan daun muda.

Proses pembuatan simplisia dilanjutkan dengan melakukan sortasi basah untuk memisahkan kotoran atau bahan asing sebelum pencucian dengan membuang bagian yang tidak perlu, sehingga di dapatkan daun yang layak proses pencucian dilakukan menggunakan air bersih yang mengalir dengan proses pencucian sebanyak tiga kali yang bertujuan untuk menghilangkan tanah atau pengotor lain yang masih melekat pada daun dan selanjutnya ditiriskan (Damayanti, 2021). Daun majapahit (*Crescentia cujete L.*) yang telah dicuci kemudian akan dilakukan proses pengeringan dengan dimasukkan kedalam oven suhu 50°C.

Berdasarkan penelitian Winangsih *et al* (2013), oven dengan suhu 50°C menghasilkan kadar air yang rendah dibandingkan dengan pengeringan sinar matahari langsung dan dengan cara dianginkan, suhu pengeringan berpengaruh terhadap lamanya pengeringan. Pengeringan menggunakan oven memiliki keuntungan yaitu pengurangan kadar air dalam jumlah yang besar dalam waktu yang singkat serta pengeringan menggunakan oven memberikan produk yang lebih baik daripada dengan matahari karena sinar UV dari matahari dapat menimbulkan kerusakan pada bahan yang dikeringkan (Wahyuni *et al.*, 2014).

Simplisia yang telah dikeringkan selanjutnya dilakukan sortasi kering. Sortasi kering dilakukan dengan memisahkan benda asing seperti bagian tanaman yang tidak diinginkan atau pengotor lain yang masih ada dan tertinggal pada simplisia kering (Wahyuni *et al.*, 2014). Simplisia kering yang telah menjadi serbuk diayak dengan ayakan ukuran 80 mesh, penggunaan ayakan mesh 80 karena daun termasuk simplisia yang lunak dan dengan ayakan mesh 80 serbuk hasil ayakan simplisia tampak berbeda baik dari segi warna serta memiliki aroma yang lebih kuat (Pranoto and Handoyo, 2019).

4.2.1 Uji Susut Pengeringan

Uji susut pengeringan untuk mengetahui seberapa besar senyawa yang hilang akibat dari proses pengeringan (Damayanti, 2021). Tujuan dilakukan pengeringan adalah untuk mengurangi berat bahan pada daun majapahit (*Crescentia cujete L.*) sehingga bahan dapat disimpan lebih lama, selain itu volume dan berat daun majapahit (*Crescentia cujete L.*) menjadi lebih kecil sehingga mempermudah dan menghemat ruang (Martunis, 2012). Hasil uji susut pengeringan simplisia daun majapahit pada tabel 4.1 diketahui sebesar 65 % untuk parameter susut pengeringan tidak ada syarat atau rentang nilai yang diperbolehkan (Najib *et al.*, 2016).

Hasil tersebut dipengaruhi oleh kadar air, suhu dan lama pengeringan pada daun majapahit (*Crescentia cujete L.*), sehingga mengalami penyusutan dari berat awal sebesar 2,178 kg menjadi 0,753 kg daun kering.

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

Sampel	Bobot Daun Basah	Bobot Daun Kering	% Hasil
Daun Majapahit (<i>Crescentia cujete L.</i>)	2,178 kg	0,753 kg	65 %

4.2.2 Uji Kadar Air Simplisia

Uji kadar air digunakan sebagai salah satu parameter untuk melihat kualitas simplisia dan menentukan suatu residu air setelah proses pengeringan daun majapahit (*Crescentia cujete L.*). Uji kadar air memiliki syarat yaitu tidak melebihi 10% (Najib *et al.*, 2016). Syarat uji kadar air sesuai maka dapat meminimalisir kandungan air dalam simplisia sehingga dapat mencegah pertumbuhan dan aktivitas enzim mikroorganisme pada simplisia. Simplisia akan tahan lama serta kandungan zat aktif didalamnya tidak berubah (Charisma, 2020). Kadar air pada simplisia tergantung pada waktu yang digunakan untuk pengeringan simplisia, semakin kering maka semakin kecil juga kadar airnya, prinsipnya yaitu menguapkan air yang ada pada sampel dengan cara pemanasan pada suhu 105⁰C selama 5 jam (Najib *et al.*, 2016). Uji kadar air dapat dilihat pada tabel 4.2 sehingga dapat disimpulkan bahwa kadar air simplisia daun majapahit memenuhi standar mutu yaitu diperoleh hasil sebesar 6,5%.

Tabel 4.2 Hasil Uji Kadar Air Simplisia Serbuk Daun Majapahit

Sampel	Bobot Awal	Bobot Akhir	% Hasil
Serbuk Simplisia Daun Majapahit (<i>Crescentia cujete L.</i>)	10 gr	9,35 gr	6,5 %

4.3 Pembuatan Ekstrak Daun Majapahit

Pembuatan ekstrak daun majapahit (*Crescentia cujete L.*) menggunakan metode maserasi. Berdasarkan penelitian Charisma (2020), metode maserasi digunakan karena tidak memerlukan peralatan yang rumit atau alat yang digunakan sederhana, relatif murah, dan dapat menghindari penguapan komponen senyawa karena tidak menggunakan panas. Maserasi dilakukan dengan merendam serbuk simplisia 500 gr dalam pelarut etanol 70% sebanyak 1500 mL atau sampai terendam, pelarut yang digunakan akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif sehingga zat aktif akan larut (Padmasari *et al.*, 2013).

Pemilihan pelarut etanol karena etanol dapat menarik metabolit sekunder terutama golongan senyawa fenolik dan flavonoid dalam ekstrak dibandingkan pelarut lainnya. Selama proses perendaman dilakukan penggojokan atau diaduk selama ± 10 menit untuk mempercepat kontak antara serbuk simplisia dan pelarut, cairan pelarut akan masuk ke dalam sel melewati dinding sel dan isi sel akan larut karena perbedaan konsentrasi antara larutan yang ada di dalam dan di luar sel serta pelarut dengan konsentrasi yang tinggi akan terdesak keluar diganti dengan pelarut konsentrasi rendah (proses difusi) (Nugraha *and* Ghozali, 2014). Filtrat yang terbentuk disaring menggunakan kain mori rangkap 2 dan dilanjutkan dengan penyaringan menggunakan kertas saring yang berfungsi untuk menyaring serbuk yang mengendap saat dilakukan ekstraksi cara dingin (Huda *et al.*, 2019; Apriliani *et al.*, 2017) selanjutnya dilakukan proses remaserasi atau maserasi bertingkat bertujuan untuk menarik senyawa yang masih terdapat pada sel dan tertinggal pada saat maserasi pertama.

Filtrat yang dihasilkan dari proses maserasi dan remaserasi selanjutnya akan dipekatkan dengan menggunakan oven dengan tujuan memisahkan pelarut dengan ekstrak yang dihasilkan sehingga diperoleh maserat. Hasil ekstrak cair proses maserasi dipekatkan menggunakan oven pada suhu 80°C karena dengan suhu 80°C etanol atau pelarut yang digunakan dapat menguap dan ekstrak akan bebas dari etanol. Setelah pemekatan dilanjutkan dengan perhitungan rendemen ekstrak. Hasil perhitungan rendemen ekstrak dapat dilihat pada tabel 4.3.

Tabel 4.3 Hasil Rendemen Ekstrak Daun Majapahit

Sampel	Bobot Ekstrak	Bobot Serbuk Simplisia	% Hasil
Daun Majapahit (<i>Crescentia cujete</i> <i>L.</i>)	55 gr	550 gr	10 %

Nilai rendemen yang tinggi menunjukkan banyaknya komponen bioaktif yang terkandung di dalamnya (Charisma, 2020). Hasil rendemen dari suatu sampel sangat diperlukan untuk mengetahui banyaknya ekstrak yang diperoleh selama proses ekstraksi, semakin tinggi nilai rendemen maka semakin menurun kualitas senyawa yang ada pada ekstrak (Hasnaeni *et al.*, 2019). Hasil uji rendemen ekstrak didapatkan sebesar 10 % menunjukkan rendemen yang dihasilkan kecil. Kecilnya nilai rendemen yang dihasilkan dipengaruhi oleh ukuran partikel, waktu ekstraksi, serta jenis dan jumlah pelarut (Maslukhah *et al.*, 2016).

4.3.1 Uji Organoleptik

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

4.3.2 Uji Bebas Etanol

Uji bebas etanol dilakukan untuk memastikan bahwa ekstrak daun majapahit yang diperoleh bebas dari pelarut yang digunakan sehingga tidak mempengaruhi dalam pengujian aktivitas antibakteri, karena etanol 70% memiliki aktivitas antibakteri (Damayanti, 2021; Ramadhani *et al.*, 2020). Hasil uji pada tabel 4.4 menunjukkan bahwa daun majapahit terbukti positif bebas pelarut etanol 70%, hal tersebut ditandai dengan tidak terjadinya perubahan warna dari jingga menjadi hijau kebiruan.

Uji bebas etanol dilakukan dengan penambahan H_2SO_4 pekat yang bertujuan untuk membuat kondisi asam dengan kalium dikromat yang awalnya berwarna jingga, kemudian setelah bereaksi dengan larutan yang mengandung etanol akan berubah menjadi hijau kebiruan karena ion dikromat yang berwarna jingga telah tereduksi menjadi ion kromium yang berwarna hijau (Ramadhani *et al.*, 2020).

Tabel 4.4 Hasil Uji Bebas Etanol Ekstrak Daun Majapahit

Sampel	Perlakuan	Perubahan warna	Hasil
Ekstrak Daun majapahit (<i>Crescentia cujete</i> L.)	H_2SO_4 + kalium dikromat	Tidak terjadi perubahan warna	+

Keterangan: (+) tidak terdapat kandungan etanol 70%

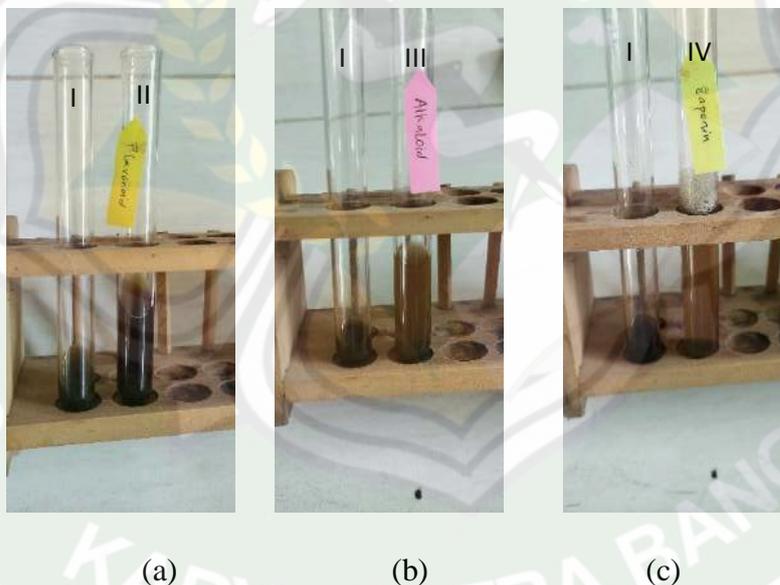
4.4 Skrinning Fitokimia

Skrining fitokimia ekstrak daun majapahit (*Crescentia cujete L.*) bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa dari ekstrak daun majapahit (*Crescentia cujete L.*) Hasil uji skrinning fitokimia ekstrak daun majapahit (*Crescentia cujete L.*) dapat dilihat pada tabel 4.5 dan gambar 4.1.

Tabel 4.5 Hasil Uji Skrinning Fitokimia Ekstrak Daun Majapahit

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

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



Keterangan:

- (a) Skrinning flavonoid (b) Skrinning alkaloid (c) Skrinning saponin
(I) Ekstrak tanpa perlakuan (II) Reaksi flavonoid (III) Reaksi alkaloid (IV) Reaksi saponin

Gambar 4.1 Uji Skrinning Fitokimia Ekstrak Daun Majapahit

Hasil uji skrinning fitokimia ekstrak daun majapahit (*Crescentia cujete L.*) menunjukkan bahwa ekstrak daun majapahit (*Crescentia cujete L.*) mengandung senyawa flavonoid, alkaloid dan saponin. Hasil skrinning fitokimia tersebut sesuai dengan penelitian Ningrum (2019), yang menyatakan jika daun majapahit (*Crescentia cujete L.*) memiliki senyawa metabolit sekunder yaitu flavonoid, alkaloid dan saponin.

4.4.1 Flavonoid

Uji skrinning fitokimia pada ekstrak untuk mengetahui adanya senyawa flavonoid di dalam ekstrak daun majapahit (*Crescentia cujete L.*). Hasil uji flavonoid ekstrak didapatkan hasil positif (+) terdapat warna jingga, hal ini karena flavonoid termasuk senyawa fenol dan apabila direaksikan dengan basa akan terbentuk warna yang disebabkan terjadinya sistem kojugasi dari gugus aromatik, terjadinya perubahan warna menjadi kuning hingga jingga setelah ditetesasi NaOH disebabkan karena senyawa mengalami penguraian oleh basa menjadi molekul seperti asetofenon karena adanya pemutusan ikatan (Kusnadi and Devi, 2017). Menurut penelitian dari Tohir *et al* (2011), uji skrinning fitokimia senyawa flavonoid pada ekstrak yang direaksikan dengan NaOH 0,1N memberikan warna kuning pada golongan flavonol dan flavon, flavonol memberikan warna jingga hingga krem dan kalkon memberikan warna krem hingga merah tua.

4.4.2 Alkaloid

Uji skrinning fitokimia pada ekstrak untuk mengetahui adanya senyawa alkaloid di dalam ekstrak daun majapahit (*Crescentia cujete L.*). Hasil uji alkaloid ekstrak didapatkan hasil positif (+) terdapat endapan putih kekuning-kuningan, karena senyawa alkaloid yang direaksikan dengan HCl 2N dan pereaksi meyer. Tujuan penambahan HCl karena senyawa alkaloid bersifat basa sehingga biasanya diekstrak dengan pelarut yang bersifat asam (Pradana, 2014). Pereaksi mayer dengan senyawa alkaloid dapat menghasilkan endapan. Endapan yang terbentuk adalah kompleks kalium-alkaloid. Pada proses pembuatan pereaksi mayer, larutan mercury (II) klorida ($HgCl_2$) ditambah kalium iodida (KI) akan membentuk endapan merah mercury (II) iodida. Kalium idoda yang ditambahkan berlebih maka akan membentuk kalium tetraiodomerkurat (II). Alkaloid mempunyai atom

nitrogen (N) yang memiliki pasangan elektron bebas sehingga digunakan untuk membentuk ikatan kovalen dengan ion logam, sehingga uji alkaloid menggunakan pereaksi Mayer nitrogen pada alkaloid akan bereaksi dengan ion logam K^+ dari kalium tetraiodomercurat (II) membentuk lapisan kompleks kalium-alkaloid yang mengendap (Ergina *et al.*, 2014). Pereaksi Mayer merupakan pereaksi yang paling banyak digunakan untuk mendeteksi alkaloid karena mampu memberikan endapan putih hampir semua alkaloid dan kebanyakan alkaloid bereaksi tanpa membedakan kelompok alkaloid (Pradana, 2014).

4.4.3 Saponin

Uji skrining fitokimia pada ekstrak untuk mengetahui adanya senyawa saponin di dalam ekstrak daun majapahit (*Crescentia cujete L.*). Hasil uji saponin ekstrak didapatkan hasil positif (+) dengan terbentuknya busa yang stabil. Saponin merupakan senyawa aktif yang mudah terdeteksi melalui kemampuan dalam membentuk busa. Komponen ikatan glikosida yang terdapat di dalam saponin menyebabkan senyawa ini cenderung bersifat polar (Sulistyarini *et al.*, 2020).

Busa yang dihasilkan pada uji skrining fitokimia bersifat stabil. Stabilitasnya busa dikarenakan penambahan HCl (Sulistyarini *et al.*, 2020). Busa yang timbul terjadi karena senyawa saponin mengandung senyawa yang sebagian larut dalam air (*hidrofilik*) dan senyawa yang larut dalam pelarut non-polar (*hidrofobik*) sebagai surfaktan yang dapat menurunkan tegangan permukaan saat digojok gugus hidrofil akan berikatan dengan air sedangkan gugus hidrofobik akan berikatan dengan udara sehingga membentuk busa (Sulistyarini *et al.*, 2020).

4.5 Fraksinasi Daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*)

Fraksinasi adalah proses pemisahan senyawa berdasarkan perbedaan tingkat kepolarannya. Fraksinasi memiliki prinsip proses penarikan senyawa suatu ekstrak menggunakan dua macam pelarut yang saling tidak bercampur (Charisma, 2020). Fraksinasi daun majapahit (*Crescentia cujete L.*) menggunakan pelarut *aquadestilata* sebagai pelarut polar, diklorometana sebagai pelarut semi polar dan n-heksana sebagai pelarut non-polar. Ekstrak daun majapahit (*Crescentia cujete L.*) dilakukan fraksinasi menggunakan pelarut *aquadestilata* dan pelarut n-heksan sehingga diperoleh fraksi n-heksan yang telah ditampung. Fraksi *aquadestilata*

difraksinasi kembali dengan pelarut diklorometana, kemudian fraksi diklorometana ditampung. Fraksinasi dilakukan replikasi 3 kali dan masing-masing fraksi yang diperoleh dipekatkan pada suhu yang berbeda. Fraksi *aquadestilata* dipekatkan pada suhu 70°C, fraksi *dichlorometana* dipekatkan pada suhu 45°C dan fraksi N-heksan dipekatkan pada suhu 60°C.

Hasil proses fraksinasi menunjukkan bahwa fraksi n-heksan berada di atas sedangkan fraksi *aquadestilata* terletak di bawah, karena *aquadestilata* memiliki berat jenis yang lebih besar daripada berat jenis n-heksan. Hasil fraksi diklorometan berada di lapisan bagian bawah dan fraksi *aquadestilata* terletak pada lapisan bagian atas, hal tersebut karena fraksi *aquadestilata* mempunyai berat jenis lebih kecil, daripada diklorometan. Pelarut *aquadestilata* mempunyai massa jenis sebesar 1,000 gr/ml, sedangkan pelarut dichlorometana mempunyai massa jenis 1,326 gr/ml dan pelarut n-heksan memiliki massa jenis sebesar 86,18 gr/ml (Obenu, 2019). Hasil rendemen fraksi daun majapahit (*Crescentia cujete L.*) dapat dilihat pada tabel 4.6.

Tabel 4.6 Hasil Rendemen Fraksi Daun Majapahit

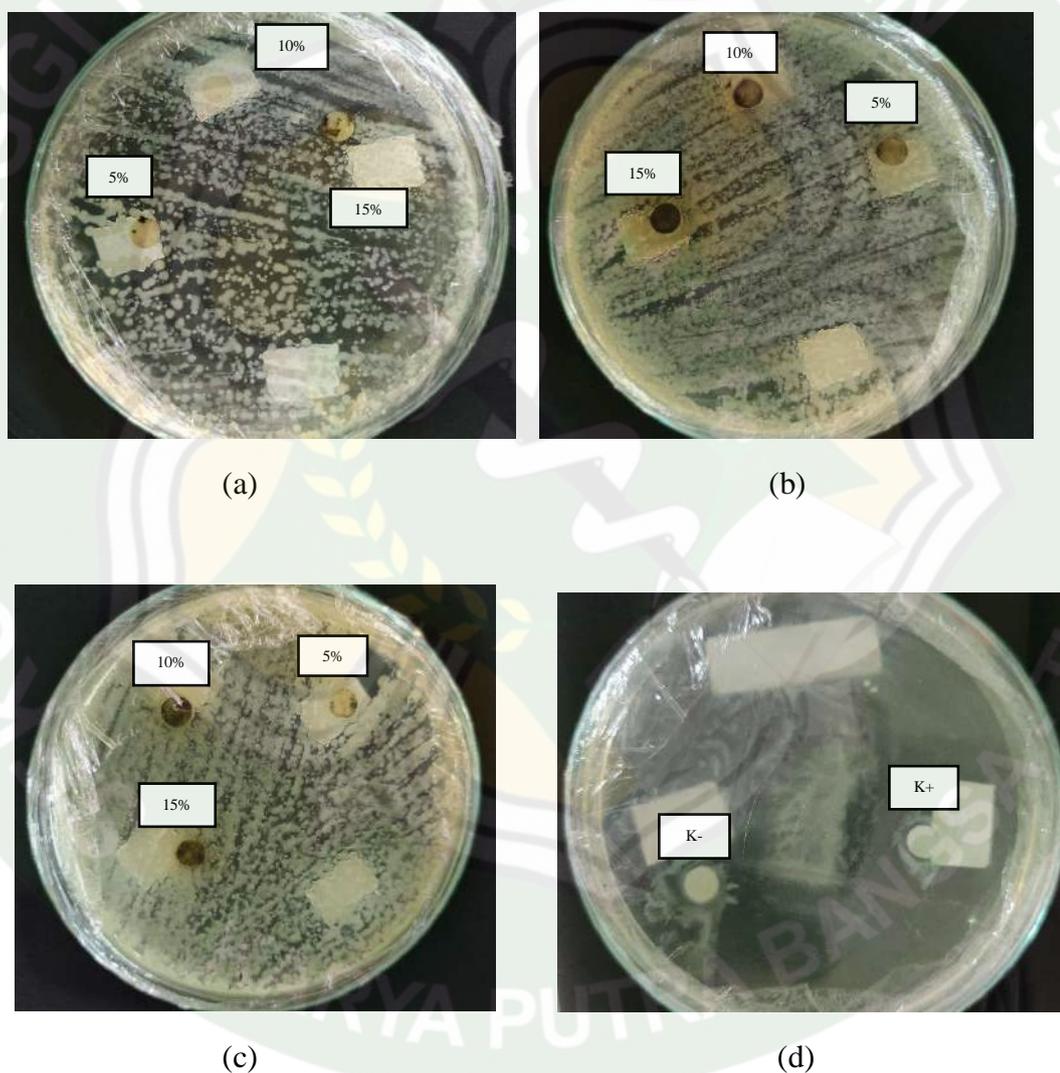
Sampel	Fraksi	Bobot Fraksi	Bobot Serbuk Simplisia	% Hasil
Fraksi Daun Majapahit (<i>Crescentia cujete L.</i>)	<i>Aquadestilata</i>	31 gr	550 gr	5,63 %
	Dichlorometan	1 gr		0,18 %
	n-Heksana	3 gr		0,54 %

Hasil rendemen pada ketiga fraksi mempunyai hasil yang berbeda. Menurut Handayani, (2019) semakin besar rendemen yang dihasilkan semakin banyak komponen bioaktif yang terkandung di dalamnya. Fraksi *aquadestilata* lebih banyak mengandung senyawa polar karena rendemen tertinggi terdapat pada pelarut *aquadestilata* yang bersifat polar. Senyawa aktif yang bersifat semipolar dan nonpolar memiliki jumlah lebih rendah, hal ini menyebabkan rendemen yang dihasilkan lebih sedikit.

Berdasarkan penelitian Siregar *et al.*, (2012) pelarut yang bersifat polar dapat menarik senyawa berupa fenolik, saponin, flavonoid dan tannin. Pelarut semi

polar mampu menarik senyawa berupa terpenoid, alkaloid, aglikon dan glikosida. Pelarut nonpolar dapat menarik senyawa kimia seperti lilin, lipid dan minyak yang mudah menguap. Perbedaan senyawa yang terkandung dalam masing-masing fraksi dikarenakan oleh perbedaan kemampuan pelarut dalam melarutkan senyawa metabolit yang dikarenakan oleh perbedaan kepolaran pada masing-masing pelarut (Nurhasanah *et al.*, 2014).

4.6 Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Majapahit Terhadap Bakteri *Escherichia Coli* ATCC 25922



Keterangan: (a) Fraksi Aquadest (b) Fraksi Dichlorometan (c) Fraksi n-heksan (d) Kontrol

Gambar 4.2 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri daun majapahit (*Crescentia cujete L.*) terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dilakukan di Kampus Stikes Karya Putra Bangsa, Laboratorium Mikrobiologi, Tulungagung. Uji aktivitas antibakteri pada fraksi daun majapahit (*Crescentia cujete L.*) menggunakan konsentrasi 5%, 10% dan 15% dengan *Chloramphenicol* sebagai kontrol positif dan DMSO 10% sebagai kontrol negatif. Hasil uji aktivitas antibakteri dapat dilihat pada tabel 4.7.

Tabel 4.7 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Majapahit terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922

Kelompok	Zona Hambat ± SD	Kategori Respon Hambat
Kelompok I	2,3 ± 4,0	Lemah
Kelompok II	4,7 ± 4,2	Lemah
Kelompok III	6,7 ± 5,8	Sedang
Kelompok IV	2,3 ± 4,0	Lemah
Kelompok V	5,0 ± 4,4	Lemah
Kelompok VI	2,8 ± 4,9	Lemah
Kelompok VII	2,3 ± 4,0	Lemah
Kelompok VIII	0	Tidak Menghambat
Kelompok IX	0	Tidak Menghambat
Kelompok X	8,3 ± 2,3	Sedang
Kelompok XI	0	Tidak Menghambat

Keterangan: Kelompok I: Aquadest 5%
 Kelompok II: Aquadest 10%
 Kelompok III: Aquadest 15%
 Kelompok IV: DCM 5%
 Kelompok V: DCM 10%
 Kelompok VI: DCM 15%
 Kelompok VII: n-Heksan 5%
 Kelompok VIII: n-Heksan 10%
 Kelompok IX: Kontrol Positif
 Kelompok X: Kontrol Negatif

Menurut penelitian Susanto *et al* (2012), Diameter zona hambat <5 mm memiliki respon hambatan lemah, diameter zona hambat 6-10 mm memiliki respon hambatan sedang, diameter zona hambat 11-20 mm memiliki respon hambatan kuat, dan diameter zona hambat >21 mm memiliki respon hambatan

sangat kuat. Uji aktivitas antibakteri fraksi *aquadestilata* daun majapahit (*Crescentia cujete L.*) dengan menggunakan konsentrasi 5%, 10% dan 15% terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922. Konsentrasi 5% menunjukkan rata-rata zona hambat sebesar 2,3 mm termasuk respon hambat kategori lemah, konsentrasi 10% dengan rata-rata zona hambat 4,7 mm termasuk respon hambat kategori lemah dan konsentrasi 15% dengan rata-rata zona hambat 6,7 mm termasuk respon hambat kategori sedang. Konsentrasi 10% dengan rata-rata zona hambat 4,7 mm lebih luas daripada konsentrasi 5% dan tidak berbeda jauh dengan konsentrasi 15% dengan diameter rata-rata zona hambat sebesar 6,7 mm dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922.

Fraksi diklorometana memiliki aktivitas antibakteri namun zona hambatnya lebih kecil dan masih tergolong lemah. Menurut Charisma (2020), hal tersebut diduga karena pada fraksi diklorometana senyawa metabolit sekunder yang tertarik pada senyawa semi polar hanya sedikit, sehingga zona hambat yang dihasilkan lebih kecil daripada fraksi polar. Kloramfenikol berfungsi sebagai kontrol positif (+), hasil uji aktivitas antibakteri pada kloramfenikol sebagai kontrol positif memiliki rata-rata sebesar 8,3 mm dan termasuk kategori respon hambat sedang, hal tersebut sesuai dengan penelitian Syafriana *et al* (2020), menyatakan bahwa antibiotik kloramfenikol dapat melawan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922, *Chloramphenicol* bekerja dengan mengganggu sintesis protein dengan cara berikatan pada sub unit ribosom 50S dan DMSO 10% sebagai kontrol negatif, hasil dari DMSO 10% sebagai kontrol negatif memiliki rata-rata sebesar 0,00 mm, hal tersebut sejalan dengan penelitian Maulana *et al* (2021), bahwa penggunaan DMSO 10% tidak memberikan aktivitas antibakteri dengan tidak menunjukkan nilai zona hambat.

Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi daun majapahit (*Crescentia cujete L.*) menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri masuk kedalam kategori lemah hingga sedang. Besar atau kecilnya zona hambat yang terbentuk dipengaruhi oleh konsentrasi yang diberikan semakin besar konsentrasi yang diberikan menyebabkan semakin besar pula kandungan bahan aktifnya. Kenaikan atau penurunan zona hambat yang tidak sama dapat dikarenakan oleh sifat kelarutan zat aktif serta

perbedaan kecepatan difusi pada media agar (Alfiah *et al.*, 2015). Menurut Lingga *et al* (2015), menyatakan bahwa keefektifan dari suatu zat antibakteri dalam penghambatan pertumbuhan bakteri tergantung pada sifat bakteri uji yang digunakan, konsentrasi dan lamanya waktu kontak. Berdasarkan penelitian dari Siregar *et al* (2012), faktor yang mempengaruhi ukuran daerah hambatan meliputi sensitivitas organisme, medium kultur, kondisi inkubasi dan kecepatan difusi pada media sedangkan faktor yang mempengaruhi kecepatan difusi pada media yaitu konsentrasi mikroorganisme, komposisi media, suhu inkubasi dan waktu inkubasi. Menurut Heni *et al* (2015) untuk bisa menghambat atau membunuh bakteri, sampel yang digunakan harus masuk ke dalam sel melalui dinding sel bakteri, sedangkan pada penelitian ini bakteri yang digunakan merupakan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 yang memiliki dinding sel tebal berupa peptidoglikan dan lebih banyak mengandung lipid. Bakteri gram negatif juga mempunyai sistem membran luar berupa bilayer yang terdiri dari fosfolipid (bagian dalam) dan lipopolisakarida (bagian luar) yang bersifat nonpolar. Hal tersebut menjadikan senyawa antibakteri lebih sulit untuk masuk ke dalam sel sehingga aktivitas antibakteri lemah dibandingkan bakteri gram positif (Heni, 2015).

Respon terhadap pemberian zat antimikroba terhadap bakteri gram negatif disebabkan karena kepekaan bakteri gram negatif yang berbeda dengan bakteri gram positif, bakteri gram negatif mempunyai struktur yang berlapis serta kandungan lemak yang cukup tinggi (11-12%) sehingga menyebabkan lebih tahan terhadap perubahan lingkungan. Penghambatan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 yang menghasilkan kategori respon rendah salah satunya karena penggunaan jenis pelarut polar. Air merupakan salah satu jenis pelarut polar, sehingga mengakibatkan senyawa bioaktif yang tersaring bersifat polar sedangkan senyawa yang bersifat polar sukar untuk melalui dinding sel bakteri gram negatif karena kandungan dinding sel bakteri terdiri dari kandungan lipid yang lebih banyak dari pada dinding sel bakteri gram positif (Lingga *et al.*, 2015).

4.6 Analisis Data

Hasil dari masing-masing sampel menunjukkan data yang berbeda, sehingga dilanjutkan uji normalitas data untuk mengetahui data yang dihasilkan berdistribusi normal. Hasil uji normalitas dapat dilihat pada tabel *Test of normality* pada lampiran 4. setelah data di analisa statistika menggunakan SPSS. Nilai uji normalitas data menggunakan *Shapiro Wilk* karena jumlah sampel yang kurang dari 50 untuk mendapatkan hasil yang akurat dan didapatkan hasil nilai $p=0,000$ ($p \geq 0,05$) yang berarti data tidak berdistribusi normal atau H_0 ditolak, ketidaknormalan data tersebut dikarenakan perbedaan variasi data yang jauh kemudian, pengujian ini dilanjutkan pada uji non parametrik yaitu *Kruskal Wallis* untuk menentukan adanya perbedaan signifikan secara statistik antara lebih dari 2 kelompok variabel (Priyatno,2013). Hasil uji *Kruskal Wallis* didapatkan nilai $p=0,194$ ($p \leq 0,05$) yang berarti tidak terdapat perbedaan bermakna pada masing-masing pelarut fraksi terhadap aktivitas antibakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dari kelompok perlakuan fraksi daun majapahit dan ditunjukkan pada lampiran 4. Homogenius subset bahwa hasil dari semua perlakuan terletak pada satu kolom yang sama dengan kontrol positif yang digunakan.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

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

1. Fraksi *aquadestilata*, fraksi dichlorometan dan fraksi n-heksan memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 yang ditunjukkan dengan adanya zona hambat pada uji aktivitas antibakteri.
2. Konsentrasi optimum fraksi daun majapahit (*Crecentia cujete L.*) dalam menghambat bakteri *Escherichia coli* belum bisa ditentukan karena berdasarkan analisis statistika belum menunjukkan perbandingan yang signifikan.

5.2 Saran

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

1. Melakukan skrinning senyawa aktif pada fraksi
2. Melakukan orientasi uji antibakteri masing-masing fraksi untuk menentukan fraksi optimum.

DAFTAR PUSTAKA

- Azizah, D.H., 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Gel Fraksi dari Ekstrak Sokhlet *Zibentus folium* terhadap *staphylococcus aureus* secara in vitro. *Skripsi*, Tulungagung:STIKes Karya Putra Bangsa.
- Akti, A.I., 2010. Pengaruh Perlakuan Pendahuluan Dan Variasi Waktu Perendaman Terhadap Rendemen Dan Aktivitas Antioksidan Ekstraksi Pigmen Kulit Buah Manggis (*Gracinia mangostana* L.). *skripsi*, (Universitas Sebelas Maret).
- Alfiah, R. R., Khotimah, S., Turnip, M., 2015, Efektivitas Ekstrak Metanol Daun Sembung Rambat (*Mikania micrantha* Kunth) Terhadap Pertumbuhan Jamur *Candida albicans*, Universitas Tanjungpura.
- Amalia, A., Sari, I. and Nursanty, R., 2017. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Sembung (*Blumeabalsamifera*(L.) DC.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*(MRSA). *Prosiding Seminar Nasional Biotik*, pp.387–391.
- Amiliah, Nurhamidah and Handayani, D., 2021. Aktivitas Antibakteri Kulit Buah Jeruk Kalamansi (*Citrofortunella Microcarpa*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *jurnal pendidikan dan ilmu kimia*, 5(Universitas Bengkulu), pp.92–105.
- Anggraini, V., & Masfufatun, M., 2017. Efektivitas Kombinasi Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum*) Dan Ekstrak Biji Alpukat (*Persea Americana*) Dalam Menghambat Pertumbuhan *Candida Albicans*. *jurnal kimia riset*, 2, pp.86–92.
- Apriliani, N.R., Sulistiani, N.E.S. and Mardiah, 2017. No Title. *jurnal zarah*, 5, p.Universitas Mulawarman.
- Apriyanti, Nilda., Nurhayati bialangi, nita suleman, 2012. isolasi dan karakteristik senyawa alkaloid dari daun alpukat (*Persea americana* Mill). , (Universitas Negeri Gorontalo).
- Bawa Putra, N.W., Bogoriani, N.P.D. and Sumadewi, N.L.U., 2014. Ekstraksi Zat Warna Alam Dari Bonggol Tanaman Pisang (*Musa paradisiaca* L.) Dengan Metode Maserasi, Refluks, Dan Sokletasi. , pp.113–119.
- Chandra, A., 2015. Studi Awal Ekstraksi Batch Daun Stevia *Rebaudiana* Dengan Variabel Jenis Pelarut Dan Temperatur Ekstraksi. , (Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon.).
- Charisma, N.Q.S., 2020. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Ekstrak Daun Eceng Gondok (*Eichhornia Crassipes*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus*“.

skripsi, (Stikes Karya Putra Bangsa Tulungagung).

Damayanti, A. and Fitriana, A., 2013. Pemungutan Minyak Atsiri Mawar (Rose Oil) Dengan Metode Maserasi. *Jurnal Bahan Alam Terbarukan*, 1(2), pp.1–1.

Damayanti, M. V., 2021. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) Secara Difusi Terhadap Bakteri *Bacillus Cereus*. *skripsi*, (STIKes Karya Putra Bangsa).

Desta Donna Putri Damanik, Nurhayati Surbakti, R.H., 2014. EKSTRAKSI KATEKIN DARI DAUN GAMBIR (*Uncaria gambir roxb*) DENGAN METODE MASERASI. *Jurnal Teknik Kimia USU*, 3.

Departemen Republik Indonesia, 1995, Formularium Indonesia, edisi IV

Diniatik, 2015. Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanolik Daun Kepel (*Stelechocarpus burahol* (Bl.) Hook f. & Th.) Dengan Metode Spektrofotometri. *jurnal ilmiah farmasi*, 1, pp.1–5.

Dwicahyani, T., Sumardianto and Rianingsih, L., 2018. Uji Bioaktivitas Ekstrak Teripang Keling *Holothuria atra* Sebagai Antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. , 7(Universitas Diponegoro).

Elia, S., Sangi, M.S. and Suryanto, E., 2016. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Dan Fraksi Dari Biji Jagung (*Zea mays* L.). , 9, pp.14–20.

Emilan, T. et al, 2011. Konsep Herbal Indonesia: Pemastian Mutu Produk Herbal. , (Universitas Indonesia).

Ergina, Nuryanti, S. and Pursitasari, I.D., 2014. Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder Pada Daun Palado (*Agave angustifolia*) Yang Diekstraksi Dengan Pelarut Air Dan Etanol. , 3(3), p.Universitas Tadaluko.

Febryanto, M.A., 2017. Soxhletasi Pada Bahan Organik Umbi Sarang Semut (*Myrmecodia Pendans*).

Felicia, N., WR, W.I. and LA, dan Y.N., 2016. Pengaruh Ketuaan Daun dan Metode Pengolahan Terhadap Aktivitas Antioksidan dan Karakteristik Sensoris Teh Herbal Bubuk Daun Alpukat (*Persea Americana* Mill.). , (Universitas Udaya).

Fhitryani, S., Suryanto, D. and Karim, A., 2017. Pemeriksaan *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella* sp. pada Jamu Gendong yang Dijajakan di Kota Medan. *Biolink (Jurnal Biologi Lingkungan, Industri, Kesehatan)*, 3(Vol 3, No 2 (2017): Januari), p.144.

Godstime, F.E., Agustina and Christopher, 2014. Mechanisme of Antimicrobial

Actions of Phytochemicals against Enteric Pathogens. *Journal of Pharmaceutical, Chemical and Biological Sciences*, pp.77–85.

Handayani, K., 2019. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Batang Pepaya (*carica papaya* Linn.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. , p.STIKes Karya Putra Bangsa.

Handayani, P.A. and Juniarti, E.R., 2012. Ekstraksi Minyak Ketumbar (*Coriander Oil*) Dengan Pelarut Etanol dan N-Heksan. , 1(Universitas Negeri Semarang).

Hartati, Suryani, I., Putri, S. eka and Hasyim, M., 2011. Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Daun *Crescentia cujete* L terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Candida albicans*. *Research institute of UNM*, pp.1–15. Available at: <https://ojs.unm.ac.id/semnaslemlit/article/view/4056>.

Hasnaeni, Wisdawati and Usman, S., 2019. Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Rendemen Dan Kadar Fenolik Ekstrak Tanaman Kayu Beta-Beta (*Lunasia amara Blanco*). , (Universitas Muslim Indonesia).

Heni, Savante, Zaharah, T.A., 2015, Efektivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Belimbing Hutan (*Baccaurea Angulata* Merr.) Terhadap *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli*, 84-90, Universitas Tanjungpura

Hiaranya, M.P., Yodong and Sukini, 2017. Mikrobiologi. *Buku Bahan Ajar keperawatan Gigi*, (jakarta), p.401 halaman.

Huda, C., Putri, A.E. and Sari, D.W., 2019. Uji Aktivitas Antibakteri Dari Maserat *Zibethinus folium* Terhadap *Escherichia coli*. *jurnal sainhealth*, 3, p.STIKes Karya Putra Bangsa.

Irwanta, E., Zuhud, A.H. and Emrizal, A., 2015. Kenaekaragaman Simplisia Nabati Dan Produk Obat Tradisional Yang Diperdagangkan Di Kabupaten Pati, Jawa Tengah. , 20(Bogor), pp.197–204.

Izudin, I., Regar, R., Wahyuningsih, A. and Nurrosyidah, I.H., 2020. Daya Hambat *Lactobacillus Reuteri* terhadap *Escherichia Coli* dan *Staphylococcus Aureus* secara In Vitro. *Journal of Pharmaceutical Care Anwar Medika (J-PhAM)*, 2(2), pp.1–6.

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

Khan, 2015. exotic arboreal plants of bhopal. *indian J. Applied & Pure Bio*, 30, pp.89–95.

Kurniawati, E., 2015. daya antibakteri ekstrak etanol tunas bambu apus terhadap

bakteri escherichia coli dan staphylococcus aureus secara in vitro. *jurnal wiyata*, 2, pp.193–199.

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

Kusnadi and Devi, E.T., 2017. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Pada Ekstrak Daun Seledri (*Apium graveolens L.*) Dengan Metode Refluks. , 1(Politeknik Harapan Bersama Tegal), pp.56–67.

Kusumawardani, A., 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat Umbi *Eleutherine palmifolia (L.)* Terhadap *Escherichia coli* Dengan Metode Difusi Cakram. , (Universitas Muhammadiyah Malang).

Kusumawati, E., Apriliana, A. and Yulia, R., 2017. Kemampuan Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Nangka (*Atrocarpus heterophyllus Lam.*) Terhadap *Escherichia coli*. , (Universitas Mulawarman Samarinda).

Lingga, A. R., Pato, U., Rossi, E., 2015, Uji Antibakteri Ekstrak Batang Kecombrang (*Nicolaia Speciosa Horan*) Terhadap *Staphylococcus Aureus* Dan *Escherichia Coli*, Universitas Riau.

Lisiana, N., 2016. isolasi senyawa alkaloid fraksi etil asetat tanaman anting anting (*acalypha indica*) degan variasi kecepatan laju alir menggunakan kromatografi kolom. *skripsi*, (universitas islam negeri maulana malik ibrahim).

Maradona, D., 2013. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Durian (*Durio zibhetinus L.*), Daun Lengkek (*Dinocarpus longan Lour.*), Daun Rambutan (*Nephelium lappaceum L.*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Skripsi*, pp.1–79.

Mariana, L., Andayani, Y. and Erin, gunanwan ryanti, 2013. Analisis Senyawa Flavonoid Hasil Fraksinasi Ekstrak Diklorometana Daun Keluwih (*Artocarpus camansi*). , 6(Universitas Mataram), pp.50–55.

Martunis, 2012. Pengaruh Suhu Dan Lama Pengeringan Terhadap Kuantitas Dan Kualitas Pati Kentang Varietas Granola. , (Universitas Syiah Kuala).

Maulana, A.R., Triatmoko, B. and Hidayat, M.A., 2021. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Waru Gunung (*Hibiscus macrophyllus*) dan Fraksinya terhadap *Staphylococcus aureus*. *jurnal pustaka kesehatan*, 9(Universitas Jember).

Mawadah, E.V., Ibrahim, A., Febrina, L. and Rusli, R., 2016. Aktivitas Antioksidan Fraksi N-Heksan Tumbuhan Patah Tulang (*Euphorbia Tirucalli*). , (universitas mulawarman).

- Materia Medika Indonesia, 2021. Determinasi tanaman.
- Mukhriani, 2014. Ekstraksi Pemisahan Senyawa dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*, 7 (2).
- Najib, A. et al., 2016. Standarisasi Ekstrak Air Daun Jati Belanda Dan Teh Hijau. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 4(Universitas Muslim Indonesia).
- Ningrum, D., 2019. Efektivitas Ekstrak Daun Maja (*Crescentia Cujete L .*) Sebagai Antibakteri Pada Bakteri *E . coli* dan *S . aureus* Effectiveness Maja Leaves (*Crescentia Cujete L .*) As Antibacterial in *E . coli* and *S . aureus* Bacteria. *Proceeding Biology Education Conference*, 16, pp.285–287.
- Ninulia, P.P., 2016. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Randu (*Ceiba Pentandra (L.) Gaertn*) Terhadap Methicillin Resistant *Staphylococcus Aureus* (Mrsa).
- Nugraha, A. and Ghozali, M., 2014. Penetapan Kadar Flavonoid Kuersetin Ekstrak Kulit Buah Apel Hijau (*Pyrus malus L.*) Dengan Menggunakan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. , p.Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.
- Nurhasanah, Harlia and Adhitiawarman, 2014. UJI BIOAKTIVITAS EKSTRAK DAUN MAJA (*Crescentia kujete Linn*) SEBAGAI ANTI RAYAP. , 3(3), pp.43–48.
- Nurhidayati, S., Faturrahman, F. and Ghazali, M., 2015. Deteksi Bakteri Patogen Yang Berasosiasi Dengan *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Bergejala Penyakit Ice-ice. *Jurnal Sains Teknologi & Lingkungan*, 1(2), pp.24–30.
- Nuria, M.C., Astuti, E.P. and Sumantri, 2010. Antibacterial Activities of Ethyl Acetate Fraction of Methanol Extract from Sosor Bebek Leaves (*Kalanchoe pinnata Pers.*). *Mediagro*, 6(2), pp.51–61.
- Obenu, N.M., 2019. Ekstraksi dan Identifikasi Kandungan Metabolit Fraksi Diklorometana dan Aquades Ekstrak Metanol Daun Sirsak (*Annona Muricata Linn*). *jurnal saintek lahan kering*, 1, p.Universitas Timor.
- Octaviani, M., Fadhli, H. and Yuneistya, E., 2019. Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol dari Kulit Bawang Merah (*Allium cepa L.*) dengan Metode Difusi Cakram. *Pharmaceutical Sciences & Research*, 6(1), pp.1–7.
- Oktavia, J.D., 2011. Pengoptimuman Ekstraksi Flavonoid Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) dan Analisis Sidik Jari dengan Kromatografi Lapis Tipis. *skripsi*, (Bogor).
- Padmasari, P., Astuti, K. and Warditiani, N., 2013. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 70% Rimpang Bangle (*Zingiber purpureum Roxb.*). *Jurnal Farmasi*

Udayana, pp.1–7.

- Pradana, F., 2014. Identifikasi Flavonoid Dengan Pereaksi Geser Dan Pengaruh Ekstrak Etanol 70% Umbi Binahong (*Anredara Cordifolia*(Ten) Steenis) Terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Induksi Aloksan. *Skripsi*, (Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim).
- Pranoto, M.E. and Handoyo, D.L.Y., 2019. Pengaruh Ukuran Serbuk Terhadap Karakteristik Rendaman Serbuk Daun *Azadirachta Indica* Dalam Minyak Zaitun. *Jurnal Farmasi Tinctura*, 1, p.Universitas Ibrahim.
- Pujaningsih, R., B., S. and S, S., 2018. bservation of *Muntingia calabura*'sLeaf Extract as Feed Additive for Livestock Diet. , p.119.
- Rachman, A., Wardatun, S. and Weandarlina, I.Y., 2018. Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Saponin Ekstrak Metanol Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). , (Universitas Pakuan).
- Ramadhani, A., Saadah, S., Sogandi,2020, Efek Antibakteri Ekstrak Daun Cengkeh (*Syzygium Aromaticum*) Terhadap *Escherichia Coli* Dan *Staphylococcus Aureus*, Universitas 17 Agustus 1945
- Ramadhani, M.A., Hati, A.K. and Lukitasari, N.F., 2020. Skrining Fitokimia Dan Penetapan Kadar Flavonoid Total Serta FenolikTotal Ekstrak Daun Insulin (*Tithonia diversifolia*) Dengan Maserasi MenggunakanPelarut Etanol 96 % . , 3(1), p.Universitas Ngudi Waluyo.
- Rijayanti, R., 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mangga Bacang (*Mangifera foetida* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. , (Universitas Tanjungpura).
- Rinawati, N., 2011. Daya Antibakteri Tumbuhan Majapahit (*Crescentia Cujete* L.) terhadap Bakteri *Vibrio alginolyticus*.
- Rismayani., 2013. Manfaat Buah Maja sebagai Pestisida Nabati untuk Hama Penggerek Buah Kakao (*Conopomorpha Cramerella*). *Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri*, 19 (3): 24.
- Rizal, M., 2018. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Mayana (*Coleus Atropurpureus* [L] Benth) Berdasarkan Tingkat Kepolaran Pelarut. ,(Universitas Tadulako).
- Safitri, mia audina curnia, 2020. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Batang Pepaya (*carica papaya* L.) terhadap bakteri *escherichia coli* ATCC 25922 secara In vitro. *skripsi*, p.STIKes Karya Putra Bangsa.
- Safitri, M.A.C., 2020. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Batang Pepaya (*Carica papaya* Linn.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 Secara In

Vitro. *skripsi*, (STIKes Karya Putra Bangsa).

- Samputri, R.D., Toemon, A.N. and Widayati, R., 2020. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Kamandrah (*Croton tiglium* L.) Terhadap Pertumbuhan *Salmonella typhi* Dengan Metode Difusi Cakram (Kirby-Bauer). *herb-medicine journal*, 3(Universitas Palangka Raya).
- Sari, Y., 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Dan Senyawa Aktif Daun Kardia (*Bellucia pentamera* Naudin) Terhadap *Escherichia coli* Dan *Staphylococcus aureus*. *skripsi*, (Universitas Sriwijaya).
- Siregar, A.F., Sabdono, A. and Pringgenies, D., 2012. Potensi Antibakteri Ekstrak Rumput Laut Terhadap Bakteri Penyakit Kulit *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Micrococcus luteus*. *journal of marine research*, 1, pp.152–160.
- Sri Atun, 2014. Metode Isolasi dan Identifikasi Struktur Senyawa Organik Bahan Alam. , 8(Universitas Negeri Yogyakarta), pp.53–61.
- Sugiyono, 2013. Metode Penelitian Kuantitatif Kualitatif dan R&D. , (Bandung), pp.60–64.
- Sulistyarini, I., Sari, D.A. and Wicaksono, T.A., 2020. Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Batang Buah Naga (*Hylocereus polyrhizus*). , (Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi).
- Sumampouw, O.J., 2018. Uji Sensitivitas Antibiotik Terhadap Bakteri *Escherichia Coli* Penyebab Diare Balita Di Kota Manado. , 2(universitas sam ratulangi).
- Susanto, S. and Ruga, R., 2012. Studi Kandungan Bahan Aktif Tumbuhan Meranti Merah (*Shorea Leprosula* Miq) Sebagai Sumber Senyawa Antibakteri. , 11(Mulawarman Scientifie), pp.181–190.
- Sutiknowati, L.I., 2014. Bioindikator Pencemar, Bakteri *Escherichia coli*. , pp.63–71.
- Syafriana, V., Hamida, F., Sukanto, A.R. and Aliya, L.S., Resistensi *Escherichia coli* dari Air Danau ISTN Jakarta Terhadap Antibiotik Amoksisilin, Tetrasiklin, Kloramfenikol, dan Siprofloksasin. 2020, (Institut Sains dan Teknologi Nasional).
- Tiwari, Prashant., Kumar, Bimlesh., Kaur, Mandeep., Kaur, Gurpreet., K. and Harleen, 2011. Phytochemical Screening and Extraction: a Review. *Internationale Pharmaceutica Scientia*. , 1, pp.98–106.
- Tohir, D., G, S.A. and Akbar, 2011. Isolasi Dan Identifikasi Golongan Flavonoid Daun Dandang Gendis (*Clinacanthus nutans*) Berpotensi Sebagai Antioksidan. , p.IPB.

- Utami, mei., widiawati, yayu., hidayah H.A., 2013. Keragaman dan Pemanfaatan Simplisia Nabati yang Diperdagangkan di Purwokerto. , (Universitas Jendral soedirman).
- Wahyuni, R., Guswandi and Rivai, H., 2014. Pengaruh Cara Pengeringan Dengan Oven, Kering Angin Dan Cahaya Matahari Langsung Terhadap Mutu Simplisia Herba Sambiloto. , 6.
- Wahyusi, K.N., Irmawati, N.D. and Zulindah, R., 2020. Koefisien Perpindahan Massa Ekstraksi Flavonoid Dari Buah Pare Dengan Pelarut Etan.
- WHO, 2013. World Health Organization.
- Widaryanto Eko, A.N., 2018. Perspektif Tanaman Obat Berkhasiat (Peluang, Budidaya, Pengolahan Hasil, dan Pemanfaatan). , (Universitas Brawijaya).
- Winangsih, Prihastanti, E. and Parman, S., 2013. Pengaruh Metode Pengeringan Terhadap Kualitas Simplisia Lempuyang Wangi (*Zingiber aromaticum L.*). , 11(1), p.Semarang.
- Yasjudani, Y., 2017. Uji Aktivitas Antimikroba Fraksi Ekstrak Daun Mahoni (*Swietenia Mahagoni L.*) Terhadap Beberapa Mikroba Patogen. , (Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar).
- Yunilas and Yusni, E., 2017. Penuntun Praktikum Mikrobiologi Akuatik. In: *Fakultas Pertanian, Universitas Sumatera Utara*. pp. 1–45.
- Zakki, G.I., 2015. Pengetahuan Dan Perilaku Preventif Terhadap Bakteri *Escherichia coli* Pada Masyarakat Kecamatan Gondomanan Di Kota Yogyakarta. , (Universitas Negeri Semarang).

The logo is circular with a light green background. It features a central shield with a white caduceus (a staff with two snakes) and a white book. The shield is surrounded by a green laurel wreath. The text "SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN" is written in white along the top inner edge of the circle, and "KARYA PUTRA BANGSA - TULUNGAGUNG" is written along the bottom inner edge.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Determinasi Daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*)



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



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

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

Memenuhi permohonan saudara :

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

1. Perihal determinasi tanaman majapahit

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

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

3. Bagian yang digunakan : Daun.

4. Penggunaan : Penelitian.

5. Daftar Pustaka

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

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

Batu, 24 Agustus 2021

KEPALA UPT LABORATORIUM HERBAL
MATERIA MEDICA BATU



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

Lampiran 2. Dokumentasi Penelitian



Penyiapan Alat dan Bahan



Penimbangan Serbuk Simplisia



Proses Maserasi



Tahap Penyaringan



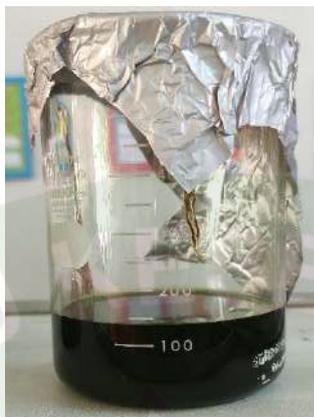
Hasil Ekstraksi



Fraksinasi



Filtrat Aquadest



Filtrat Dichlorometan



Filtrat N-Heksan

Uji Bebas Etanol



Hasil Skrinning Ekstrak



Uji Flavonoid



Uji Alkaloid



Uji Saponin

Mc. Farland



Pewarnaan Gram



SURAT PERNYATAAN PENANGANAN MIKROORGANISME

SAYA YANG BERTANDA TANGAN DIBAWAH INI :

NAMA : Yunita Diyah Safitri
 ALAMAT : Ds. Ngilampir, Kec. Bandung, Kab. Tulungagung, Jawa Timur
 INSTITUSI : STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung

DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA SAYA AKAN MEMPERLAKUKAN MIKROORGANISME BAKTERI / JAMUR / SUSPENSI TELUR CACING (SEBUTKAN JENISNYA)

1. *Escherichia coli* ATCC 25922
2. *Bacillus cereus* ATCC 11778
3.
4.
5.

SESUAI DENGAN KETENTUAN UNIVERSAL BIOSAFETY DAN BIOSECURITY, SAYA MENGGUNAKAN MIKROORGANISME BAKTERI / JAMUR / SUSPENSI TELUR CACING¹ DIATAS HANYA UNTUK KEPERLUAN

1. Penelitian
2.

SAYA TIDAK AKAN MENYALAHGUNAKAN BAKTERI / JAMUR / SUSPENSI TELUR CACING TERSEBUT DI LUAR KEPERLUAN DIATAS DAN SAYA BERTANGGUNG JAWAB PENUH BILA TERJADI HAL - HAL YANG TIDAK DIINGINKAN OLEH KARENA MIKROORGANISME TERSEBUT.

YANG MEMBUAT PERNYATAAN


 (Yunita Diyah Safitri, S.Si., M.Si.)

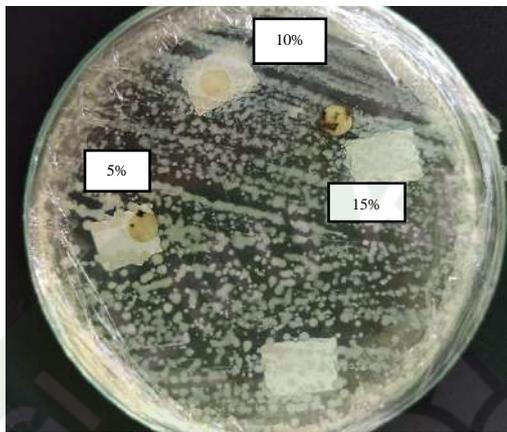


Keterangan :

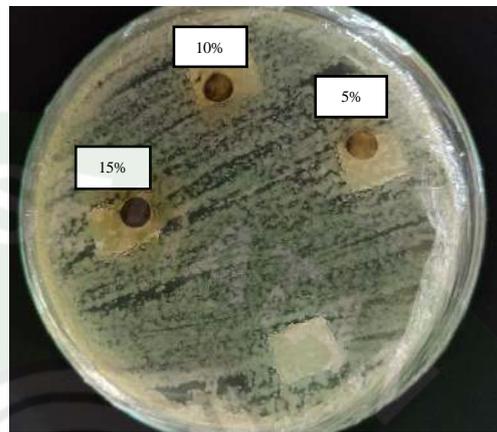
* Coret yang tidak perlu

** Saksi adalah dosen pembimbing atau atasan langsung, tanda tangan harus berstempel resmi.

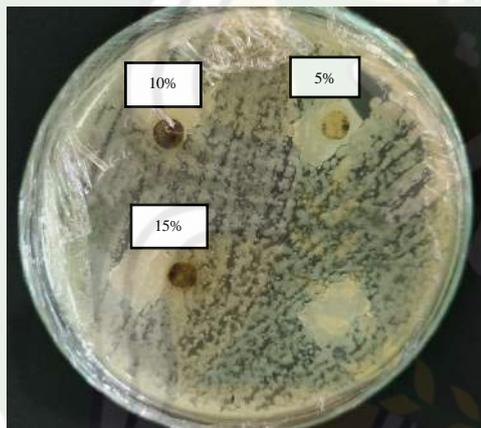
Uji Aktivitas Antibakteri



Fraksi Aquadest



Fraksi Dichlorometana



Fraksi N-heksan



Kontrol (+) dan Kontrol (-)

Lampiran 3. Perhitungan Bahan

1. Pembuatan Media *Nutrien Broth* (NB)

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

2. Pembuatan Media *Nutrien Agar* (NA)

$$\begin{aligned} \text{Bobot NB} &= \frac{BM}{1000} \times \text{Volume} \\ &= \frac{20}{1000} \times 15 \text{ mL} \\ &= 0,3 \text{ gram} \end{aligned}$$

3. Pembuatan Larutan Uji

3.1 Konsentrasi 5%

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

3.2 Konsentrasi 10%

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

3.3 Konsentrasi 15%

$$\begin{aligned} \text{Bobot Fraksi} &= \frac{15}{100} \times \text{Volume} \\ &= \frac{15}{100} \times 1 \text{ mL} \\ &= 0,15 \text{ gram} \end{aligned}$$

4. Perhitungan Hasil

4.1 Uji Kadar Air

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

$$\text{Rumus \% kadar air} = \frac{10 \text{ gr} - 9,35 \text{ gr}}{10 \text{ gr}} \times 100\%$$

$$= 6,5 \%$$

4.2 Uji Susut Pengeringan

$$\text{Rumus \% susut} = \frac{\text{bobot daun basah} - \text{bobot daun kering}}{\text{bobot daun basah}} \times 100\%$$

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

4.3 Uji Rendemen Ekstrak

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

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

4.4 Uji Rendemen Fraksi

4.4.1 Fraksi Aquadestilata

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

$$\begin{aligned} \text{Rumus \%} &= \frac{1 \text{ gr}}{550 \text{ gr}} \times 100\% \\ &= 0,18 \% \end{aligned}$$

4.4.2 Fraksi Dichloromethana

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

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

4.4.3 Fraksi n-Heksan

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

$$\begin{aligned} \text{Rumus \%} &= \frac{3 \text{ gr}}{550 \text{ gr}} \times 100\% \\ &= 0,54 \% \end{aligned}$$

Lampiran 4 Analisis Hasil

1. Uji Normalitas

		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
Konsentrasi		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
zona hambat	fraksi aqua 5%	.385	3	.	.750	3	.000
	fraksi aqua 10%	.292	3	.	.923	3	.463
	fraksi aqua 15%	.385	3	.	.750	3	.000
	fraksi dichloro 5%	.385	3	.	.750	3	.000
	fraksi dichloro 10%	.343	3	.	.842	3	.220
	fraksi dichloro 15%	.385	3	.	.750	3	.000
	fraksi n-heksan 5%	.385	3	.	.750	3	.000
	fraksi n heksan 10%	.	3	.	.	3	.
	fraksi n heksan 15%	.	3	.	.	3	.
	kontrol positif	.385	3	.	.750	3	.000
	kontrol negatif	.	3	.	.	3	.

a. Lilliefors Significance Correction

2. Uji Homogenitas

		Test of Homogeneity of Variances			
		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
ZONA Hambat	Based on Mean	4.998	10	22	.001
	Based on Median	.383	10	22	.941
	Based on Median and with adjusted df	.383	10	13.040	.933
	Based on trimmed mean	4.053	10	22	.003

3. ANOVA

ANOVA

ZONA HAMBAT					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	230.470	10	23.047	1.712	.141
Within Groups	296.167	22	13.462		
Total	526.636	32			

4. Homogenius subset

ZONA HAMBAT

ZONA HAMBAT			
	PELARUT	N	Zona Hambat
			1
Tukey HSD ^a	N HEKSAN 10%	3	.0000
	N HEKSAN 15%	3	.0000
	K-	3	.0000
	AQUADES 5%	3	2.3333
	DIKLORO 5%	3	2.3333
	N HEKSAN 5%	3	2.3333
	DIKLORO 15%	3	2.8333
	AQUADEST 10%	3	4.6667
	DIKLORO 10%	3	5.0000
	AQUADEST 15%	3	6.6667
	K+	3	8.3333
	Sig.		
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.			
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.			

5. Post Hoc

Multiple Comparisons

Dependent Variable: ZONA_HAMBAT

	(I) KELOMPOK	(J) KELOMPOK	Mean	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
			Difference (I-J)			Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	AQUADES 5%	AQUADES 10%	-2.33333	2.99579	.999	-13.0427	8.3760
		AQUADES 15%	-4.33333	2.99579	.922	-15.0427	6.3760
		DCM 5%	.00000	2.99579	1.000	-10.7094	10.7094
		DCM 10%	-2.66667	2.99579	.997	-13.3760	8.0427
		DCM 15%	-.50000	2.99579	1.000	-11.2094	10.2094
		N HEKSAN 5%	.00000	2.99579	1.000	-10.7094	10.7094
		N HEKSAN 10%	2.33333	2.99579	.999	-8.3760	13.0427
		N HEKSAN 15%	2.33333	2.99579	.999	-8.3760	13.0427
		K+	-6.00000	2.99579	.649	-16.7094	4.7094
	K-	2.33333	2.99579	.999	-8.3760	13.0427	
	AQUADES 10%	AQUADES 5%	2.33333	2.99579	.999	-8.3760	13.0427
		AQUADES 15%	-2.00000	2.99579	1.000	-12.7094	8.7094
		DCM 5%	2.33333	2.99579	.999	-8.3760	13.0427
		DCM 10%	-.33333	2.99579	1.000	-11.0427	10.3760
		DCM 15%	1.83333	2.99579	1.000	-8.8760	12.5427
		N HEKSAN 5%	2.33333	2.99579	.999	-8.3760	13.0427
		N HEKSAN 10%	4.66667	2.99579	.883	-6.0427	15.3760
		N HEKSAN 15%	4.66667	2.99579	.883	-6.0427	15.3760
K+		-3.66667	2.99579	.972	-14.3760	7.0427	
K-	4.66667	2.99579	.883	-6.0427	15.3760		
AQUADES 15%	AQUADES 5%	4.33333	2.99579	.922	-6.3760	15.0427	
	AQUADES 10%	2.00000	2.99579	1.000	-8.7094	12.7094	
	DCM 5%	4.33333	2.99579	.922	-6.3760	15.0427	

	DCM 10%	1.66667	2.99579	1.000	-9.0427	12.3760
	DCM 15%	3.83333	2.99579	.963	-6.8760	14.5427
	N HEKSAN 5%	4.33333	2.99579	.922	-6.3760	15.0427
	N HEKSAN 10%	6.66667	2.99579	.512	-4.0427	17.3760
	N HEKSAN 15%	6.66667	2.99579	.512	-4.0427	17.3760
	K+	-1.66667	2.99579	1.000	-12.3760	9.0427
	K-	6.66667	2.99579	.512	-4.0427	17.3760
DCM 5%	AQUADES 5%	.00000	2.99579	1.000	-10.7094	10.7094
	AQUADES 10%	-2.33333	2.99579	.999	-13.0427	8.3760
	AQUADES 15%	-4.33333	2.99579	.922	-15.0427	6.3760
	DCM 10%	-2.66667	2.99579	.997	-13.3760	8.0427
	DCM 15%	-.50000	2.99579	1.000	-11.2094	10.2094
	N HEKSAN 5%	.00000	2.99579	1.000	-10.7094	10.7094
	N HEKSAN 10%	2.33333	2.99579	.999	-8.3760	13.0427
	N HEKSAN 15%	2.33333	2.99579	.999	-8.3760	13.0427
	K+	-6.00000	2.99579	.649	-16.7094	4.7094
	K-	2.33333	2.99579	.999	-8.3760	13.0427
DCM 10%	AQUADES 5%	2.66667	2.99579	.997	-8.0427	13.3760
	AQUADES 10%	.33333	2.99579	1.000	-10.3760	11.0427
	AQUADES 15%	-1.66667	2.99579	1.000	-12.3760	9.0427
	DCM 5%	2.66667	2.99579	.997	-8.0427	13.3760
	DCM 15%	2.16667	2.99579	1.000	-8.5427	12.8760
	N HEKSAN 5%	2.66667	2.99579	.997	-8.0427	13.3760
	N HEKSAN 10%	5.00000	2.99579	.835	-5.7094	15.7094
	N HEKSAN 15%	5.00000	2.99579	.835	-5.7094	15.7094
	K+	-3.33333	2.99579	.986	-14.0427	7.3760
	K-	5.00000	2.99579	.835	-5.7094	15.7094
DCM 15%	AQUADES 5%	.50000	2.99579	1.000	-10.2094	11.2094

	AQUADES 10%	-1.83333	2.99579	1.000	-12.5427	8.8760
	AQUADES 15%	-3.83333	2.99579	.963	-14.5427	6.8760
	DCM 5%	.50000	2.99579	1.000	-10.2094	11.2094
	DCM 10%	-2.16667	2.99579	1.000	-12.8760	8.5427
	N HEKSAN 5%	.50000	2.99579	1.000	-10.2094	11.2094
	N HEKSAN 10%	2.83333	2.99579	.996	-7.8760	13.5427
	N HEKSAN 15%	2.83333	2.99579	.996	-7.8760	13.5427
	K+	-5.50000	2.99579	.748	-16.2094	5.2094
	K-	2.83333	2.99579	.996	-7.8760	13.5427
N HEKSAN 5%	AQUADES 5%	.00000	2.99579	1.000	-10.7094	10.7094
	AQUADES 10%	-2.33333	2.99579	.999	-13.0427	8.3760
	AQUADES 15%	-4.33333	2.99579	.922	-15.0427	6.3760
	DCM 5%	.00000	2.99579	1.000	-10.7094	10.7094
	DCM 10%	-2.66667	2.99579	.997	-13.3760	8.0427
	DCM 15%	-.50000	2.99579	1.000	-11.2094	10.2094
	N HEKSAN 10%	2.33333	2.99579	.999	-8.3760	13.0427
	N HEKSAN 15%	2.33333	2.99579	.999	-8.3760	13.0427
	K+	-6.00000	2.99579	.649	-16.7094	4.7094
	K-	2.33333	2.99579	.999	-8.3760	13.0427
N HEKSAN 10%	AQUADES 5%	-2.33333	2.99579	.999	-13.0427	8.3760
	AQUADES 10%	-4.66667	2.99579	.883	-15.3760	6.0427
	AQUADES 15%	-6.66667	2.99579	.512	-17.3760	4.0427
	DCM 5%	-2.33333	2.99579	.999	-13.0427	8.3760
	DCM 10%	-5.00000	2.99579	.835	-15.7094	5.7094
	DCM 15%	-2.83333	2.99579	.996	-13.5427	7.8760
	N HEKSAN 5%	-2.33333	2.99579	.999	-13.0427	8.3760
	N HEKSAN 15%	.00000	2.99579	1.000	-10.7094	10.7094

	K+	-8.33333	2.99579	.228	-19.0427	2.3760
	K-	.00000	2.99579	1.000	-10.7094	10.7094
N HEKSAN 15%	AQUADES 5%	-2.33333	2.99579	.999	-13.0427	8.3760
	AQUADES 10%	-4.66667	2.99579	.883	-15.3760	6.0427
	AQUADES 15%	-6.66667	2.99579	.512	-17.3760	4.0427
	DCM 5%	-2.33333	2.99579	.999	-13.0427	8.3760
	DCM 10%	-5.00000	2.99579	.835	-15.7094	5.7094
	DCM 15%	-2.83333	2.99579	.996	-13.5427	7.8760
	N HEKSAN 5%	-2.33333	2.99579	.999	-13.0427	8.3760
	N HEKSAN 10%	.00000	2.99579	1.000	-10.7094	10.7094
	K+	-8.33333	2.99579	.228	-19.0427	2.3760
	K-	.00000	2.99579	1.000	-10.7094	10.7094
K+	AQUADES 5%	6.00000	2.99579	.649	-4.7094	16.7094
	AQUADES 10%	3.66667	2.99579	.972	-7.0427	14.3760
	AQUADES 15%	1.66667	2.99579	1.000	-9.0427	12.3760
	DCM 5%	6.00000	2.99579	.649	-4.7094	16.7094
	DCM 10%	3.33333	2.99579	.986	-7.3760	14.0427
	DCM 15%	5.50000	2.99579	.748	-5.2094	16.2094
	N HEKSAN 5%	6.00000	2.99579	.649	-4.7094	16.7094
	N HEKSAN 10%	8.33333	2.99579	.228	-2.3760	19.0427
	N HEKSAN 15%	8.33333	2.99579	.228	-2.3760	19.0427
	K-	8.33333	2.99579	.228	-2.3760	19.0427
K-	AQUADES 5%	-2.33333	2.99579	.999	-13.0427	8.3760
	AQUADES 10%	-4.66667	2.99579	.883	-15.3760	6.0427
	AQUADES 15%	-6.66667	2.99579	.512	-17.3760	4.0427
	DCM 5%	-2.33333	2.99579	.999	-13.0427	8.3760
	DCM 10%	-5.00000	2.99579	.835	-15.7094	5.7094
	DCM 15%	-2.83333	2.99579	.996	-13.5427	7.8760
	N HEKSAN 5%	-2.33333	2.99579	.999	-13.0427	8.3760

		N HEKSAN 10%	.00000	2.99579	1.000	-10.7094	10.7094
		N HEKSAN 15%	.00000	2.99579	1.000	-10.7094	10.7094
		K+	-8.33333	2.99579	.228	-19.0427	2.3760
LSD	AQUADES 5%	AQUADES 10%	-2.33333	2.99579	.444	-8.5462	3.8796
		AQUADES 15%	-4.33333	2.99579	.162	-10.5462	1.8796
		DCM 5%	.00000	2.99579	1.000	-6.2129	6.2129
		DCM 10%	-2.66667	2.99579	.383	-8.8796	3.5462
		DCM 15%	-.50000	2.99579	.869	-6.7129	5.7129
		N HEKSAN 5%	.00000	2.99579	1.000	-6.2129	6.2129
		N HEKSAN 10%	2.33333	2.99579	.444	-3.8796	8.5462
		N HEKSAN 15%	2.33333	2.99579	.444	-3.8796	8.5462
		K+	-6.00000	2.99579	.058	-12.2129	.2129
		K-	2.33333	2.99579	.444	-3.8796	8.5462
	AQUADES 10%	AQUADES 5%	2.33333	2.99579	.444	-3.8796	8.5462
		AQUADES 15%	-2.00000	2.99579	.511	-8.2129	4.2129
		DCM 5%	2.33333	2.99579	.444	-3.8796	8.5462
		DCM 10%	-.33333	2.99579	.912	-6.5462	5.8796
		DCM 15%	1.83333	2.99579	.547	-4.3796	8.0462
		N HEKSAN 5%	2.33333	2.99579	.444	-3.8796	8.5462
		N HEKSAN 10%	4.66667	2.99579	.134	-1.5462	10.8796
		N HEKSAN 15%	4.66667	2.99579	.134	-1.5462	10.8796
		K+	-3.66667	2.99579	.234	-9.8796	2.5462
		K-	4.66667	2.99579	.134	-1.5462	10.8796
	AQUADES 15%	AQUADES 5%	4.33333	2.99579	.162	-1.8796	10.5462
		AQUADES 10%	2.00000	2.99579	.511	-4.2129	8.2129
		DCM 5%	4.33333	2.99579	.162	-1.8796	10.5462
		DCM 10%	1.66667	2.99579	.584	-4.5462	7.8796
		DCM 15%	3.83333	2.99579	.214	-2.3796	10.0462

	N HEKSAN 5%	4.33333	2.99579	.162	-1.8796	10.5462
	N HEKSAN 10%	6.66667*	2.99579	.037	.4538	12.8796
	N HEKSAN 15%	6.66667*	2.99579	.037	.4538	12.8796
	K+	-1.66667	2.99579	.584	-7.8796	4.5462
	K-	6.66667*	2.99579	.037	.4538	12.8796
DCM 5%	AQUADES 5%	.00000	2.99579	1.000	-6.2129	6.2129
	AQUADES 10%	-2.33333	2.99579	.444	-8.5462	3.8796
	AQUADES 15%	-4.33333	2.99579	.162	-10.5462	1.8796
	DCM 10%	-2.66667	2.99579	.383	-8.8796	3.5462
	DCM 15%	-.50000	2.99579	.869	-6.7129	5.7129
	N HEKSAN 5%	.00000	2.99579	1.000	-6.2129	6.2129
	N HEKSAN 10%	2.33333	2.99579	.444	-3.8796	8.5462
	N HEKSAN 15%	2.33333	2.99579	.444	-3.8796	8.5462
	K+	-6.00000	2.99579	.058	-12.2129	.2129
	K-	2.33333	2.99579	.444	-3.8796	8.5462
DCM 10%	AQUADES 5%	2.66667	2.99579	.383	-3.5462	8.8796
	AQUADES 10%	.33333	2.99579	.912	-5.8796	6.5462
	AQUADES 15%	-1.66667	2.99579	.584	-7.8796	4.5462
	DCM 5%	2.66667	2.99579	.383	-3.5462	8.8796
	DCM 15%	2.16667	2.99579	.477	-4.0462	8.3796
	N HEKSAN 5%	2.66667	2.99579	.383	-3.5462	8.8796
	N HEKSAN 10%	5.00000	2.99579	.109	-1.2129	11.2129
	N HEKSAN 15%	5.00000	2.99579	.109	-1.2129	11.2129
	K+	-3.33333	2.99579	.278	-9.5462	2.8796
	K-	5.00000	2.99579	.109	-1.2129	11.2129
DCM 15%	AQUADES 5%	.50000	2.99579	.869	-5.7129	6.7129
	AQUADES 10%	-1.83333	2.99579	.547	-8.0462	4.3796

	AQUADES 15%	-3.83333	2.99579	.214	-10.0462	2.3796
	DCM 5%	.50000	2.99579	.869	-5.7129	6.7129
	DCM 10%	-2.16667	2.99579	.477	-8.3796	4.0462
	N HEKSAN 5%	.50000	2.99579	.869	-5.7129	6.7129
	N HEKSAN 10%	2.83333	2.99579	.355	-3.3796	9.0462
	N HEKSAN 15%	2.83333	2.99579	.355	-3.3796	9.0462
	K+	-5.50000	2.99579	.080	-11.7129	.7129
	K-	2.83333	2.99579	.355	-3.3796	9.0462
N HEKSAN 5%	AQUADES 5%	.00000	2.99579	1.000	-6.2129	6.2129
	AQUADES 10%	-2.33333	2.99579	.444	-8.5462	3.8796
	AQUADES 15%	-4.33333	2.99579	.162	-10.5462	1.8796
	DCM 5%	.00000	2.99579	1.000	-6.2129	6.2129
	DCM 10%	-2.66667	2.99579	.383	-8.8796	3.5462
	DCM 15%	-.50000	2.99579	.869	-6.7129	5.7129
	N HEKSAN 10%	2.33333	2.99579	.444	-3.8796	8.5462
	N HEKSAN 15%	2.33333	2.99579	.444	-3.8796	8.5462
	K+	-6.00000	2.99579	.058	-12.2129	.2129
	K-	2.33333	2.99579	.444	-3.8796	8.5462
N HEKSAN 10%	AQUADES 5%	-2.33333	2.99579	.444	-8.5462	3.8796
	AQUADES 10%	-4.66667	2.99579	.134	-10.8796	1.5462
	AQUADES 15%	-6.66667*	2.99579	.037	-12.8796	-.4538
	DCM 5%	-2.33333	2.99579	.444	-8.5462	3.8796
	DCM 10%	-5.00000	2.99579	.109	-11.2129	1.2129
	DCM 15%	-2.83333	2.99579	.355	-9.0462	3.3796
	N HEKSAN 5%	-2.33333	2.99579	.444	-8.5462	3.8796
	N HEKSAN 15%	.00000	2.99579	1.000	-6.2129	6.2129
	K+	-8.33333*	2.99579	.011	-14.5462	-2.1204
	K-	.00000	2.99579	1.000	-6.2129	6.2129

N HEKSAN 15%	AQUADES 5%	-2.33333	2.99579	.444	-8.5462	3.8796
	AQUADES 10%	-4.66667	2.99579	.134	-10.8796	1.5462
	AQUADES 15%	-6.66667*	2.99579	.037	-12.8796	-.4538
	DCM 5%	-2.33333	2.99579	.444	-8.5462	3.8796
	DCM 10%	-5.00000	2.99579	.109	-11.2129	1.2129
	DCM 15%	-2.83333	2.99579	.355	-9.0462	3.3796
	N HEKSAN 5%	-2.33333	2.99579	.444	-8.5462	3.8796
	N HEKSAN 10%	.00000	2.99579	1.000	-6.2129	6.2129
	K+	-8.33333*	2.99579	.011	-14.5462	-2.1204
	K-	.00000	2.99579	1.000	-6.2129	6.2129
	K+	AQUADES 5%	6.00000	2.99579	.058	-.2129
AQUADES 10%		3.66667	2.99579	.234	-2.5462	9.8796
AQUADES 15%		1.66667	2.99579	.584	-4.5462	7.8796
DCM 5%		6.00000	2.99579	.058	-.2129	12.2129
DCM 10%		3.33333	2.99579	.278	-2.8796	9.5462
DCM 15%		5.50000	2.99579	.080	-.7129	11.7129
N HEKSAN 5%		6.00000	2.99579	.058	-.2129	12.2129
N HEKSAN 10%		8.33333*	2.99579	.011	2.1204	14.5462
N HEKSAN 15%		8.33333*	2.99579	.011	2.1204	14.5462
K-		8.33333*	2.99579	.011	2.1204	14.5462
K-		AQUADES 5%	-2.33333	2.99579	.444	-8.5462
	AQUADES 10%	-4.66667	2.99579	.134	-10.8796	1.5462
	AQUADES 15%	-6.66667*	2.99579	.037	-12.8796	-.4538
	DCM 5%	-2.33333	2.99579	.444	-8.5462	3.8796
	DCM 10%	-5.00000	2.99579	.109	-11.2129	1.2129
	DCM 15%	-2.83333	2.99579	.355	-9.0462	3.3796
	N HEKSAN 5%	-2.33333	2.99579	.444	-8.5462	3.8796
	N HEKSAN 10%	.00000	2.99579	1.000	-6.2129	6.2129

N HEKSAN 15%	.00000	2.99579	1.000	-6.2129	6.2129
K+	-8.33333*	2.99579	.011	-14.5462	-2.1204

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

6. Uji Kruskal Wallis

Test Statistics^{a,b}

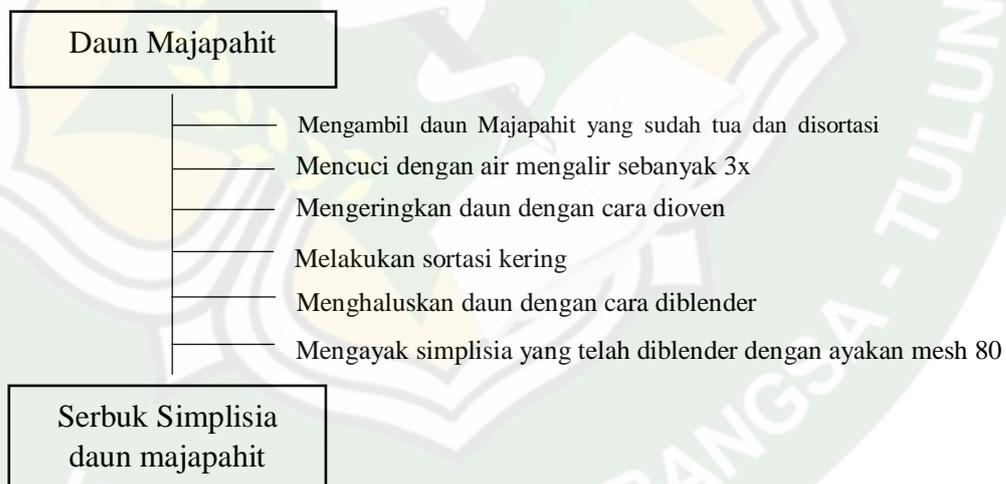
	zona hambat
Kruskal-Wallis H	13.566
Df	10
Asymp. Sig.	.194

a. Kruskal Wallis Test

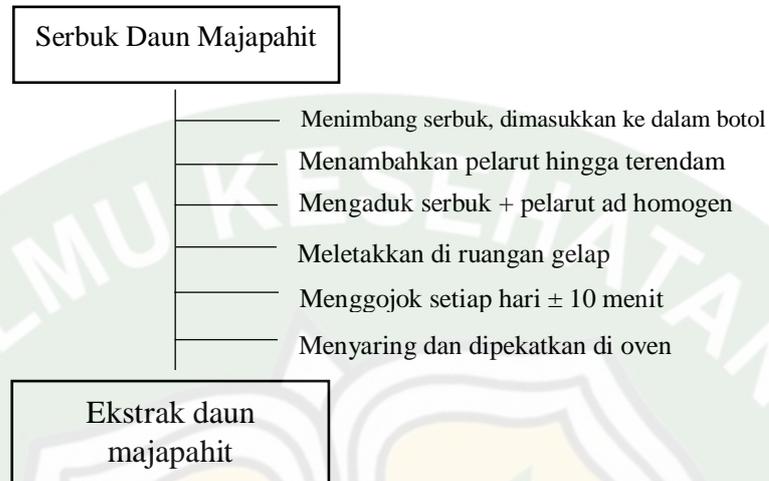
b. Grouping Variable: konsentrasi

Lampiran 5 Alur Prosedur Kerja

1. Pembuatan simplisia



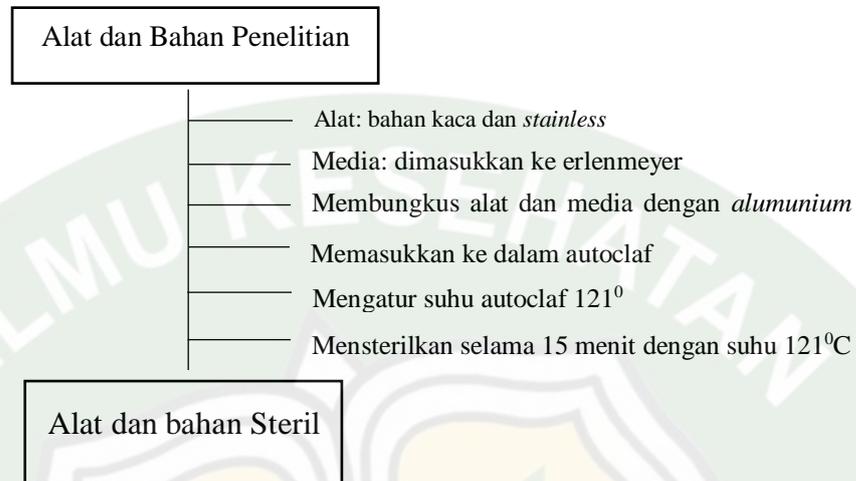
2. Pembuatan Ekstrak



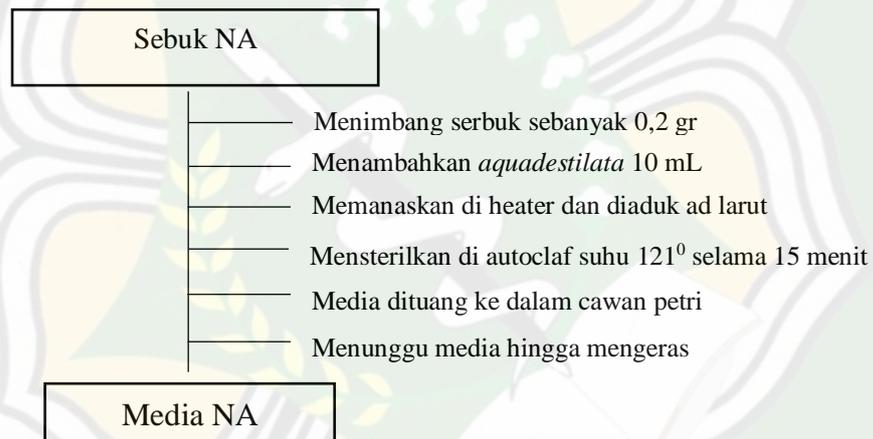
3. Fraksinasi



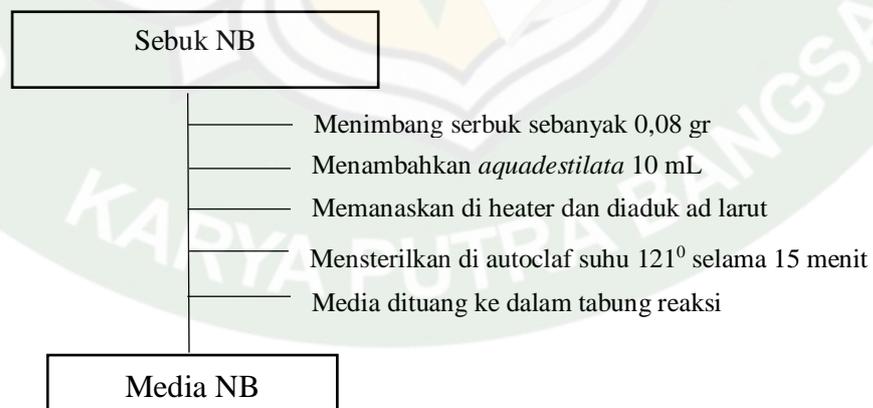
4. Sterilisasi Alat dan Bahan



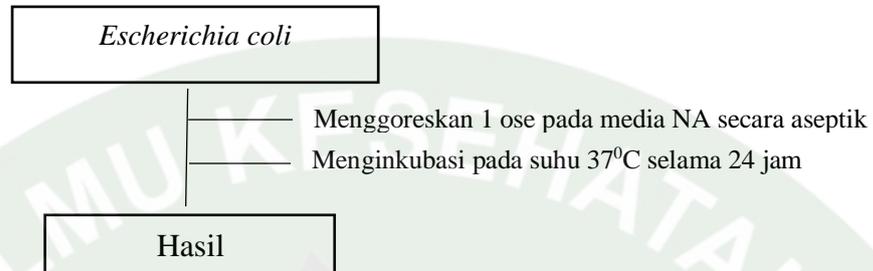
5. Pembuatan media NA



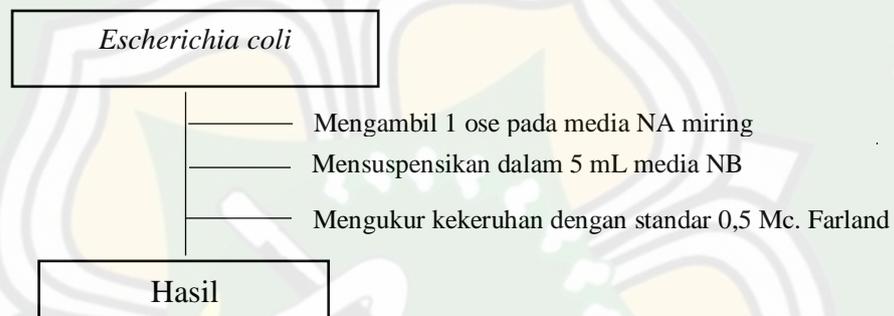
6. Pembuatan media NB



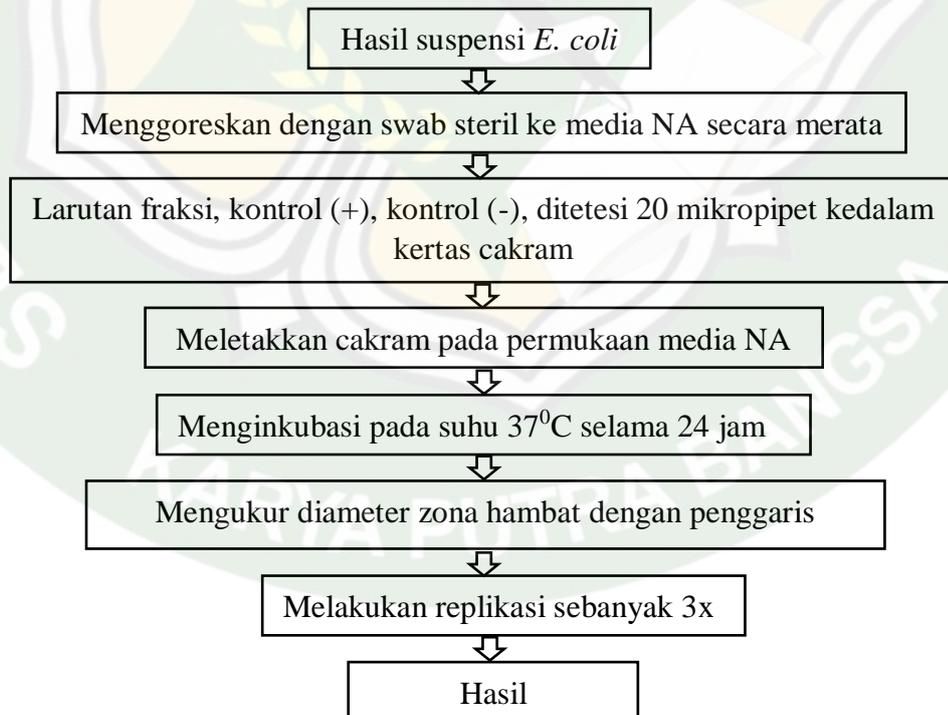
7. Peremajaan bakteri



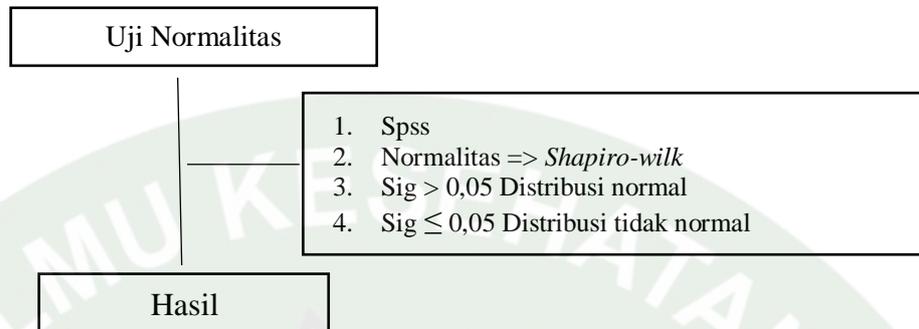
8. Pembuatan suspensi bakteri



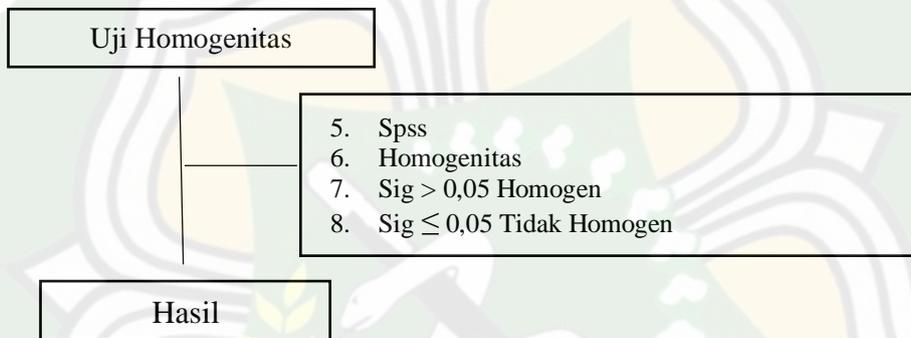
9. Uji Aktivitas Antibakteri



10. Uji Normalitas



11. Uji Homogenitas



12. One Way Anova



13. Uji *Kruskal Wallis*

Uji *Kruskal Wallis*

1. SPSS
2. *Kruskal Wallis*
3. Sig > 0,05 data tidak berbeda bermakna
4. Sig \leq 0,05 data berbeda bermakna

Hasil

