

SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI GEL FRAKSI DARI
EKSTRAK SOKHLET *Zibethinus folium* TERHADAP
Escherichia coli SECARA *IN VITRO***



ARUM FAJARWATI

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

2018

SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI GEL FRAKSI DARI
EKSTRAK SOKHLET *Zibethinus folium* TERHADAP
Escherichia coli SECARA *IN VITRO***

ARUM FAJARWATI

NIM: 1413206007

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

2018

ii

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI GEL FRAKSI DARI
EKSTRAK SOKHLET *Zibethinus folium* TERHADAP
Escherichia coli SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

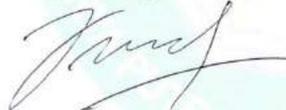
**Dibuat untuk Memenuhi Syarat Mencapai Gelar Sarjana Farmasi pada
Program Studi S1 Farmasi STIKes Karya Putra Bangsa
2018**

Oleh:

**ARUM FAJARWATI
NIM: 1413206007**

**Skripsi ini telah disetujui
Tanggal 10 Juli 2018 oleh:**

Pembimbing Utama,



**Yanu Andhiarto, M.Farm., Apt
NP. 14.83.01.19**

Pembimbing Serta,



**Sri Rahayu Dwi P., M.Kes, Apt
NIDN. 07.150472.01**

**Ketua
STIKes Karya Putra Bangsa**



**dr. Denok Sri Utami, M.H
NIDN. 07.050966.01**

**Ketua Program Studi
S1 Farmasi**



**Tri Anita Sari, S.Farm, Apt
NP. 15.86.01.03**

SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Arum Fajarwati

NIM : 1413206007

Program Studi : S1 Farmasi

menyatakan bahwa sesungguhnya skripsi yang saya tulis dengan judul:

**(UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI GEL FRAKSI DARI
EKSTRAK SOKHLET *Zibethinus folium* TERHADAP
Escherichia coli SECARA *IN VITRO*)**

adalah benar-benar merupakan hasil karya sendiri. Apabila di kemudian hari diketahui bahwa skripsi ini menggunakan data fiktif atau merupakan hasil dari plagiarisme, maka saya bersedia menerima sanksi berupa pembatalan kelulusan atau pencabutan gelar yang saya peroleh.

Demikian surat pernyataan ini saya buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Tulungagung, 11 Mei 2018



Arum Fajarwati

NIM: 1413206007

KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah SWT yang telah memberikan karunia-Nya kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI GEL FRAKSI DARI EKSTRAK SOKHLET *Zibethinus folium* TERHADAP *Escherichia coli* SECARA *IN VITRO***”.

Penyusunan skripsi ini dapat berjalan dengan lancar dan selesai tepat pada waktunya tentunya dengan adanya bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada pihak-pihak yang telah membantu. Ucapan terima kasih penulis ucapkan kepada :

1. Ibu dr. Denok Sri Utami MH selaku ketua Stikes karya putra bangsa.
2. Bapak Choirul Huda M.Farm., Apt selaku dosen pembimbing utama yang selalu memberikan bimbingan dalam penyelesaian skripsi.
3. Ibu Amalia Eka Putri S.Farm., Apt selaku dosen pembimbing serta yang selalu memberikan saran dan masukan serta menyemangati hingga skripsi ini bisa selesai.
4. Seluruh dosen dan staf karyawan stikes karya putra bangsa yang memberikan dukungan dalam penyelesaian skripsi.
5. Ibu Retno selaku kepala Laboratorium Stikes karya putra bangsa yang memberikan kemudahan perizinan dan membantu kelancaran saat di laboratorium.
6. Ibu Faizah selaku laboran yang memberi kemudahan dari awal hingga akhir pada saat di laboratorium.
7. Ibu, Bapak, Kang Sumino, Sarkun dan Danang serta segenap keluarga yang selalu memberikan doa dan semangat.
8. Mbak Wynda, Ko Andi, Mami dan Papi yang selalu menyemangati dan membantu melancarkan penyusunan skripsi.
9. Fatma, Mila dan Sajid yang selalu memberikan semangat kepada penulis.
10. Tim Durio (Anggi, Dahniar dan Devri) yang menemani dan menyemangati dari awal hingga akhir dan sahabat setia penulis yang memberikan motivasi serta fasilitas untuk pengerjaan skripsi ini.

11. Teman-teman angkatan pertama farmasi Stikes karya putra bangsa khususnya Yane, Devri, Depi, Efi, Dyah, Dewi, Zia, Nia dan Alfi yang selalu memberikan semangat.
12. Semua pihak yang tidak bisa penulis sebutkan satu-persatu.

Penulis sadar bahwa masih banyak kekurangan dalam penyusunan skripsi. Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan penyusunan skripsi. Kritik dan saran yang membangun penulis harapkan dari pembaca. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat dalam perkembangan ilmu pengetahuan.

Tulungagung, 11 Mei 2018

Penulis

(Arum Fajarwati)

RINGKASAN

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI GEL FRAKSI DARI EKSTRAK SOKHLET *Zibethinus folium* TERHADAP *Escherichia coli* SECARA *IN VITRO*

Tumbuhan obat yang tersebar di Indonesia sekitar 20.000 jenis namun baru 300 jenis yang dimanfaatkan sebagai obat tradisional. Daun durian merupakan salah satu tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional. *Escherichia coli* merupakan bakteri penyebab 16.000 kasus penyakit melalui makanan. Penelitian ini bertujuan mengetahui aktivitas antibakteri fraksi dari ekstrak sokhlet *Zibethinus folium*, fraksi yang paling efektif terhadap *Escherichia coli*, dan aktivitas gel dari fraksi paling efektif serta stabilitasnya selama penyimpanan.

Metode ekstraksi yang digunakan adalah sokhletasi selanjutnya dilakukan fraksinasi untuk memisahkan senyawa berdasarkan perbedaan tingkat kepolaran menggunakan pelarut *aqua destillata*, etil asetat dan n-heksan. Fraksi yang paling efektif sebagai antibakteri dilakukan formulasi sediaan gel. Aktivitas antibakteri masing-masing fraksi dan sediaan gel diuji menggunakan difusi cakram. Data diuji secara statistik menggunakan ANOVA dan dilanjutkan uji *Two-Sample T-Test*.

Hasil penelitian menunjukkan fraksi dari ekstrak sokhlet *Zibethinus folium* mempunyai daya hambat terhadap *Escherichia coli* secara *in vitro*. Diameter zona hambat fraksi *aqua destillata* $15 \pm 0,87$ mm, fraksi etil asetat $21,7 \pm 0,85$ mm, dan fraksi n-heksan $19,3 \pm 0,76$ mm. Hasil evaluasi gel 1% fraksi etil asetat 30% yaitu berbentuk semi padat, berwarna hijau, berbau khas, homogen, pH 5, daya lekat sebesar $1,13 \pm 0,11$ detik, daya sebar $4,1 \pm 0,40$ cm dan daya proteksi memberikan noda merah yang berarti telah memenuhi persyaratan namun tidak memenuhi pada daya proteksi. Diameter zona hambat gel 1% dari fraksi etil asetat 30% sebesar $13,17 \pm 2,57$ mm. Fraksi dari ekstrak sokhlet *Zibethinus folium* memiliki aktivitas antibakteri *Escherichia coli* yang ditunjukkan dengan adanya zona hambat. Fraksi terbaik dari ekstrak sokhlet *Zibethinus folium* adalah fraksi etil asetat. Gel fraksi etil asetat stabil selama penyimpanan yang ditandai dengan evaluasi yang memenuhi persyaratan namun tidak memenuhi pada uji daya proteksi dan mempunyai aktivitas sebagai antibakteri *Escherichia coli*.

ABSTRACT

ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF FRACTION FROM *Zibethinus folium* SOXHLET EXTRACT AGAINST *Escherichia coli* IN VITRO

*This study aims to investigate the antibacterial activity of fraction from *Zibethinus folium soxhlet* extract, the most effective fraction as antibacterial, and gel activity of the most effective fraction and stability during storage. The used methods are soxhletation and fractionation. The most effective fraction as antibacterial was prepared gel formulation. The antibacterial activity test of fraction and gel were performed using the disc diffusion method. Data were statistically tested using ANOVA and Two-Sample T-Test. The results showed the fraction of soxhlet extract had inhibitory power to *Escherichia coli*. The diameter of inhibitory zone of aqua destillata fraction is 15 ± 0.87 mm, ethyl acetate fraction is 21.7 ± 0.85 mm, and n-hexane fraction is 19.3 ± 0.76 mm. The results of evaluation of gel were semi solid, green, odour, homogeneous, pH of 5, adhesive power of 1.13 ± 0.11 seconds, spread of 4.1 ± 0.40 cm and protection gives red stain. Gel 1% ethyl acetate fraction 30% provides an inhibit zone 13.17 ± 2.57 mm. Fraction *Zibethinus folium* had antibacterial activity characterized by inhibition zone. The most effective fraction from soxhlet extract *Zibethinus folium* as the antibacterial *Escherichia coli* was the ethyl acetate fraction. Gel 1 % of ethyl acetate fraction stable in storage and had antibacterial activity against *Escherichia coli*.*

Keywords: *Soxhletation, *Zibethinus folium* fraction, gel antibacterial, *Escherichia coli*, antibacterial activity*

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
LEMBAR PENGESAHAN.....	iii
SURAT PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR	v
RINGKASAN.....	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Hipotesis	5
1.5 Manfaat Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Obat Tradisional.....	6
2.2 Durian	6
2.2.1 Klasifikasi	7
2.2.2 Morfologi.....	7
2.2.3 Kandungan	8
2.2.3.1 Flavonoid	9
2.2.3.2 Saponin.....	9
2.2.3.3 Tanin.....	9
2.2.3.4 Steroid.....	10
2.2.4 Khasiat	10
2.3 Simplisia	11

2.3.1	Syarat Simplisia	11
2.3.2	Penyiapan Simplisia	12
2.3.2.1	Pengumpulan Bahan Baku.....	12
2.3.2.2	Sortasi Basah.....	12
2.3.2.3	Pencucian.....	12
2.3.2.4	Perajangan.....	13
2.3.2.5	Pengeringan	13
2.3.2.6	Sortasi Kering	14
2.3.2.7	Penggilingan	14
2.3.2.8	Penyimpanan.....	14
2.4	Ekstraksi	15
2.4.1	Metode Ekstraksi.....	15
2.4.1.1	Sokhletasi.....	15
2.4.1.2	Maserasi.....	16
2.4.1.3	Refluks.....	16
2.4.1.4	Digesti.....	16
2.4.1.5	Infus.....	16
2.4.1.6	Perkolasi	17
2.4.2	Pelarut.....	17
2.4.2.1	Air	17
2.4.2.2	Etanol.....	17
2.4.2.3	Aseton.....	18
2.4.2.4	Kloroform	18
2.4.2.5	Eter	18
2.5	Fraksinasi	18
2.6	Gel	19
2.6.1	Monografi Bahan	20
2.6.1.1	Karbopol.....	20
2.6.1.2	Propiken Glikol.....	20
2.6.1.3	Etanol.....	20
2.6.1.4	<i>Ethylendiaminetetraacetate</i> (EDTA).....	21

2.6.1.5	Metil Paraben	21
2.6.1.6	Propil Paraben	21
2.6.1.7	<i>Triethanolamin</i> (TEA).....	21
2.7	Bakteri	22
2.7.1	Penggolongan Bakteri	22
2.7.1.1	Bakteri Aerob.....	22
2.7.1.2	Bakteri Anaerob	23
2.8	<i>Escherichia coli</i>	23
2.8.1	Klasifikasi	23
2.8.2	Morfologi.....	23
2.9	Antibakteri	24
2.9.1	Mekanisme Kerja Antibakteri.....	24
2.9.1.1	Menghambat Sintesis Dinding Sel	24
2.9.1.2	Menghambat Sintesis Protein	25
2.9.1.3	Menghambat Fungsi DNA.....	26
2.9.1.4	Merusak Membran Plasma	26
2.9.1.5	Menghambat Tetrahydrofolic Acid.....	26
2.10	Uji Aktivitas Antibakteri	26
2.10.1	Metode Difusi	27
2.10.1.1	Disc Diffusion.....	27
2.10.1.2	E-test.....	27
2.10.1.3	Ditch-plate Technique	28
2.10.1.4	Gradient-plate Technique	28
2.10.1.5	Cup-plat Technique	28
2.10.2	Metode Dilusi.....	29
2.10.2.1	Metode Dilusi Cair	29
2.10.2.2	Metode Dilusi Padat	29
BAB III METODE PENELITIAN		30
3.1	Bahan.....	30
3.2	Alat	30
3.3	Populasi Penelitian	31

3.4	Sampel Penelitian	31
3.5	Variabel Penelitian	31
3.5.1	Variabel Bebas	31
3.5.2	Variabel Kontrol.....	31
3.5.3	Variabel Terikat	32
3.6	Metode Penelitian.....	32
3.6.1	Determinasi Tanaman.....	32
3.6.2	Pembuatan Simplisia	32
3.6.3	Uji Susut Pengeringan	32
3.6.4	Uji Kadar Air Simplisia Serbuk	33
3.6.5	Pembuatan Ekstrak.....	33
3.6.6	Uji Kadar Etanol Ekstrak.....	33
3.6.7	Skrining Fitokimia.....	33
3.6.7.1	Flavonoid	33
3.6.7.2	Steroid.....	33
3.6.7.3	Saponin.....	34
3.6.7.4	Tanin.....	34
3.6.8	Fraksinasi.....	34
3.6.9	Sterilisasi Alat dan Bahan.....	34
3.6.10	Pembuatan Media	34
3.6.10.1	Pembuatan Media Nutrient Broth (NB)	34
3.6.10.2	Pembuatan Media Eosin Methylene Blue Agar.....	35
3.6.10.3	Pembuatan Media Nutrient Agar (NA)	35
3.6.11	Uji Identifikasi <i>Escherichia coli</i> dengan Media Diferensial EMBA.....	35
3.6.12	Pembuatan Larutan Uji	35
3.6.13	Pembuatan Suspensi Bakteri.....	35
3.6.14	Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Durian.....	35
3.6.15	Formulasi Gel.....	36
3.6.15.1	Formulasi Standart	36
3.6.15.2	Formulasi Gel Fraksi <i>Zibethinus folium</i>	36

3.6.16	Pembuatan Gel	36
3.6.17	Evaluasi Gel	37
3.6.17.1	Uji Organoleptis	37
3.6.17.2	Uji pH	37
3.6.17.3	Uji Homogenitas	37
3.6.17.4	Uji Daya Sebar	37
3.6.17.5	Uji Daya Lekat	38
3.6.17.6	Uji Daya Proteksi	38
3.6.17.7	Uji Stabilitas	38
3.6.18	Uji Aktivitas Antibakteri Gel	38
3.6.19	Analisa Hasil	38
3.7	Alur Penelitian	39
3.8	Kerangka Penelitian	41
3.9	Jadwal Penelitian	42
BAB IV HASIL PENELITIAN		43
4.1	Data Mentah Penelitian	43
4.1.1	Determinasi	43
4.1.2	Uji Kadar Air Simplisia Serbuk	43
4.1.3	Uji Susut Pengeringan	43
4.1.4	Rendemen	43
4.1.5	Uji Bebas Etanol Ekstrak	43
4.1.6	Skrining Fitokimia	44
4.1.7	Fraksinasi	46
4.1.8	Identifikasi <i>Escherichia coli</i>	46
4.1.9	Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi <i>Zibethinus folium</i> Dari Ekstrak Sokhlet Terhadap <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 ...	46
4.1.10	Evaluasi Gel	47
4.1.11	Uji Aktivitas Antibakteri Gel Fraksi Etil Asetat Terhadap <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	47
4.2	Data Olahan Penelitian	48

4.2.1 Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi <i>Zibethinus folium</i> Dari Ekstrak Sokhlet.....	48
4.2.2 Evaluasi Gel.....	49
4.2.3 Uji Aktivitas Antibakteri Gel Fraksi Etil Asetat 1%	49
BAB V PEMBAHASAN	51
5.1 Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Dari Ekstrak Sokhlet <i>Zibethinus folium</i> Terhadap <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.....	53
5.2 Evaluasi Gel.....	58
5.3 Uji Aktivitas Antibakteri Gel Fraksi Etil Asetat Dari Ekstrak Sokhlet <i>Zibethinus folium</i> Terhadap <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	60
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	63
6.1 Kesimpulan	63
6.2 Saran	63
DAFTAR PUSTAKA	64
LAMPIRAN	72

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
II.2 Kategori Respon Hambatan Pertumbuhan Bakteri.....	29
III.1 Formulasi Gel Standart	36
III.2 Formulasi Modifikasi Gel Fraksi <i>Zibethinus folium</i>	36
IV.1 Hasil Uji Kadar Air Simplisia Serbuk <i>Zibethinus folium</i>	43
IV.2 Hasil Uji Susut Pengeringan Simplisia <i>Zibethinus folium</i>	43
IV.3 Hasil Rendemen Ekstrak Sokhlet <i>Zibethinus folium</i>	43
IV.4 Hasil Uji Bebas Etanol Ekstrak Sokhlet <i>Zibethinus folium</i>	43
IV.5 Skrining Fitokimia Ekstrak Sokhlet <i>Zibethinus folium</i>	44
IV.6 Rendemen Fraksi Dari Ekstrak Sokhlet <i>Zibethinus folium</i>	46
IV.7 Hasil Identifikasi <i>Escherichia coli</i>	46
IV.8 Diameter Rata-Rata Zona Hambat Pertumbuhan <i>Escherichia coli</i>	46
IV.9 Hasil Evaluasi Sediaan Gel Fraksi Etil Asetat 1%	47
IV.10 Diameter Rata-Rata Zona Hambat Gel Fraksi Etil Asetat 1% Dari Ekstrak Sokhlet Terhadap <i>Escherichia coli</i>	47
IV.11 Diameter Rata-Rata Zona Hambat Pertumbuhan <i>Escherichia coli</i>	48
IV.12 Analisa Data Diameter Rata-Rata Zona Hambat Pertumbuhan <i>Escherichia coli</i>	49
IV.13 Hasil Uji Statistik <i>Post-Hoc</i> Fraksi <i>Zibethinus folium</i>	49
IV.14 Hasil Uji <i>Two Sample T-Test</i> Fraksi <i>Zibethinus folium</i>	49
IV.15 Hasil Evaluasi Sediaan Gel Fraksi Etil Asetat 1% Dari Ekstrak Sokhlet	49
IV.16 Diameter Rata-Rata Zona Hambat Gel Fraksi Etil Asetat Dari Ekstrak Sokhlet terhadap <i>Escherichia coli</i>	49
IV.17 Analisa Data Diameter Rata-Rata Zona Hambat Gel Fraksi Etil Asetat Terhadap <i>Escherichia coli</i>	50
IV.18 Hasil Uji Statistik <i>Post-Hoc</i> Gel Fraksi Etil Asetat 1%	50

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Daun Durian	8
2.2 <i>Escherichia coli</i>	24
3.1 Kerangka Penelitian	41
4.1 Skrining Fitokimia Ekstrak Sokhlet <i>Zibethinus Folium</i>	44
4.2 Reaksi Flavonoid dengan Logam Mg dan Hcl	45
4.3 Reaksi Hidrolisis Saponin	45
4.4 Reaksi Tanin dengan FeCl ₃	45
4.5 Reaksi Steroid.....	45
4.6 Identifikasi <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 Pada Media EMBA.....	46
4.7 Diameter Zona Hambat Fraksi Etil Asetat 30%	47
4.8 Diameter Zona Hambat Gel Fraksi Etil Asetat 1%.....	48
4.9 Grafik Diameter Rata-Rata Zona Hambat Fraksi <i>Zibethinus folium</i>	48
4.10 Grafik Diameter Rata-Rata Zona Hambat Gel Fraksi Etil Asetat 1%	50

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Determinasi Tanaman	72
2. Surat Pernyataan Pembelian Bakteri.....	73
3. Dokumentasi Pembuatan Simplisia <i>Zibethinus folium</i>	74
4. Dokumentasi Pembuatan Ekstrak	76
5. Skrining Fitokimia	78
6. Fraksinasi.....	79
7. Perlakuan Sampel.....	80
8. Gambar Uji Antibakteri.....	82
9. Kerangka Penelitian	84
10. Skema Kerja	85
11. Pembuatan Reagen dan Perhitungan.....	95
12. Hasil Orientasi	99
13. Hasil Evaluasi Gel.....	100
14. Data Olahan SPSS.....	102

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia mempunyai keanekaragaman hayati dan keanekaragaman budaya yang amat besar, dikarenakan Indonesia merupakan negara kepulauan yang terdiri dari suku bangsa yang beragam (Maradona, 2013). Keanekaragaman hayati yang melimpah membuat negara Indonesia dikenal sebagai salah satu dari tujuh negara *megabiodiversity* kedua setelah Brazil. Distribusi tumbuhan tingkat tinggi yang terdapat di hutan tropis Indonesia lebih dari 12% atau 30.000 dari yang terdapat di muka bumi yaitu 250.000 (Muhamad, 2014). Jenis tumbuhan obat yang tersebar di Indonesia lebih dari 20.000, sekitar 1.000 jenis telah terdata namun baru sekitar 300 jenis tanaman yang sudah dimanfaatkan untuk pengobatan tradisional (Rahmadani, 2015).

Obat tradisional merupakan bahan ataupun ramuan bahan yang berupa bahan tumbuhan, bahan hewan, bahan mineral, sediaan sarian atau campuran dari bahan tersebut yang secara turun-temurun sudah dimanfaatkan sebagai pengobatan, dan dapat diterapkan sesuai dengan norma yang berlaku di masyarakat (BPOM, 2014). Obat tradisional banyak digunakan oleh sebagian besar masyarakat dengan tujuan pengobatan dan pemeliharaan kesehatan yang bebas dari efek samping. Pengobatan tradisional telah digunakan oleh 80% populasi dunia, terutama obat-obatan berbasis tanaman untuk perawatan kesehatan primer (Sivananthan & Elamaran, 2013). Indonesia merupakan salah satu negara pengguna tumbuhan obat terbesar di dunia bersama negara lain di Asia, seperti Cina dan India (Widjaja *et al.*, 2014). Tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional adalah durian.

Daun durian merupakan bagian dari tumbuhan durian yang berwarna hijau mengilap pada bagian atas dan berwarna kuning keemasan pada bagian bawah (Wiryanta, 2008). Rebusan daun durian di negara Malaya digunakan untuk mengobati bengkak dan penyakit kulit (Sivananthan & Elamaran, 2013).

Ekstrak daun durian di Malaysia digunakan sebagai obat demam dan *influenza* dengan cara mencampurkan ke dalam air mandi (Mohammad *et al.*, 2012). Penelitian Kandoli *et al.*, (2016) menyatakan bahwa daun durian mengandung saponin dan flavonoid yang berfungsi sebagai antifungi dengan cara mengerutkan dinding sel jamur. Hasil penapisan fitokimia daun durian positif mengandung senyawa tanin, saponin dan steroid yang berfungsi sebagai antibakteri (Maradona, 2013). Kandungan flavonoid dari ekstrak etanol daun durian berfungsi sebagai antimikroba termasuk *Escherichia coli* (Chigurupati *et al.*, 2017).

Escherichia coli adalah bakteri gram negatif yang hidup sebagai flora normal dalam sistem pencernaan manusia, namun dapat bersifat patogen sehingga menyebabkan infeksi (Giske *et al.*, 2012). *Escherichia coli* menyebabkan sekitar 85% infeksi saluran kemih dan sekitar 50% penyebab infeksi nosokomial di masyarakat (Shelly, 2014). *Escherichia coli* juga menyebabkan infeksi primer pada usus seperti diare pada anak, pneumonia, abses, dan meningitis pada bayi baru lahir (Maradona, 2013). Infeksi bakteri *Escherichia coli* pada manusia bersifat verotoksigenik atau mampu menghasilkan toksin telah menyebabkan 16.000 kasus penyakit melalui makanan dan 900 orang meninggal per tahun di Amerika Serikat (Bakri, 2015). Penyebaran *Escherichia coli* mudah terjadi melalui tangan yang menyentuh makanan atau air yang telah terkontaminasi. Tingkat kontaminasi *Escherichia coli* pada makanan sekitar 65,5% (Shelly, 2014).

Obat andalan yang digunakan untuk mengatasi penyakit infeksi adalah antibiotik yang merupakan obat paling banyak digunakan pada infeksi yang disebabkan oleh bakteri, namun sekitar 40-62% antibiotik digunakan secara tidak tepat (Menkes RI, 2011). Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah klindamisin. Klindamisin adalah analog kloro semi sintetik linkomisin yang berasal dari spesies *Streptomyces*. Klindamisin bekerja dengan menghambat sintesis protein pada ribosom dan bersifat bakteriostatik (Lüllmann *et al.*, 2000). Klindamisin mempunyai fungsi yang sama dengan senyawa aktif dalam daun durian yaitu dapat menghambat pertumbuhan dan pembentukan toksin dari bakteri *Escherichia coli* (Murakami *et al.*, 2000). Senyawa aktif dalam daun durian dapat diperoleh dengan cara ekstraksi.

Ekstraksi adalah suatu metode untuk menarik satu atau lebih suatu zat dari bahan asal (Syamsuni, 2007). Metode sokhletasi merupakan salah satu metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi berkesinambungan dengan jumlah pelarut yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Depkes RI, 2000). Kelebihan metode sokhletasi yaitu dapat memperoleh hasil ekstrak yang banyak, jumlah pelarut yang digunakan lebih sedikit, waktu ekstraksi lebih cepat dan sampel dapat diekstraksi secara sempurna karena dilakukan berulang-ulang (Heinrich, 2004). Ekstrak yang dihasilkan merupakan campuran dari golongan senyawa aktif sehingga harus dilakukan fraksinasi. Fraksinasi adalah metode pemisahan golongan utama kandungan dari golongan lainnya dalam bentuk fraksi yang berbeda. Prinsip fraksinasi adalah pemisahan berdasarkan perbedaan kepolaran senyawa. Keuntungan fraksinasi yaitu dapat digunakan untuk memudahkan telaah profil fitokimia lengkap dari suatu tumbuhan (Harborne, 2006). Fraksi yang diperoleh dilakukan pengujian antibakteri secara *in vitro* menggunakan metode difusi.

Metode difusi merupakan cara untuk menentukan aktivitas agen antibakteri. Mikroorganisme akan berdifusi pada media agar, area jernih menunjukkan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antibakteri pada permukaan agar (Pratiwi, 2008). Digunakan metode difusi karena mempunyai banyak keuntungan dibandingkan metode lain, diantaranya sederhana, murah, mampu menguji mikroorganisme dalam jumlah besar dan antibakteri yang tertinggal serta mudah dalam interpretasi hasil (Balouiri *et al.*, 2016). Pelepasan zat aktif dari fraksi daun durian sebagai antibakteri dapat segera tercapai jika diformulasikan dalam bentuk topikal, salah satunya adalah sediaan gel (Aparna *et al.*, 2016).

Gel merupakan sistem semi padat yang terdiri dari partikel anorganik yang kecil atau molekul organik besar dan terpenetrasi oleh suatu cairan (Shayne, 2008). Alasan dipilih formulasi sediaan gel karena mempunyai banyak kelebihan diantaranya tidak lengket, mudah menyebar, mudah menyerap, tidak berwarna, kompatibel dengan beberapa eksipien dan larut dalam air sehingga mudah dicuci.

Pelepasan zat aktif dalam sediaan gel lebih cepat daripada sediaan krim dan salep, dan memiliki risiko radang atau reaksi merugikan yang rendah (Helal *et al.*, 2012). Kelebihan lain dari sediaan gel adalah tidak terjadi penghambatan fungsi kulit dan bersifat lembut (Afrilyanti, 2015). Gel fraksi *Zibethinus folium* diformulasi agar dapat digunakan untuk menghindari penyebaran bakteri *Escherichia coli* melalui tangan.

Berdasarkan uraian di atas, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antibakteri fraksi dari ekstrak daun durian yang akan diekstraksi dengan metode sokhlet terhadap bakteri *Escherichia coli* yang merupakan salah satu bakteri penyebab infeksi dengan metode difusi cakram secara *in vitro*. Sediaan gel fraksi daun durian akan dilakukan pengujian aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* secara *in vitro*.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimanakah aktivitas antibakteri fraksi dari ekstrak *Zibethinus folium* terhadap *Escherichia coli* secara *in vitro*?
2. Manakah fraksi terbaik dari ekstrak sokhlet *Zibethinus folium* sebagai antibakteri *Escherichia coli* secara *in vitro*?
3. Bagaimana stabilitas dan aktivitas antibakteri gel fraksi terbaik dari ekstrak *Zibethinus folium* terhadap *Escherichia coli* secara *in vitro*?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui aktivitas antibakteri fraksi *Zibethinus folium* terhadap *Escherichia coli* secara *in vitro*.
2. Mengetahui fraksi terbaik dari ekstrak sokhlet *Zibethinus folium* sebagai antibakteri *Escherichia coli* secara *in vitro*.
3. Mengetahui stabilitas dan aktivitas antibakteri gel dari fraksi terbaik terhadap *Escherichia coli* secara *in vitro*.

1.4 Hipotesis

1. Fraksi *Zibethinus folium* mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* yang ditandai dengan adanya zona hambat secara *in vitro*.
2. Fraksi *aqua destillata* dari ekstrak sakhlet *Zibethinus folium* paling efektif sebagai antibakteri terhadap *Escherichia coli* secara *in vitro*.
3. Gel fraksi terbaik dari ekstrak *Zibethinus folium* stabil selama penyimpanan dan mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* secara *in vitro*.

1.5 Manfaat Penelitian

1. Bagi Masyarakat

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi salah satu sumber informasi ilmiah mengenai aktivitas antibakteri gel dari fraksi daun durian terhadap bakteri *Escherichia coli*.

2. Bagi Peneliti

Penelitian ini diharapkan dapat menambah wawasan ilmu pengetahuan tentang gel dari fraksi daun durian yang dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri.

3. Bagi Instansi

Memberikan informasi ilmiah dalam menemukan obat antibakteri baru dari sumber daya alam yang ada dan menjadi dasar penelitian lebih lanjut untuk mencari senyawa aktif antibakteri yang terkandung dalam daun durian.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Obat Tradisional

Obat tradisional adalah bahan ataupun ramuan bahan yang berupa bahan tumbuhan, bahan hewan, bahan mineral, sediaan sarian (galenik) atau campuran dari bahan tersebut yang secara turun-temurun sudah dimanfaatkan sebagai pengobatan, dan dapat diterapkan sesuai dengan norma yang berlaku di masyarakat (BPOM, 2014).

Menurut WHO (2004), keunggulan obat tradisional adalah tersedia dalam jumlah banyak dan terjangkau secara luas diseluruh dunia, sangat beraneka ragam dan fleksibel, biaya pengobatan relatif rendah, penyebaran dan penerimaannya yang meluas di negara-negara berpenghasilan rendah dan menengah serta tingkat *input* teknologi yang relatif rendah (Zhang, 2004).

Kerugian dari obat tradisional adalah terdapat berbagai masalah yang dilaporkan kepada WHO mencakup penjualan spesies tanaman yang salah dan terkontaminasi, pemalsuan obat, dan penyalahgunaan oleh praktisi yang tidak memenuhi syarat serta memerlukan penelitian lebih lanjut untuk memperbaiki landasan bukti mengenai kemampuan obat tradisional (Zhang, 2004).

2.2 Durian

Durian merupakan tanaman buah tropis yang eksotis yang mempunyai rasa dan aroma yang unik. Buah durian disebut sebagai *king of tropical fruit* karena sangat bergizi dan ketenarannya menyerupai tahta raja-raja Asia. Indonesia merupakan pusat keanekaragaman durian di dunia (Lestari *et al.*, 2011). Penyebaran tanaman durian di Indonesia meliputi pulau Jawa, Sumatera, Kalimantan, dan sebagian pulau Papua. Pengembangan durian secara intensif pertama kali dilakukan oleh Thailand dan Malaysia yang kemudian teknologinya diserap oleh negara-negara Asia lainnya termasuk Indonesia (Wiryanta, 2008).

2.2.1 Klasifikasi

Klasifikasi tanaman durian adalah sebagai berikut (Sah *et al.*, 2014):

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Malvales
Famili	: Bombacaceae
Genus	: Durio
Spesies	: <i>zibethinus</i>

2.2.2 Morfologi

Durian tumbuh dengan baik dalam kondisi lembab atau 75-80% kelembaban dengan curah hujan antara 1.600 dan 4.000 ml per tahun, dan suhu rata-rata antara 24 dan 30°C. Durian memilih tumbuh di tanah liat dengan pH antara 5,0 dan 6,5 yang menunjukkan bahwa durian membutuhkan iklim tropis dan tidak akan tumbuh dengan baik di daerah dengan ketinggian lebih dari 3.000 kaki (Manoharan, 2013).

Tanaman durian dapat berumur sampai kurang lebih 200 tahun. Tingginya mencapai 50 meter. Tanaman durian terdiri dari bagian kayu, daun, bunga, buah dan akar. Bagian kayu terdiri atas batang dan cabang tanaman. Pertumbuhan cabang secara mendatar dan membentuk sudut yang bervariasi. Percabangannya banyak dan membentuk tajuk mirip kerucut atau segitiga (Wiryanta, 2008).

Bunga durian bergerombol, berkelamin sempurna dan bermahkota lima helai yang terlepas satu sama lain serta memiliki 3-12 helai benang sari berwarna putih atau kuning. Kuncup bunga berbentuk bulat panjang dengan ukuran sekitar 2 cm. Waktu yang dibutuhkan sejak bunga muncul sampai mekar adalah selama 6 minggu. Kelopak bunga berbentuk tabung sepanjang kurang lebih 3 cm, daun kelopak tambahan terpecah menjadi 3-4 cuping (Wiryanta, 2008).

Daun durian berbentuk bulat memanjang atau oblongus dengan bagian ujung meruncing. Letaknya berselang-seling dan pertumbuhannya secara tunggal. Struktur daun agak tebal, memiliki permukaan atas berwarna hijau mengilap dan bagian bawah berwarna cokelat atau kuning keemasan (Wiryanta, 2008).



Gambar 1.1 Daun Durian (Miswarti *et al.*, 2017)

Buah durian berbentuk bulat panjang sampai tidak beraturan. Tangkai buah berbentuk bulat panjang dan terletak di pangkal buah, panjangnya sampai 15 cm. Buah yang sudah matang biasanya berbau harum yang khas. Buah ini terdiri dari kulit berduri, daging dan biji (Wiryanta, 2008). Buah durian membusuk dalam waktu 36 jam sampai 72 jam dari pemetikan. Kulitnya tebal dan ditutupi bentuk piramida yang runcing (Manoharan, 2013). Akar tanaman durian merupakan akar tunggang (Wiryanta, 2008).

Biji durian terbungkus oleh arilus atau salut biji, yang biasa disebut sebagai daging buah durian berwarna putih hingga kuning terang dengan ketebalan yang bervariasi, namun pada kultivar tunggal ketebalan arilus ini dapat mencapai 3 cm (Pangkalan Ide, 2011).

2.2.3 Kandungan

Metabolit primer yang terkandung dalam 100 gram buah durian adalah kalori 153,0, air 64,1 g, protein 2,6 g, lemak 3,4 g, karbohidrat 27,9 g, mineral 103,9 g, beta-karoten 14 mg, vitamin B1 0,1 mg, vitamin B2 0,13 mg, dan vitamin C 23,2 mg (Sah *et al.*, 2014). Metabolit sekunder yang terkandung dalam kulit batang durian yaitu senyawa triterpenoid, fenol, fraksidin, *eucryphin*, dan *methyl protocatechuate* (Manoharan, 2013). Daun durian mengandung tanin, saponin dan steroid (Maradona, 2013). Berdasarkan penelitian (Insanu *et al.*, 2011) daun durian mengandung flavonoid.

2.2.3.1 Flavonoid

Flavonoid adalah golongan terbesar dari senyawa fenol. Hampir 2% dari fotosintesis karbon diubah menjadi flavonoid. Keberadaan flavonoid dalam daun kemungkinan dipengaruhi oleh fotosintesis sehingga daun muda belum terlalu banyak mengandung flavonoid (Murtiwi, 2014). Flavonoid adalah senyawa yang bersifat non polar, namun senyawa flavonoid memiliki gugus gula yang menyebabkan mudah larut dalam pelarut yang bersifat polar ataupun semipolar (Firdiyani *et al.*, 2015). Flavonoid merupakan senyawa polar karena mempunyai sejumlah gugus hidroksil sehingga akan larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, aseton, dimetilfulfoksida, dimetilformamida dan air (Murtiwi, 2014). Mekanisme antibakteri flavonoid yaitu dengan membentuk ikatan kompleks dengan dinding sel bakteri dan mengikat adhesin (Tiwari *et al.*, 2011).

2.2.3.2 Saponin

Saponin adalah salah satu golongan terpenoid yang merupakan glikosida triterpen dan sterol yang terdapat dalam banyak tumbuhan. Saponin merupakan senyawa aktif permukaan yang bersifat seperti sabun, dapat dideteksi berdasarkan kemampuannya membentuk busa dan menghemolisis sel darah (Murtiwi, 2014). Saponin merupakan senyawa yang bersifat polar (Firdiyani *et al.*, 2015). Saponin berasa pahit dan tajam. Saponin mempunyai aktivitas antibakteri dengan cara mengubah permeabilitas dinding sel bakteri dan menyebarkan toksisitas pada seluruh jaringan bakteri sehingga terjadi perubahan morfologi sel yang menyebabkan sel mengalami lisis (Godstime *et al.*, 2014).

2.2.3.3 Tanin

Tanin adalah senyawa yang terdapat dalam tumbuhan berpembuluh dan dalam jaringan kayu. Tanin dapat bereaksi dengan protein membentuk kopolimer mantap yang tidak larut dalam air. Secara kimia terdapat dua jenis tanin yaitu tanin terkondensasi dan terhidrolisis. Tanin terkondensasi terdapat pada tanaman paku-pakuan dan tersebar luas dalam angiospermae sedangkan tanin terhidrolisis penyebarannya terdapat pada tumbuhan berkeping dua (Harborne, 2006). Tanin mempunyai aktivitas sebagai antidiare, antelmintik dan antibakteri. Mekanisme antibakteri senyawa tanin yaitu dengan cara mengikat adhesin, menghambat enzim,

mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel, membentuk ikatan kompleks dengan dinding sel dan ion logam yang menyebabkan toksisitas terhadap bakteri (Tiwari *et al.*, 2011).

2.2.3.4 Steroid

Steroid adalah golongan triterpen yang mempunyai kerangka dasar cincin siklopentana perhidrofenantrena. Sterol umumnya terdapat dalam bentuk bebas dan sebagai glikosida sederhana (Harborne, 2006). Senyawa steroid bersifat non polar (Firdiyani *et al.*, 2015). Steroid telah dilaporkan memiliki sifat antibakteri, korelasi antara membran lipid dan sensitivitas senyawa steroid menunjukkan mekanisme dimana steroid menyebabkan kebocoran liposom dan protein dari dalam sel (Shihabudeen *et al.*, 2010).

2.2.4 Khasiat

Rebusan daun dan akar daun durian dipercaya oleh praktisi tradisional Malaysia memiliki efek antipiretik dan oleh masyarakat Malaysia digunakan untuk obat penurun panas, mengencerkan dahak dan meredakan pilek. Daun durian dapat digunakan untuk mengobati penyakit kuning dengan cara digunakan untuk mandi. Sementara itu, ramuan dari buah dan daun durian dapat digunakan untuk penyakit kulit dan bengkak pada kulit. Penggunaan secara eksternal kulit buah durian bermanfaat untuk mengatasi masalah kulit. Daging buah durian dilaporkan bermanfaat sebagai antidiabetes, antihiperlipidemia, antiproliferatif dan mempunyai aktivitas antimikroba. Ekstrak metanol biji dan kulit buah durian dapat menghambat bakteri *Escherichia coli* (Ho & Bhat, 2014).

Berdasarkan penelitian (Haruenkit *et al.*, 2010), buah durian dilaporkan dapat menurunkan *syndrom* metabolik seperti, hiperlipidemia, hiperglikemia, penyakit jantung dan peradangan karena stres oksidatif. Berdasarkan penelitian Pongsamart *et al.*, (2006), isolasi gel polisakarida dari kulit buah durian mempunyai aktivitas antibakteri dan efek imunomodulator. Kadar 0,32% gel polisakarida mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Micrococcus luteus*.

Ekstrak daun durian memiliki aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans* dengan zona hambat rata-rata sebesar 3,55 mm (Kandoli *et al.*, 2016) dan memiliki aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* dengan zona hambat 11 mm dalam 100 ppm (Maradona, 2013) serta memiliki aktivitas antibakteri *Escherichia coli* pada konsentrasi 0,25 mg/ml dengan zona hambat 12 mm (Chigurupati *et al.*, 2017).

2.3 Simplisia

Simplisia adalah suatu bahan yang berasal dari alam yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami proses pengolahan apapun dan kecuali dinyatakan lain, berupa bahan yang sudah dikeringkan (Depkes RI, 2000).

Simplisia dibedakan menjadi simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia mineral. Simplisia nabati merupakan simplisia berupa tumbuhan utuh, bagian tumbuhan atau eksudat tumbuhan. Eksudat tumbuhan merupakan isi sel yang secara spontan keluar dari tumbuhan atau isi sel yang dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya, atau senyawa nabati lainnya yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tumbuhannya dan belum berupa senyawa kimia murni (Depkes RI, 2000). Simplisia hewani adalah simplisia yang berasal dari hewan. Sedangkan simplisia mineral ialah simplisia yang berasal dari mineral yang belum diolah (Prasetyo & Inorih, 2013).

Simplisia daun adalah irisan daun yang telah dikeringkan dan digunakan sebagai bahan baku obat tradisional. Simplisia dibuat dengan tujuan untuk memperpanjang usia simplisia dan memberikan nilai tambah pada produk (Inartiyah *et al.*, 2011). Serbuk adalah hasil olahan lanjutan dari simplisia yang bertujuan untuk mempermudah dalam proses distribusi dan pengolahan selanjutnya seperti penyulingan dan ekstraksi (Inartiyah *et al.*, 2011).

2.3.1 Syarat Simplisia

Syarat simplisia yaitu tidak boleh mengandung organisme yang bersifat patogen dan harus bebas dari cemaran mikroorganisme, serangga dan binatang lain atau kotoran hewan. Simplisia tidak diperbolehkan menyimpang dari bau dan warna bahan awal, tidak boleh mengandung lendir, atau menunjukkan kerusakan.

Simplisia nabati harus dibebaskan dari pasir, debu atau pengotor yang berasal dari tanah maupun zat organik asing sebelum dilakukan penyerbukan (Hanny, 2014).

2.3.2 Penyiapan Simplisia

Tahapan penyiapan simplisia sangat penting untuk menjamin kualitas simplisia, diantaranya adalah pengumpulan bahan baku, sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan, sortasi kering, penggilingan dan penyimpanan (Depkes RI, 2000).

2.3.2.1 Pengumpulan Bahan Baku

Pengumpulan bahan baku berpengaruh terhadap kualitas bahan baku. Faktor yang paling berperan adalah masa panen (Hanny, 2014). Bahan baku yang digunakan untuk pembuatan simplisia daun adalah daun yang masih segar, tidak busuk dan tidak cacat. Pemanenan dilakukan dengan cara dipetik atau digunting (Inartiyah *et al.*, 2011).

2.3.2.2 Sortasi Basah

Sortasi basah ialah pemilahan hasil panen saat tanaman masih segar (Hanny, 2014). Sortasi basah dilakukan dengan tujuan memisahkan kotoran-kotoran atau bahan asing lainnya misalnya tanah, kerikil, rumput, dan batang atau bagian lain dari tanaman yang tidak digunakan serta bagian tanaman yang rusak. Tanah mengandung mikroba dengan jumlah yang tinggi (Prasetyo & Inorah, 2013).

2.3.2.3 Pencucian

Pencucian dilakukan dengan tujuan untuk menghilangkan tanah dan kotoran lain yang melekat pada bahan simplisia dan sisa pestisida yang melekat. Air yang digunakan untuk pencucian harus bersih misalnya dari mata air, air sumur atau air PAM (Perusahaan Air Minum), jika air yang digunakan kotor maka dapat berpengaruh terhadap keberadaan mikroba pada permukaan simplisia. Air dapat mempercepat pertumbuhan mikroba (Prasetyo & Inorah, 2013).

Simplisia yang mengandung zat mudah larut harus dicuci dalam waktu singkat. Pencucian satu kali dapat menghilangkan 25% dari jumlah mikroba awal sedangkan pencucian menggunakan air yang mengalir sebanyak tiga kali, jumlah mikroba yang tertinggal hanya 42% dari jumlah mikroba awal (Prasetyo &

Inorih, 2013). Pencucian dilakukan sampai air bekas cucian jernih (Inartiyah *et al.*, 2011).

2.3.2.4 Perajangan

Simplisia dengan jenis tertentu perlu mengalami perajangan. Perajangan simplisia dilakukan dengan tujuan untuk mempermudah proses pengeringan, pengepakan dan penggilingan. Perajangan dapat dilakukan dengan menggunakan pisau atau mesin perajang khusus untuk memperoleh ukuran yang dikehendaki. Perajangan simplisia yang tipis dapat mempercepat penguapan air sehingga dapat mempercepat pengeringan, namun apabila terlalu tipis dapat menyebabkan kerusakan dan berkurangnya zat berkhasiat yang mudah menguap sehingga mempengaruhi komposisi, bau dan rasa yang diinginkan (Prasetyo & Inorih, 2013).

2.3.2.5 Pengeringan

Pengeringan dilakukan untuk memperoleh simplisia yang tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama. Berkurangnya kadar air dapat menghentikan reaksi enzimatik yang dapat menurunkan mutu dan merusak simplisia. Air yang masih tersisa dalam simplisia pada takaran tertentu dapat menjadi media pertumbuhan kapang dan jasad renik lainnya. Reaksi enzimatik tidak terjadi dalam simplisia bila kadar airnya kurang dari 10% (Prasetyo & Inorih, 2013).

Pengeringan simplisia dapat dilakukan dengan menggunakan sinar matahari atau menggunakan suatu alat pengering misalnya oven dengan suhu 40-50°C (Prasetyo & Inorih, 2013). Pengeringan dengan sinar matahari langsung dan oven suhu 50°C membutuhkan waktu 8 jam, sedangkan yang diangin-anginkan membutuhkan waktu hingga 4 hari (Inartiyah *et al.*, 2011). Pengeringan menggunakan suhu ideal yaitu maksimal 50°C dengan ketebalan tumpukan 3-4 cm. Hasil pengeringan yang baik adalah simplisia daun yang mengandung kadar air maksimal 5% dan ketika diremas akan hancur yang berarti daun sudah kering optimal (Inartiyah *et al.*, 2011).

Faktor yang mempengaruhi proses pengeringan ialah suhu pengeringan, kelembaban udara, aliran udara, waktu pengeringan dan luas permukaan bahan.

Selama proses pengeringan faktor tersebut harus diperhatikan sehingga diperoleh simplisia kering yang tidak mudah mengalami kerusakan selama penyimpanan (Prasetyo & Inorih, 2013).

2.3.2.6 Sortasi Kering

Sortasi kering adalah proses memilah bahan setelah mengalami pengeringan. Pemilahan dilakukan terhadap bahan-bahan yang terlalu gosong dan bahan yang rusak (Hanny, 2014). Simplisia daun yang baik memiliki kandungan benda asing tidak lebih dari 2%, warna dan aroma tidak berbeda jauh dari aslinya, tidak mengandung bahan beracun dan berbahaya serta tidak tercemar oleh jamur (Inartiyah *et al.*, 2011).

2.3.2.7 Penggilingan

Penggilingan dilakukan untuk mendapatkan produk dalam bentuk serbuk dengan derajat kehalusan tertentu dengan menggunakan mesin yang terbuat dari *stainless stell*. Kehalusan partikel serbuk disesuaikan dengan kebutuhan. Derajat kehalusan serbuk 30-40 mesh digunakan untuk pembuatan produk teh, 40-60 mesh digunakan untuk ekstraksi dan 80-100 mesh untuk pembuatan kapsul (Inartiyah *et al.*, 2011).

2.3.2.8 Penyimpanan

Simplisia disimpan dalam wadah tersendiri yang memenuhi persyaratan. Persyaratan wadah simplisia ialah harus tidak mudah bereaksi dengan bahan lain, tidak beracun, mampu melindungi bahan simplisia dari cemaran mikroba, kotoran, serangga, dan mampu melindungi simplisia dari penguapan kandungan zat aktif, pengaruh dari cahaya, oksigen dan uap air (Hanny, 2014). Tempat penyimpanan harus bersih pada suhu tidak lebih dari 30°C dan terpisah dari bahan lain yang dapat menyebabkan produk simplisia terkontaminasi serta harus bebas dari hama kutu, rayap atau tikus (Inartiyah *et al.*, 2011). Faktor-faktor yang berpengaruh terhadap penyimpanan adalah cahaya, oksigen atau sirkulasi udara, reaksi kimia yang mungkin terjadi antara wadah dengan kandungan zat aktif, pengotoran atau pencemaran, baik yang diakibatkan oleh serangan, kapang, atau pengotor lain.

2.4 Ekstraksi

Ekstraksi adalah kegiatan yang bertujuan untuk mendapatkan dan memisahkan sebanyak-banyaknya zat berkhasiat pengobatan (*concentrata*) dari zat-zat yang tidak bermanfaat agar lebih mudah dipergunakan dan disimpan serta dengan tujuan agar pengobatan lebih terjamin (Syamsuni, 2007).

Ekstraksi merupakan istilah yang digunakan secara farmasi dalam pemisahan bagian tanaman obat dan hewan secara medis menggunakan pelarut selektif melalui prosedur standar. Prinsip ekstraksi adalah memisahkan metabolit tumbuhan yang larut dan meninggalkan sel yang tidak larut. Produk yang diperoleh dari tanaman adalah campuran metabolit yang relatif kompleks, dalam keadaan cair atau semipadat atau setelah menguapkan pelarut atau dalam bentuk bubuk kering, dan dimaksudkan untuk penggunaan oral atau eksternal (Handa *et al.*, 2008).

2.4.1 Metode Ekstraksi

2.4.1.1 Sokhletasi

Sokhletasi adalah prosedur klasik untuk memperoleh kandungan senyawa organik dari jaringan tumbuhan kering (biji, akar, daun) dengan ekstraksi sinambung menggunakan pelarut yang sesuai (Harborne, 2006). Perbandingan bahan dan pelarut pada metode sokhletasi adalah 1:10 (Malinda *et al.*, 2013).

Keuntungan metode sokhletasi adalah uap panas tidak melalui serbuk simplisia tapi melalui pipa samping sehingga banyak bagian pelarut hangat yang melewati sampel (Tiwari *et al.*, 2011). Sampel selalu bersentuhan dengan pelarut segar sehingga meningkatkan perpindahan senyawa target dari matriks, bagian yang tidak larut dalam padatan yang diekstraksi tidak bercampur dengan hasil ekstraksi sehingga tidak diperlukan penyaringan ekstrak, mudah dilakukan dan biayanya murah serta dapat mempertahankan suhu ekstraksi yang relatif tinggi yang berasal dari labu ekstraksi. Sistem sokhlet memiliki pasokan gas *inert* untuk menghindari oksidasi selama ekstraksi (Sukri, 2012).

Kerugian dari metode sokhlet adalah tidak dapat digunakan untuk senyawa yang bersifat termolabil, karena pemanasan yang lama dapat menyebabkan degradasi senyawa aktif yang terkandung dalam tumbuhan (Tiwari *et al.*, 2011).

Pemanasan harus dilakukan dengan pengontrolan suhu sebesar 50°C sampai 60°C agar zat aktif tidak rusak (Murtiwi, 2014).

2.4.1.2 Maserasi

Maserasi adalah metode ekstraksi yang dapat dilakukan dengan cara serbuk kasar atau halus dari tanaman disimpan dengan pelarut dalam wadah tertutup dalam jangka waktu tertentu pada suhu ruangan dengan menggunakan agitasi sesering mungkin sampai bahan terlarut. Metode ini sesuai untuk senyawa termolabil (Tiwari *et al.*, 2011). Jangka waktu maserasi paling sedikit selama tiga hari. Campuran kemudian disaring (Handa *et al.*, 2008). Keuntungan metode maserasi yaitu, prosedur dan peralatan yang digunakan sederhana dan senyawa aktif tidak terurai karena proses ekstraksi dilakukan tanpa pemanasan (Nurhasnawati *et al.*, 2017).

2.4.1.3 Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan menggunakan pelarut pada temperatur titik didihnya selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya kondensor. Umumnya dilakukan pengulangan proses residu pertama sampai 3-5 kali sehingga proses ekstraksi berjalan dengan sempurna (Depkes RI, 2000).

2.4.1.4 Digesti

Digesti adalah metode ekstraksi seperti maserasi, namun digunakan pemanasan pada suhu 40-50°C. Hal ini digunakan bila suhu sedang tidak sesuai dan untuk meningkatkan efisiensi pelarut (Tiwari *et al.*, 2011). Metode ini dapat meningkatkan penetrasi pelarut dalam sel tanaman (Handa *et al.*, 2008).

2.4.1.5 Infus

Infus ialah sediaan sarian yang dibuat dengan cara menyari simplisia dengan pelarut air pada suhu 90°C selama 15 menit. Metode ini digunakan untuk menyari zat kandungan aktif yang larut dalam air (Murtiwi, 2014). Perbandingan air dengan simplisia adalah 1:10. Dalam waktu 12 jam infus harus dibuang (Handa *et al.*, 2008). Sarian yang dihasilkan tidak stabil dan mudah tercemar oleh kuman dan kapang serta tidak boleh disimpan lebih dari 24 jam (Murtiwi, 2014).

Metode ini digunakan untuk ekstraksi senyawa yang mudah larut dalam air dan stabil dalam pemanasan. Caranya yaitu dengan merebus bahan mentah dalam air selama 15 menit (Tiwari *et al.*, 2011). Pemanasan dilakukan pada suhu 96-98°C (Depkes RI, 2000). Perbandingan air dengan bahan adalah 1:4 untuk bahan yang lunak dan 1:6 untuk bahan yang keras atau kasar serta 1:8 untuk bahan sangat keras. Ekstrak yang dihasilkan kemudian didinginkan dan disaring dalam wadah yang bersih. Metode ini cocok untuk simplisia kulit kayu dan akar (Handa *et al.*, 2008).

2.4.1.6 Perkolasi

Perkolasi merupakan metode yang sering digunakan untuk mengekstrak bahan aktif dalam pembuatan tingtur dan ekstrak cairan. Alat yang digunakan disebut perkolator berbentuk kerucut. Bahan yang akan di ekstraksi dibasahi dengan cairan penyari yang sesuai dan dialirkan dari atas ke bawah sehingga cairan penyari akan melarutkan zat aktif hingga keadaan jenuh, kemudian didiamkan selama 24 jam (Tiwari *et al.*, 2011).

2.4.2 Pelarut

Pelarut adalah zat yang digunakan sebagai media untuk melarutkan zat lain. Keberhasilan determinasi senyawa aktif dari tanaman sangat bergantung pada jenis pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi. Sifat pelarut yang baik dalam ekstraksi meliputi, toksisitas rendah, mudah menguap, penyerapan yang cepat dari ekstrak, mempunyai efek pengawetan, tidak menyebabkan ekstrak menjadi kompleks atau terdisosiasi (Tiwari *et al.*, 2011).

2.4.2.1 Air

Air bersifat universal, digunakan untuk mengekstrak tanaman dengan aktivitas antimikroba (Tiwari *et al.*, 2011). Air dapat menarik banyak zat, namun banyak diantara zat tersebut yang merupakan media yang baik untuk pertumbuhan jamur dan bakteri (Syamsuni, 2007).

2.4.2.2 Etanol

Etanol adalah pelarut yang baik untuk alkaloid, glukosida, damar-damar, dan minyak atsiri, tetapi tidak untuk jenis gom, gula, dan albumin (Syamsuni, 2007). Etanol mudah menembus membran sel intraseluler untuk mengekstrak

senyawa aromatik dari tanaman. Etanol lebih efisien dalam dinding sel, degradasi biji dan menyebabkan senyawa terlepas dari sel.. Etanol 70% memiliki tingkat polaritas yang tinggi dibandingkan dengan etanol murni (Tiwari *et al.*, 2011).

2.4.2.3 Aseton

Aseton dapat melarutkan komponen hidrofilik dan lipofilik dari tanaman, mudah larut dalam air, mudah menguap dan memiliki toksisitas yang rendah. Aseton dapat mengekstraksi tanin dan senyawa fenol serta saponin yang mempunyai aktivitas antimikroba (Tiwari *et al.*, 2011).

2.4.2.4 Kloroform

Kloroform dapat digunakan untuk ekstraksi senyawa terpenoid lakton dari simplisia kulit, selain itu juga dapat digunakan untuk senyawa tanin (Tiwari *et al.*, 2011). Kloroform merupakan pelarut yang baik untuk alkaloid basa, damar, minyak lemak, dan minyak atsiri (Syamsuni, 2007).

2.4.2.5 Eter

Eter adalah pelarut yang digunakan secara selektif untuk ekstraksi senyawa kumarin dan asam lemak (Tiwari *et al.*, 2011).

Faktor-faktor yang mempengaruhi pemilihan pelarut adalah jumlah fitokimia yang akan di ekstraksi, laju ekstraksi, keragaman berbagai senyawa yang di ekstraksi, keragaman senyawa penghambat dalam ekstraksi, kemudahan penanganan ekstrak, toksisitas pelarut, potensi dan bahaya bagi kesehatan. Pemilihan pelarut dapat mempengaruhi hasil ekstraksi. Hal ini dikarenakan produk akhir akan mengandung sisa pelarut. Pelarut harus tidak beracun dan tidak boleh mengganggu senyawa. Pemilihan pelarut juga bergantung pada senyawa yang ditargetkan untuk diekstraksi (Tiwari *et al.*, 2011).

2.5 Fraksinasi

Fraksinasi adalah metode untuk memisahkan golongan utama kandungan senyawa yang satu dari golongan utama lainnya dalam bentuk fraksi yang berbeda (Harborne, 2006). Prinsip fraksinasi adalah menarik senyawa pada suatu ekstrak dengan menggunakan pelarut yang tidak saling bercampur. Jenis pelarut yang biasa digunakan untuk fraksinasi adalah n-heksan, etil asetat dan etanol. N-heksan

bersifat non polar yang dapat digunakan untuk menarik senyawa non-polar dan lemak, lilin dan minyak volatil (Relani, 2016). Pelarut non polar dapat merusak jaringan daun sehingga dapat terbuka dan senyawa metabolit sekunder pada daun dapat terekstrak (Harborne, 2006).

Etil asetat digunakan untuk menarik senyawa semi polar (Relani, 2016). Etil asetat secara selektif akan menarik senyawa yang bersifat semipolar seperti fenol dan terpenoid. Senyawa polar dapat ditarik oleh etanol. Ekstrak etanol memiliki aktivitas antibakteri lebih tinggi daripada ekstrak air dikarenakan jumlah polifenol yang lebih tinggi pada ekstrak etanol dibandingkan dengan ekstrak air (Tiwari. *et al.*, 2011). Proses fraksinasi dapat digunakan untuk menduga sifat kepolaran dari senyawa yang akan dipisahkan (Relani, 2016).

2.6 Gel

Gel adalah sediaan semipadat yang mengandung partikel anorganik kecil atau molekul organik besar yang saling terpenetrasi dalam cairan. Gel yang terbuat dari bahan anorganik biasanya merupakan sistem dua fase dimana partikel kecil tersebar di seluruh media dispersi. Bila ukuran partikel dari fase terdispersi lebih besar, maka partikel tersebut disebut magma. Gel yang terbuat dari molekul organik adalah sistem fase tunggal, dimana tidak ada batasan fisik yang nyata yang terlihat antara fase terdispersi dengan media dispersi. Media dispersi yang umum digunakan adalah air. Media dispersi hidroalkohol dan oleaginous juga digunakan dalam kasus lain. Pergerakan fase terdispersi pada sistem gel tidak sama dengan sistem suspensi dan emulsi yang dibatasi oleh gel karena makromolekul organik terlarut atau jaringan partikel tiga dimensi (Shayne, 2008).

Sediaan gel mempunyai berbagai macam keuntungan diantaranya, mempunyai daya sebar yang baik pada kulit, penguapan air pada kulit terjadi dalam waktu yang lambat sehingga menimbulkan efek dingin, tidak terjadi penghambatan fungsi normal kulit, mudah dicuci dengan air, tampak putih atau transparan dan bersifat lembut serta pelepasan obatnya baik. Sediaan gel juga bersifat tidak lengket dan mempunyai aliran tiksotropik dan pseudoplastik yaitu berbentuk padat dalam penyimpanan dan akan segera mencair apabila dikocok,

hanya membutuhkan sedikit bahan pembentuk gel untuk membentuk massa gel yang baik dan viskositas gel tidak mengalami perubahan yang berarti pada suhu penyimpanan (Afrilyanti, 2015).

Kerugian sediaan gel adalah mudah hilang saat kulit telah kering, zat aktif yang digunakan harus larut dalam air sehingga dibutuhkan penggunaan surfaktan untuk meningkatkan kelarutan agar gel tetap jernih pada berbagai perubahan temperatur, mudah hilang ketika berkeringat, dan kandungan surfaktan yang tinggi dapat menyebabkan iritasi serta harganya lebih mahal (Afrilyanti, 2015).

2.6.1 Monografi Bahan

2.6.1.1 Karbopol

Karbopol merupakan *gelling agent* berwarna putih, memiliki tekstur seperti bulu, bersifat asam, bubuk higroskopis dengan sedikit bau yang khas. Karbopol mempunyai keuntungan dapat menghasilkan gel viskositas yang tinggi dan mudah didispersikan oleh air pada konsentrasi kecil. Penggunaannya sebagai *gelling agent* sekitar 0,5-2,0% (Rowe *et al.*, 2009).

2.6.1.2 Propilen Glikol

Propilen glikol berupa cairan jernih, tidak berwarna, kenyal, tidak berbau, berasa manis sedikit tajam seperti gliserin. Propilen glikol pada sediaan gel dapat digunakan sebagai humektan pada kisaran konsentrasi 15% (Rowe *et al.*, 2009). Propilen glikol berfungsi mempertahankan kandungan *aqua destillata* dalam sediaan gel dan mempunyai keuntungan dapat digunakan sebagai pelarut, ekstrak, pengawet, humektan, agen penstabil, kosolven dan *plasticizer* serta dapat mendukung aktivitas antimikroba dan keratolitik (Yogesthinaga, 2016).

2.6.1.3 Etanol

Etanol adalah cairan bening, tidak berwarna, mudah menguap, berbau khas dan mudah terbakar. Etanol secara umum digunakan dalam formulasi sediaan farmasi dan kosmetik. Kegunaan utama etanol adalah sebagai pelarut, dapat digunakan sebagai desinfektan dan pengawet antimikroba dalam sediaan larutan. Alasan digunakan etanol karena dalam sediaan topikal berfungsi untuk pengembangan sistem penghantaran sebagai peningkat permeasi (Rowe *et al.*, 2009).

2.6.1.4 Ethylenediaminetetraacetate (EDTA)

EDTA adalah agen pengkelat dalam sediaan farmasi termasuk sediaan topikal pada konsentrasi antara 0,005-0,1%. EDTA membentuk kompleks yang mudah larut dalam air atau kelat dengan ion alkali tanah dan ion logam berat. Bentuk kelat memiliki sedikit sifat ion bebas yang berfungsi sebagai agen penyerap. EDTA berbentuk serbuk kristal, berwarna putih, tidak berbau dan sedikit berasa asam (Rowe *et al.*, 2009).

2.6.1.5 Metil Paraben

Metil paraben merupakan pengawet berbentuk padat, kristal tidak berwarna dan tidak berbau. Metil paraben berfungsi sebagai antimikroba. Aktivitas zat dapat diperbaiki dengan menggunakan kombinasi paraben yang memiliki efek sinergis. Kombinasi yang sering digunakan adalah dengan metil-, etil-, propil-, dan butil paraben. Kelarutan metil paraben terhadap pelarut etanol yakni 1:2, sedangkan terhadap air yakni 1:400, 1:50 pada suhu 50°C dan 1:30 pada suhu 80°C. Konsentrasi metil paraben sebagai antimikroba untuk sediaan topikal adalah 0,02-0,03% (Rowe *et al.*, 2009).

2.6.1.6 Propil Paraben

Propil paraben adalah pengawet berbentuk kristal, berwarna putih, tidak berbau dan tidak berasa. Propil paraben berfungsi sebagai antimikroba berspektrum luas dan efektif dalam melawan jamur. Konsentrasi yang digunakan dalam sediaan topikal, yaitu 0,01-0,6 %. Kombinasi propil paraben dan metil paraben dapat meningkatkan aktivitas antimikroba (Utami, 2016).

2.6.1.7 Triethanolamin (TEA)

Pengatur pH yang digunakan untuk netralisasi karbopol adalah TEA yang berbentuk cairan jernih, sedikit kental dan sedikit berbau amoniak dengan pH sebesar 10,5 (Wulandari, 2015). TEA berfungsi untuk meningkatkan pH sediaan agar sediaan mempunyai pH yang sesuai dengan karakteristik pH kulit yaitu 4,5-6,5 dan berperan dalam membentuk massa gel (Yogesthinaga, 2016).

2.7 Bakteri

Bakteri adalah organisme bersel satu yang tidak mempunyai inti dan termasuk dalam golongan prokariotik atau Monera. Bakteri memiliki sitoplasma yang selalu dikelilingi oleh satu atau dua lapis dinding sel yang tersusun dari fosfolipid. Bakteri juga memproduksi kapsul ekstraseluler untuk perlindungan tambahan, terutama dari fagositosis sel darah putih. Bakteri dapat mensintesis asam nukleat (DNA, RNA), protein penting lainnya dan dapat bereproduksi sendiri, namun membutuhkan makanan dan lingkungan yang mendukung. Bakteri nonpatogen hidup di kulit dan selaput lendir saluran cerna manusia yang disebut sebagai flora normal. Bakteri penyebab penyakit biasanya disebut sebagai patogen (Kar, 2008). Morfologi bakteri terdiri dari tiga bentuk, yaitu sferis (kokus), batang (basil), dan spiral. Bakteri memiliki ukuran yang bervariasi tetapi pada umumnya berdiameter sekitar 0,5-1,0 μm dan panjang 1,5-2,5 μm (Pelezar & Chan, 2008).

2.7.1 Penggolongan Bakteri

Berdasarkan kebutuhan bakteri terhadap oksigen, bakteri dibedakan menjadi dua golongan yaitu bakteri aerob dan bakteri anaerob (Brooks *et al.*, 2013).

2.7.1.1 Bakteri Aerob

Bakteri aerob adalah bakteri yang membutuhkan oksigen untuk bertahan hidup dan tidak akan tumbuh dalam kondisi anaerob yaitu dengan tidak adanya oksigen. Aerob obligat adalah bakteri yang harus memiliki oksigen untuk bertahan hidup, contohnya *Nocardia asteroides* (Brooks *et al.*, 2013).

Bakteri aerob dan anaerob fakultatif adalah bakteri yang tumbuh dengan baik dalam kondisi aerob. Bakteri anaerob fakultatif sering disebut sebagai aerob. Bakteri anaerob fakultatif seperti *Escherichia coli* apabila berada di tempat infeksi misalnya abses perut, dapat dengan cepat mengonsumsi semua oksigen yang tersedia dan mengubah menjadi metabolisme anaerob, menghasilkan lingkungan anaerob dengan demikian memungkinkan bakteri anaerob tumbuh dan menyebabkan penyakit (Brooks *et al.*, 2013).

2.7.1.2 Bakteri Anaerob

Bakteri anaerob adalah bakteri yang tidak menggunakan oksigen untuk pertumbuhan dan metabolisme, namun memperoleh energinya dari reaksi fermentasi. Bakteri anaerob dibedakan menjadi dua macam yaitu anaerob obligat dan anaerob fakultatif. Anaerob obligat adalah bakteri yang rentan terhadap efek mematikan dari oksigen dan kekurangan *superoxide dismutase* (SOD) yang mengkatalisis oksigen (Brooks *et al.*, 2013).

Bakteri anaerob sering ditemukan pada manusia seperti kulit, mukosa dan pada konsentrasi tinggi dalam mulut dan saluran pencernaan, contoh dari bakteri anaerob yang bersifat Gram negatif adalah golongan *Bacteroides*, *Prevotella* dan *Porphyromonas*. Anaerob yang bersifat Gram positif contohnya adalah golongan *Actinomyces*, *Lactobacillus* dan *Eubacterium* (Brooks *et al.*, 2013).

2.8 *Escherichia coli*

2.8.1 Klasifikasi

Klasifikasi bakteri *Escherichia coli* adalah sebagai berikut (Brooks *et al.*, 2013) :

Kingdom	: Prokaryotae
Division	: Gracilicutes
Class	: Scotobacteria
Order	: Eubacterials
Family	: Enterobacteriaceae
Genus	: Escherichia
Spesies	: <i>coli</i>

2.8.2 Morfologi

Escherichia coli berbentuk batang pendek (kokobasil), bersifat Gram-negatif, berukuran 0,4-0,7 μm x 1,4 μm . Bakteri ini tidak membentuk spora, tidak tahan terhadap suasana asam, tidak sensitif terhadap panas, dan sebagian besar bergerak menggunakan flagel peritrikus (merata tersebar ke seluruh permukaan sel) namun ada pula yang nonmotil, dan beberapa strain mempunyai kapsul. Cara tumbuh bakteri ini adalah anaerob fakultatif atau umumnya bersifat kemoheterotof.

Nilai pH yang digunakan untuk pertumbuhannya adalah 7,0-7,5 dan suhu pertumbuhannya 10°C-40°C dengan suhu optimum 37°C (Maradona, 2013).



Gambar 2.1 *Escherichia coli* (Brooks *et al.*, 2013)

Escherichia coli dapat diidentifikasi pada media diferensial *Eosin Methylen Blue Agar* (EMBA). Media ini mempunyai kandungan *methylene blue* dimana zat tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif sehingga yang tumbuh hanya bakteri Gram negatif. EMBA mempunyai kondisi yang asam sehingga hal tersebut membuat kompleks presipitat dan menimbulkan warna hijau kilap logam pada *Escherichia coli* (Putri, 2015).

2.9 Antibakteri

Antibakteri adalah senyawa yang memiliki kemampuan untuk melukai dan membunuh bakteri yang menyerang tanpa merugikan sel inang. Obat antibakteri efektif dalam pengobatan infeksi karena toksisitasnya selektif (Whalen, 2015).

Antibakteri merupakan suatu zat atau obat yang diperoleh dari sintesis atau berasal dari senyawa non organik yang berfungsi untuk membasmi jasad renik. Antibakteri yang hanya menghambat pertumbuhan mikroorganisme disebut bakteriostatik sedangkan antibakteri yang dapat membunuh mikroorganisme disebut bakterisidal (Rahmadani, 2015).

2.9.1 Mekanisme Kerja Antibakteri

2.9.1.1 Menghambat Sintesis Dinding Sel

Dinding sel terdiri dari polimer yang terdiri dari peptidoglikan dari glikan yang saling bersambung dengan peptida (Whalen, 2015). Bakteri memiliki dinding sel yang mengelilingi sel seperti cangkang kaku untuk perlindungan dari pengaruh luar yang berbahaya dan untuk mencegah pecahnya membran plasma

dari tekanan osmotik internal yang tinggi. Stabilitas struktural dinding sel terutama disebabkan oleh kisi murein (peptidoglikan) yang terdiri dari unit dasar yang dihubungkan bersama untuk membentuk makromolekul besar (Lüllmann *et al.*, 2000). Contoh obat dari golongan ini diantaranya adalah antibiotik β -laktam, vankomisin dan daptomisin (Whalen, 2015).

2.9.1.2 Menghambat Sintesis Protein

Target antibiotik adalah ribosom bakteri dan menghambat sintesis protein bakteri (Whalen, 2015). Sintesis protein adalah penerjemahan suatu pesan genetik ke dalam rantai peptida dalam m-RNA. Asam amino (AA) dibentuk dalam ribosom. Asam amino dikirim menuju m-RNA melibatkan transfer molekul RNA (t-RNA) yang masing-masing mengikat AA tertentu. Setiap t-RNA mengandung triplet nukleobase yang saling melengkapi dengan unit pengkode m-RNA tertentu. Antibiotik dari golongan ini adalah klindamisin (Lüllmann *et al.*, 2000).

Antibakteri yang digunakan sebagai pembanding adalah klindamisin sebagai kontrol positif. Klindamisin digunakan karena mempunyai mekanisme kerja yang sama seperti senyawa yang terkandung dalam fraksi daun durian. Karakteristik klindamisin menurut FI Edisi IV adalah sebagai berikut (Depkes RI, 1995):

Nama obat	: Klindamisin hidroklorida
Nama lain	: Clindamycini hydrochloridum
RM	: $C_{18}H_{33}ClN_2O_5S.HCl$
BM	: 461,44 g/mol
Kemurnian	: Klindamisin hidroklorida mengandung tidak kurang dari 800 μ g per mg.
Pemerian	: Serbuk hablur, putih atau praktis putih, tidak berbau atau bau lemah seperti merkaptan. Stabil di udara dan cahaya. Larutan bersifat asam dan memutar bidang polarisasi ke kanan.
Kelarutan	: Mudah larut dalam air, dalam dimetilformamida dan dalam metanol. Larut dalam etanol, praktis tidak larut dalam aseton.
pH	: 3,0-5,5
Penyimpanan	: Dalam wadah tertutup rapat.

Kegunaan : Antibakteri pembanding

Mekanisme kerja klindamisin terhadap bakteri yaitu dengan cara menghambat sintesis protein bakteri pada tingkat ribosom 50S dan bertindak mengurangi asam lemak bebas di permukaan bakteri serta menghambat produksi lipase bakteri (Bhalekar *et al.*, 2015).

2.9.1.3 Menghambat Fungsi DNA

Asam deoksiribonukleat (DNA) berfungsi sebagai *template* untuk sintesis asam nukleat. Asam ribonukleat (RNA) mengeksekusi sintesis protein sehingga memungkinkan pertumbuhan sel. Sintesis DNA baru merupakan prasyarat untuk pembelahan sel. Zat yang menghambat pembacaan informasi genetik pada template DNA merusak pusat regulasi metabolisme sel. Antibiotik golongan ini contohnya adalah rifampin dan golongan fluoroquinolon (Lüllmann *et al.*, 2000).

2.9.1.4 Merusak Membran Plasma

Membran sitoplasma mempertahankan bahan tertentu didalam sel serta mengatur aliran keluar-masuknya bahan lain. Membran memelihara integritas komponen-komponen selular. Kerusakan pada membran ini dapat menghambat pertumbuhan bahkan mematikan sel bakteri. Antibiotik dari golongan ini adalah polimixin dan nistatin (Pratiwi, 2008).

2.9.1.5 Menghambat *Tetrahydrofolic Acid*

Tetrahydrofolic acid (THF) adalah *co-enzyme* dalam sintesis dasar purin dan timidin yang merupakan penyusun DNA dan RNA dan diperlukan untuk pertumbuhan sel dan replikasi. Kurangnya THF menyebabkan penghambatan proliferasi sel. Pembentukan THF dari dihydrofolate (DHF) dikatalisis oleh enzim dihydrofolate reduktase. Antibiotik golongan ini contohnya adalah trimetropim, sulfonamid dan kotrimoksazol (Lüllmann *et al.*, 2000).

2.10 Uji Aktivitas Antibakteri

Mikroorganisme digunakan pada uji mikrobiologi untuk menentukan konsentrasi komponen tertentu pada campuran kompleks senyawa kimia, untuk mendiagnosis penyakit tertentu serta untuk menguji bahan kimia untuk menentukan kemampuan mutagenik atau karsinogenik dari suatu bahan.

Pengujian antibakteri berguna untuk memperoleh suatu sistem pengobatan yang efektif dan efisien (Rahmadani, 2015).

Aktivitas antibakteri dapat diukur secara *in vitro* untuk menentukan kemampuan agen antibakteri dalam larutan, konsentrasi antibakteri dalam cairan tubuh atau jaringan, dan kerentanan mikroorganisme yang diberikan terhadap konsentrasi obat yang diketahui (Brooks *et al.*, 2013). Aktivitas antibakteri bahan alam atau senyawa murni dapat dideteksi dengan pengamatan respon pertumbuhan berbagai mikroorganisme terhadap sampel yang kontak langsung dengan mikroba uji. Metode uji antibakteri dapat dilakukan dengan metode difusi dan metode dilusi (Nugraheni, 2012).

2.10.1 Metode Difusi

2.10.1.1 *Disc Diffusion*

Metode *disc diffusion* atau tes Kirby & Bauer adalah metode yang digunakan untuk menentukan aktivitas agen antibakteri. Agen antibakteri dengan sejumlah konsentrasi tertentu yang berada dalam piringan (*paper disc*) diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media agar tersebut, setelah dilakukan inkubasi, zona penghambatan yang jelas di sekitar *disc* digunakan sebagai ukuran daya hambat obat (Brooks *et al.*, 2013). Area jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antibakteri pada permukaan media agar (Rahmadani, 2015). Metode ini mempunyai kelebihan diantaranya sederhana, murah, mampu menguji mikroorganisme dalam jumlah besar dan antimikroba yang tertinggal serta mudah dalam interpretasi hasil (Balouiri *et al.*, 2016).

2.10.1.2 *E-test*

E-test merupakan metode yang digunakan untuk mengestimasi KHM (Kadar Hambat Minimum). Strip plastik yang mengandung agen antimikroba dari kadar terendah hingga tertinggi dan diletakkan pada permukaan media agar yang telah ditanami mikroorganisme. Pengamatan dilakukan pada area jernih yang ditimbulkan yang menunjukkan kadar agen antibakteri yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme pada media agar (Pratiwi, 2008).

2.10.1.3 *Ditch-plate Technique*

Ditch-plate technique merupakan metode dimana sampel uji berupa agen antibakteri yang diletakkan pada parit yang dibuat dengan cara memotong media agar dalam cawan petri pada bagian tengah secara membujur dan mikroba uji digoreskan ke arah parit yang berisi agen antibakteri (Pratiwi, 2008). Inkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Selanjutnya diamati adanya zona jernih disekitar parit yang menunjukkan ada tidaknya pertumbuhan bakteri (Maradona, 2013).

2.10.1.4 *Gradient-plate Technique*

Gradient-plate technique merupakan metode yang menggunakan konsentrasi agen antibakteri secara teoritis bervariasi dari 0 hingga maksimal. Media agar dicairkan dan larutan uji ditambahkan. Campuran kemudian dituang ke dalam cawan petri dan diletakkan dalam posisi miring. Nutrisi kedua selanjutnya dituang di atasnya. Plate diinkubasi selama 24 jam untuk memungkinkan antibakteri berdifusi dan permukaan media mengering. Mikroba uji digoreskan pada arah mulai dari konsentrasi tinggi ke rendah. Hasil diperhitungkan sebagai panjang total pertumbuhan mikroorganisme maksimum yang dibandingkan dengan panjang pertumbuhan hasil goresan (Pratiwi, 2008).

Tabel II.2 Kategori respon hambatan pertumbuhan bakteri (Pratiwi, 2008)

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

2.10.1.5 *Cup-plate Technique*

Cup-plate technique merupakan metode dengan membuat sumur pada media agar yang telah ditanami dengan mikroorganisme dan pada sumur tersebut diberi agen antimikroba yang akan diuji (Pratiwi, 2008). Inkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Selanjutnya diamati adanya zona jernih disekitar sumur yang menunjukkan ada tidaknya pertumbuhan bakteri (Maradona, 2013).

2.10.2 Metode Dilusi

2.10.2.1 Metode Dilusi Cair

Metode dilusi cair/*broth dilution test (serial dilution)* merupakan metode untuk mengukur KHM dan KBM (Kadar Bunuh Minimum). Cara yang dilakukan adalah dengan membuat seri pengenceran agen antibakteri pada medium cair yang ditambahkan dengan mikroba uji. Larutan uji agen antibakteri pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan mikroba uji ditetapkan sebagai KHM. Larutan yang ditetapkan sebagai KHM tersebut selanjutnya dikultur ulang pada media cair tanpa penambahan mikroba uji ataupun agen antibakteri, dan diinkubasi selama 18-24 jam. Media cair yang tetap terlihat jernih setelah inkubasi ditetapkan sebagai KBM (Rahmadani, 2015). Uji kepekaan cara dilusi cair dengan menggunakan tabung reaksi, tidak praktis dan jarang dipakai (Brooks *et al.*, 2013).

2.10.2.2 Metode Dilusi Padat

Metode dilusi padat/*solid dilution test* merupakan metode yang serupa dengan metode dilusi cair namun menggunakan media padat atau solid. Keuntungan metode ini adalah satu konsentrasi agen antibakteri yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji (Pratiwi, 2008).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun durian segar sebanyak 5 kg digunakan untuk pembuatan simplisia, serbuk daun durian 585 gram dan etanol 70% 5.850 ml untuk pembuatan ekstrak. Ekstrak daun durian, asam asetat glasial dan asam sulfat pekat untuk uji kadar etanol ekstrak. Ekstrak daun durian, n-heksan, etil asetat, etanol, klorofom, H₂SO₄ pekat, dan larutan FeCl₃ 1% untuk skrining fitokimia dan fraksinasi. Fraksi daun durian 5%, 15%, 30%, dan 45%, karbopol, propilen glikol, etanol, EDTA, metil paraben, propil paraben, air dan TEA untuk pembuatan gel. *Nutrient agar* (NA), *aqua destillata*, EMBA, *nutrient broth* (NB), *Escherichia coli*, NaCl fisiologis, Mc Farland, fraksi daun durian, gel fraksi daun durian dan gel klindamisin untuk uji aktivitas antibakteri. Kalium hidroksida (KOH), *aqua destillata*, dan fenolftalein untuk evaluasi sediaan gel.

3.2 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah gunting, blender, ayakan mesh 60, neraca analitik dan wadah simplisia untuk pembuatan simplisia. Seperangkat alat sokhletasi, oven, statif dan klem, termometer dan gelas beker untuk pembuatan ekstrak. Neraca analitik, botol timbang, sendok tanduk dan oven untuk uji kadar air serta penentuan susut pengeringan simplisia. Tabung reaksi, pipet tetes, pipet ukur, cawan porselen, dan kapas untuk uji kadar etanol ekstrak. Tabung reaksi, pipet ukur, gelas ukur, pipet tetes, *stop watch*, corong pisah, corong kaca, kertas saring, dan gelas beker untuk skrining fitokimia dan fraksinasi. Beker gelas, batang pengaduk, pipet ukur dan pipet tetes untuk pembuatan gel. Autoklaf (GEA YX2808), cawan petri, kertas cakram, erlenmeyer, tabung reaksi, aluminium foil, mikropipet, rak tabung reaksi, lampu spiritus, *Laminar Air Flow* (ESCO EMC 600), ose, bunsen, kapas, jangka sorong, dan inkubator (Model DNP *Electro Thermal Incubator*) untuk uji aktivitas antibakteri.

Gelas beker, pH universal, sudip, *object glass*, lempeng kaca, anak timbangan, neraca analitik, penggaris, *stop watch*, alat uji daya lekat, kertas saring dan pipet tetes untuk uji evaluasi sediaan gel.

3.3 Populasi Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah daun durian (*Durio zibethinus*) yang terdapat di Kabupaten Tulungagung, Jawa Timur.

3.4 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun durian (*Durio zibethinus*) sebanyak 5 kg yang diperoleh dari lima pekarangan warga desa Sumberdadi Kecamatan Sumbergempol Kabupaten Tulungagung, Jawa Timur.

3.5 Variabel Penelitian

Variabel penelitian adalah segala sesuatu dalam bentuk apapun yang ditetapkan oleh peneliti sebagai hal yang akan digunakan untuk dipelajari sehingga diperoleh informasi tentang hal tersebut untuk diambil kesimpulannya (Sugiyono, 2013). Pada penelitian ini terdapat tiga variabel yaitu, variabel bebas, variabel kontrol dan variabel terikat.

3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas adalah variabel yang dapat menjadi penyebab atau yang mempengaruhi perubahannya atau munculnya variabel dependen atau terikat (Sugiyono, 2013). Variabel bebas dalam penelitian ini adalah fraksi daun durian dengan seri konsentrasi 5%, 15%, 30%, dan 45%.

3.5.2 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 teliti (Sugiyono, 2013). Variabel kontrol dalam penelitian ini adalah jenis bakteri yaitu *Escherichia coli*, metode ekstraksi yaitu sokhletasi, metode uji antibakteri dan formulasi gel.

3.5.3 Variabel Terikat

Variabel terikat adalah variabel yang menjadi akibat atau yang dipengaruhi oleh adanya variabel bebas (Sugiyono, 2013). Variabel terikat dalam penelitian ini adalah daya hambat fraksi daun durian dan gel fraksi daun durian terhadap bakteri *Escherichia coli*.

3.6 Metode Penelitian

3.6.1 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman bertujuan untuk mengetahui kebenaran identitas tanaman. Sampel tanaman daun durian diidentifikasi di UPT Materia Medica, Batu, Jawa Timur.

3.6.2 Pembuatan Simplisia

Pembuatan simplisia daun durian dilakukan dengan mengumpulkan daun muda sampai tua yang dipetik secara langsung. Daun durian kemudian dilakukan sortasi basah yang bertujuan untuk membersihkan daun dari kotoran dan benda asing. Tahap selanjutnya dilakukan pencucian sebanyak tiga kali dengan air mengalir, menggunakan air bersih dari sumur yang bertujuan untuk menghilangkan pengotor yang melekat kemudian ditiriskan. Proses berikutnya dilakukan pengeringan dengan cara diangin-anginkan sampai kering dan dilakukan sortasi kering. Simplisia yang diperoleh dihaluskan dengan blender dan diayak dengan ayakan nomor 60 (Depkes RI, 2000).

3.6.3 Uji Susut Pengeringan

Uji susut pengeringan simplisia dilakukan menggunakan botol timbang tertutup yang telah dipanaskan pada suhu 105⁰C dan ditara. Serbuk sebanyak 1-2 g dimasukkan dalam botol timbang dan diratakan hingga membentuk lapisan setebal kurang lebih 5-10 mm, kemudian dimasukkan kedalam ruang pengering, dibuka tutup botol dan dikeringkan pada suhu 105⁰C hingga dicapai bobot tetap (Depkes RI, 2000).

3.6.4 Uji Kadar Air Simplisia Serbuk

Uji kadar air simplisia serbuk dilakukan dengan memasukkan kurang lebih 10 g serbuk dan timbang seksama dalam wadah yang telah ditara. Keringkan pada suhu 105°C selama 5 jam dan ditimbang. Dilanjutkan pengeringan dan timbang pada jarak 1 jam sampai perbedaan antara 2 penimbangan berturut-turut tidak lebih dari 0,25% (Depkes RI, 2000).

3.6.5 Pembuatan Ekstrak

Serbuk daun durian ditimbang sebanyak 40 g dibungkus dengan kertas saring dan dimasukkan dalam timbel. Sokhlet diisi dengan pelarut etanol 70% sebanyak 400 ml. Dilakukan ekstraksi sampai ekstraksi lengkap tercapai yang ditandai dengan cairan pelarut yang menetes di atas timbel menjadi jernih (Handa *et al.*, 2008). Dilakukan replikasi sebanyak 13 kali.

3.6.6 Uji Kadar Etanol Ekstrak

Uji bebas etanol dilakukan dengan memasukkan 1 mg ekstrak kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 1 ml asam asetat glasial, dan 1 ml asam sulfat pekat. Campuran dihomogenkan dan dipanaskan, kemudian ditutup bagian atas tabung dengan kapas. Jika tidak tercium bau ester maka positif bebas etanol (Depkes RI, 1995).

3.6.7 Skrining Fitokimia

3.6.7.1 Flavonoid

Ekstrak sebanyak 1 ml dicampur dengan 3 ml etanol 70%, lalu dikocok, dipanaskan, dan dikocok lagi kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh, kemudian ditambah Mg 0,1 g dan 2 tetes HCl pekat. Terbentuknya warna merah, orange, atau hijau pada lapisan etanol menunjukkan adanya flavonoid (Harborne, 2006).

3.6.7.2 Steroid

Ekstrak sebanyak 1 ml dicampur dengan 3 ml kloroform atau 3 ml etanol 70% dan ditambah 2 ml asam sulfat pekat dan 2 ml asam asetat anhidrat atau reagen *Liebermann-Burchard*. Perubahan warna dari ungu ke biru atau hijau menunjukkan adanya steroid (Harborne, 2006).

3.6.7.3 Saponin

Ekstrak sebanyak 1 ml dididihkan dengan 10 ml *aqua destillata* dalam penangas air. Filtrat dikocok dan didiamkan selama 15 menit. Terbentuknya busa yang stabil berarti positif mengandung saponin (Harborne, 2006).

3.6.7.4 Tanin

Ekstrak sebanyak 2 g ditambah etanol sampai terendam semuanya. Kemudian sebanyak 1 ml larutan dipindahkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan 2-3 tetes larutan FeCl_3 1%. Hasil positif mengandung tanin ditunjukkan dengan terbentuknya warna hitam kebiruan atau hijau (Harborne, 2006).

3.6.8 Fraksinasi

Ekstrak sebanyak 5 g dilarutkan dalam *aqua destilata* sebanyak 25 ml. Ditambahkan 25 ml n-heksan, dikocok dan dipisahkan fraksi *aqua destilata* dengan fraksi n-heksan. Dimasukkan *aqua destilata* yang telah disari ke dalam corong pisah, ditambahkan 25 ml etil asetat, dikocok dan dipisahkan fraksi *aqua destilata* dengan fraksi etil asetat. Dilakukan 3 kali penyarian pada masing-masing fraksi dengan penambahan jumlah pelarut yang sama (Harborne, 2006).

3.6.9 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 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Sterilisasi larutan uji dan media dilakukan dalam wadah yang sesuai seperti erlenmeyer atau tabung reaksi dengan mulut ditutup kapas dan dibungkus aluminium foil (Pratiwi, 2008).

3.6.10 Pembuatan Media

3.6.10.1 Pembuatan Media *Nutrient Broth* (NB)

Serbuk NB sebanyak 0,08 g dilarutkan dalam 10 ml *aqua destillata*, kemudian dipanaskan sampai mendidih sehingga semuanya larut. Media disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit tekanan 15 psi. Media dituangkan kedalam tabung reaksi (Atlas, 2010).

3.6.10.2 Pembuatan Media *Eosin Methylene Blue Agar*

Serbuk *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA) ditimbang sebanyak 0,36 g dilarutkan dalam 10 ml *aqua destillata*, kemudian dipanaskan sampai mendidih sehingga semuanya larut. Media disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit pada tekanan 15 psi. Media dituangkan kedalam cawan petri dan dibiarkan sampai mengeras (Atlas, 2010).

3.6.10.3 Pembuatan Media *Nutrient Agar* (NA)

Serbuk NA ditimbang sebanyak 9 g dilarutkan dalam 450 ml *aqua destillata*, kemudian dipanaskan sampai mendidih sehingga semuanya larut. Media disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit tekanan 15 psi. Media dituangkan kedalam cawan petri dan dibiarkan mengeras (Atlas, 2010).

3.6.11 Uji Identifikasi *Escherichia coli* dengan Media Diferensial EMBA

Suspensi *Escherichia coli* diinokulasi pada permukaan media EMBA, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. *Escherichia coli* menunjukkan kilap logam dan bintik biru kehijauan pada media EMBA (Radji, 2013).

3.6.12 Pembuatan Larutan Uji

Fraksi daun durian diencerkan dengan menggunakan larutan tween 1% (Aulifa *et al.*, 2015). Penelitian ini menggunakan seri konsentrasi 5%, 15%, 30%, dan 45% dalam volume 10 ml.

3.6.13 Pembuatan Suspensi Bakteri

Satu ose biakan bakteri *Escherichia coli* disuspensikan ke dalam tabung berisi 5 ml media NB dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Suspensi bakteri tersebut diencerkan menggunakan NaCl 0,9% steril sampai kekeruhannya setara dengan larutan standar 0,5 Mc. Farland. Biakan cair yang kekeruhannya setara dengan 0,5 Mc. Farland mempunyai populasi 1×10^7 CFU/ml - 1×10^8 CFU/ml (Jawetz *et al.*, 2005).

3.6.14 Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Durian

Uji aktivitas antibakteri fraksi daun durian menggunakan metode difusi. Disiapkan media yang telah diinokulasi dengan bakteri. Disiapkan dan disterilkan kertas cakram diameter 6 mm. Fraksi daun durian dengan berbagai konsentrasi

ditambahkan pada masing-masing cakram sejumlah 10 mikroliter. Kertas cakram steril yang telah diresapi dengan fraksi daun durian ditempatkan pada permukaan media dengan pinset steril dan ditekan dengan lembut kebawah untuk memastikan kontak antara kertas cakram dengan permukaan media. Kontrol positif disiapkan dengan mencelupkan kertas cakram dalam gel klindamisin. Kontrol negatif disiapkan dengan mencelupkan kertas cakram dalam tween 1%. Cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Diukur diameter zona hambat (Jayaprakash & Nagarajan, 2016).

3.6.15 Formulasi Gel

3.6.15.1 Formulasi Standart

Tabel III.1 Formulasi gel standart (Aparna *et al.*, 2016)

Bahan	Konsentrasi
Ekstrak daun <i>Nyctanthes abor tritis</i>	0,1 %
Karbopol	0,1 %
Propilen glikol	2 %
Etanol	0,1 %
EDTA	0,003 %
Metil paraben	0,01 %
Propil paraben	0,01 %
<i>Aqua destillata</i>	100 ml
TEA	q.s

3.6.15.2 Formulasi Gel Fraksi *Zibethinus folium*

Tabel III.2 Formulasi modifikasi gel fraksi *Zibethinus folium*

Bahan	Konsentrasi
Fraksi daun durian	0,1 %
Karbopol	0,1 %
Propilen glikol	2 %
EDTA	0,003 %
Metil paraben	0,01 %
Propil paraben	0,01 %
<i>Aqua destillata</i>	20 ml
TEA	q.s

3.6.16 Pembuatan Gel

Ditimbang karbopol sebanyak 0,1 g dan ditaburkan diatas 20 ml *aqua destillata* panas didiamkan selama 24 jam sampai mengembang sehingga

terbentuk massa gel. Dibagi *aqua destillata* menjadi dua bagian. Bagian pertama terdiri dari fraksi daun durian dan propilen glikol dalam 9,75 ml *aqua destillata*. Bagian kedua terdiri dari metil paraben dan propil paraben dalam 9,75 ml *aqua destillata*. Ditambahkan bagian kedua ke dalam massa gel diaduk sampai homogen. Kedua bagian dicampur dalam mortir dan ditambahkan TEA tetes demi tetes sambil diaduk untuk membentuk konsistensi gel, selanjutnya dilakukan evaluasi sediaan gel (Aparna *et al.*, 2016). Evaluasi sediaan gel yang dilakukan adalah uji organoleptis, pH, homogenitas, daya sebar, daya lekat dan daya proteksi.

3.6.17 Evaluasi Gel

3.6.17.1 Uji Organoleptis

Uji organoleptis dilakukan secara visual dan dilihat secara langsung bentuk, warna, dan bau dari sediaan gel. Gel biasanya jernih dengan konsistensi setengah padat (Ansel, 2005).

3.6.17.2 Uji pH

Sediaan gel ditimbang sebanyak 1 gram dan dilarutkan dalam 100 ml *aqua destillata* dalam gelas beker. Larutan diukur pHnya menggunakan pH indikator universal sebanyak tiga kali replikasi dan dihitung nilai rata-rata pH (Kaur & Guleri, 2013).

3.6.17.3 Uji Homogenitas

Diambil sediaan gel secukupnya, dioleskan pada objek glass kemudian diraba dan digosok. Diamati susunan sediaan pada objek glass. Massa gel homogen ditunjukkan dengan tidak adanya bahan padat atau butiran pada kaca (Dewantari & Sugihartini, 2015).

3.6.17.4 Uji Daya Sebar

Sediaan gel ditimbang sebanyak 500 mg, diletakkan di tengah kaca bulat berskala dan diletakkan kaca bulat lainnya yang telah ditimbang di atas gel selama 1 menit. Diukur diameter gel yang menyebar, kemudian ditambahkan beban 50 g didiamkan selama 1 menit. Dicatat diameter gel yang menyebar dan setelah penambahan beban 100 g, 150 g, dan 200 g (Fujiastuti & Sugihartini, 2015).

3.6.17.5 Uji Daya Lekat

Sampel gel sebanyak 0,25 gram diletakkan diantara 2 objek gelas pada alat uji daya lekat, ditekan dengan beban 1 kg selama 5 menit, kemudian beban diangkat dan pada alat uji dilepaskan beban 80 gram serta dicatat waktu pelepasan gel (Dewantari & Sugihartini, 2015).

3.6.17.6 Uji Daya Proteksi

Sediaan gel dioleskan pada kertas saring yang sebelumnya telah ditetesi fenoltalein. Kertas tersebut ditempelkan pada kertas saring lain dan kemudian ditetesi larutan KOH 0.1 N. Diamati munculnya warna merah pada waktu detik ke 15, 30, 45, 60 serta menit ke 3 dan 5 (Widyantoro & Sugihartini, 2015).

3.6.17.7 Uji Stabilitas

Uji kestabilan sediaan gel meliputi warna, bau, homogenitas, dan pH dievaluasi pada suhu rendah ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$), suhu kamar ($27\pm 2^{\circ}\text{C}$) dan suhu tinggi ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$) (Sugiyati *et al.*, 2015). Uji stabilitas dilakukan selama 4 minggu tiap 2 minggu sekali.

3.6.18 Uji Aktivitas Antibakteri Gel

Uji aktivitas antibakteri gel fraksi daun durian menggunakan metode difusi. Disiapkan media yang telah diinokulasi dengan bakteri. Disiapkan dan disterilkan kertas cakram diameter 6 mm. Gel ditambahkan pada masing cakram Kertas cakram steril yang telah diresapi dengan gel fraksi daun durian ditempatkan pada permukaan media dengan pinset steril dan ditekan dengan lembut kebawah untuk memastikan kontak antara kertas cakram dengan permukaan media. Kontrol positif disiapkan dengan mencelupkan kertas cakram dalam gel klindamisin. Kontrol negatif disiapkan dengan mencelupkan kertas cakram dalam campuran basis dengan tween 1%. Cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Diukur diameter zona hambat (Jayaprakash & Nagarajan, 2016).

3.6.19 Analisa Hasil

Data hasil penelitian aktivitas antibakteri fraksi daun durian pada *Escherichia coli* dianalisis menggunakan program SPSS versi 16 untuk melihat apakah fraksi daun durian mampu menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*.

Pengolahan data dapat dilakukan setelah penentuan normalitas. Uji normalitas adalah uji untuk mengukur apakah data mempunyai distribusi normal, sehingga dapat digunakan dalam statistik parametrik dan jika data tidak berdistribusi normal, dapat digunakan dalam statistik non parametrik. Uji normalitas dilakukan dengan *Kolmogorov-Smirnov*. Data berdistribusi normal jika $\text{Sig} > 0,05$ dan jika $\text{Sig} < 0,05$ maka data tidak berdistribusi normal (Sujarweni, 2012).

Data yang terdistribusi normal, selanjutnya dianalisis dengan *One-Way Anova*. Data diterima jika $\text{Sig} > 0,05$ dan jika $\text{Sig} < 0,05$ maka data ditolak (Yamin & Kurniawan, 2014). Asumsi *One-Way Anova* dilakukan dengan uji homogenitas yang bertujuan untuk menguji kesamaan (homogenitas) beberapa sampel, yakni seragam tidaknya variasi sampel-sampel yang diambil dari populasi yang sama (Ghazali, 2011). Pengujian homogenitas dilakukan dengan menggunakan *levene statistics*. H_0 ditolak jika $p \text{ value } \textit{levene statistics} < 0,05$ (Yamin & Kurniawan, 2014).

Pengujian hipotesis dilanjutkan dengan menggunakan uji *Two-Sample T-Test* menggunakan program minitab versi 16. Uji *Two-Sample T-Test* berfungsi untuk membandingkan rata-rata dari sampel yang tidak berhubungan satu dengan yang lain dengan tujuan untuk mengetahui sama atau tidaknya nilai rata-rata (Santoso, 2010).

3.7 Alur Penelitian

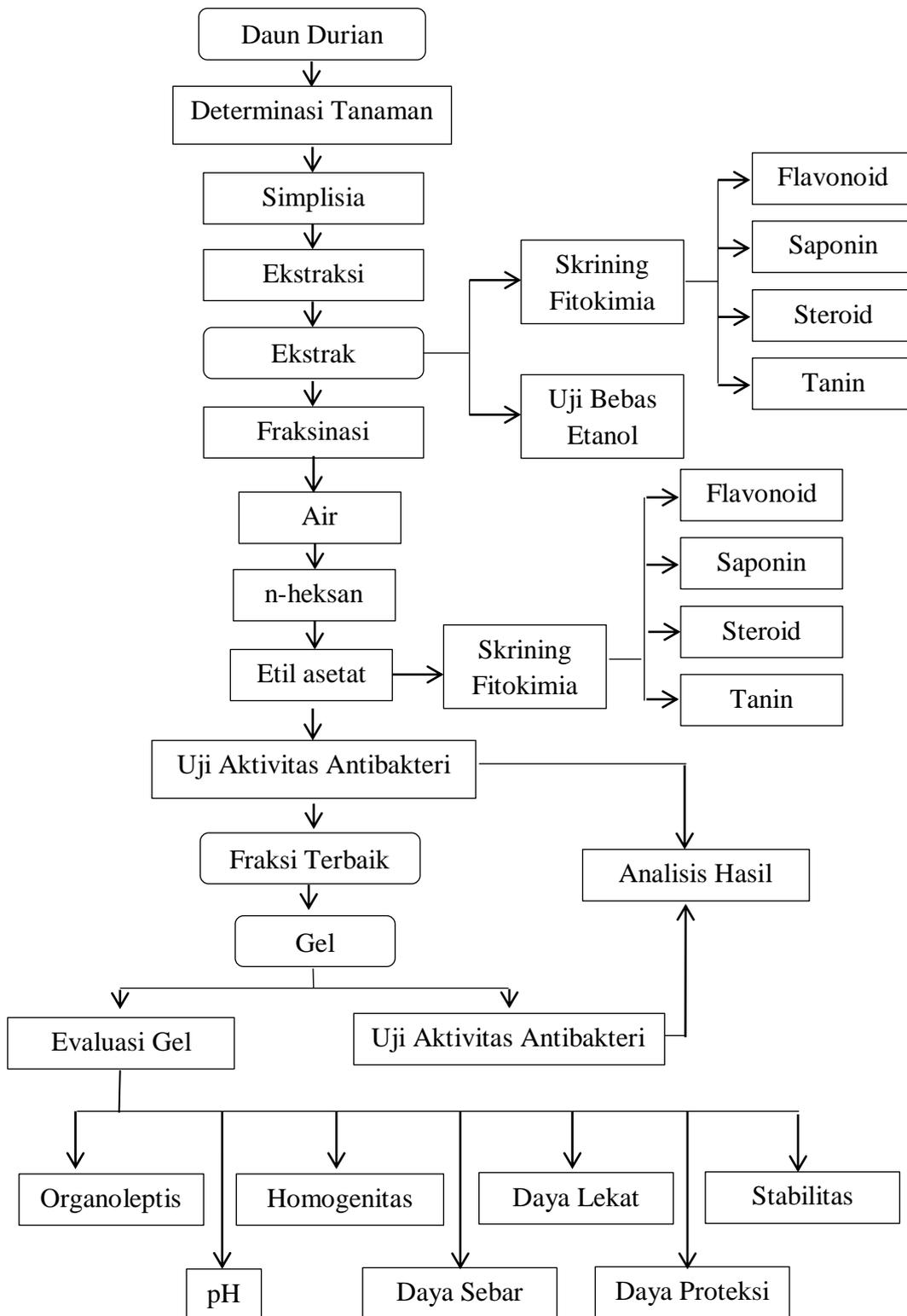
Kelompok I adalah kontrol positif, yaitu gel klindamisin. Kelompok II adalah kontrol negatif yaitu tween 1%. Kelompok III adalah kelompok uji, yaitu fraksi n-heksan, etil asetat, dan *aqua destilata* untuk pengujian aktivitas antibakteri fraksi. Uji aktivitas antibakteri gel fraksi daun durian digolongkan menjadi kelompok I adalah kontrol positif, yaitu gel klindamisin. Kelompok II adalah kontrol negatif yaitu campuran basis gel dengan tween 1%. Kelompok III adalah kelompok uji, yaitu gel fraksi terbaik daun durian.

Alur penelitian dalam penulisan skripsi ini menjelaskan mengenai tahapan atau prosedur penelitian. Penelitian ini dimulai pengumpulan daun durian segar sebanyak 5 kg, kemudian dilakukan determinasi tanaman durian di UPT Materia

Medica, Batu, Jawa Timur. Pembuatan simplisia serbuk daun durian dimulai dari pemanenan, sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan, sortasi kering dan penggilingan. Simplisia serbuk diuji susut pengeringan dan kadar air. Tahap selanjutnya dilakukan ekstraksi menggunakan metode sokhletasi, sebanyak 585 g simplisia serbuk di ekstraksi dengan 5.850 ml pelarut etanol 70% sehingga diperoleh ekstrak daun durian. Ekstrak daun durian diuji bebas etanol, skrining fitokimia dan dilakukan fraksinasi menggunakan corong pisah. Pelarut yang digunakan pada fraksinasi adalah pelarut non-polar yaitu n-heksan, pelarut semi polar yaitu etil asetat dan pelarut polar yaitu *aqua destillata*.

Fraksi yang dihasilkan dilakukan uji aktivitas antibakteri *Escherichia coli* menggunakan metode difusi cakram untuk memperoleh zona hambat. Fraksi yang menghasilkan daya hambat paling efektif dibuat formulasi sediaan gel dan dilakukan evaluasi serta uji aktivitas antibakteri. Evaluasi gel yang dilakukan adalah uji organoleptis, pH, homogenitas, daya sebar, daya lekat dan daya proteksi. Uji aktivitas antibakteri gel terhadap *Escherichia coli* dilakukan menggunakan metode difusi cakram dan diperoleh daya hambat. Daya hambat yang diperoleh dilakukan analisis hasil dengan menggunakan aplikasi SPSS 16 dan Minitab versi 16.

3.8 Kerangka Penelitian



Gambar 3.1 Kerangka Penelitian

BAB IV

HASIL PENELITIAN

4.1 Data Mentah Penelitian

4.1.1 Determinasi

Determinasi tanaman durian dilakukan di Materia Medica Batu kota Batu, Jawa Timur. Hasil determinasi menunjukkan bahwa sampel yang digunakan adalah tanaman durian (*Durio zibethinus* Murr) dengan kunci determinasi sebagai berikut: 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14a-15a-109b-119b-120b-129b-128b-136b-135b-139b-140b-142b-143a-144b-145a-1b.

4.1.2 Uji Kadar Air Simplisia Serbuk

Tabel IV.1 Hasil uji kadar air simplisia serbuk *Zibethinus folium*

Sampel	Bobot awal	Bobot akhir	Hasil
<i>Zibethinus folium</i>	10 gram	9,69 gram	3,1 %

Rumus (4.1)

% Kadar air

$$= \frac{\text{Bobot serbuk sebelum di oven} - \text{bobot serbuk setelah di oven}}{\text{Bobot serbuk setelah di oven}} \times 100\% \text{ (Depkes RI, 2000)}$$

4.1.3 Uji Susut Pengerinan

Tabel IV.2 Hasil uji susut pengerinan simplisia *Zibethinus folium*

Sampel	Bobot basah	Bobot kering	Hasil
<i>Zibethinus folium</i>	5 kg	2,25 kg	45 %

Rumus (4.2)

$$\% \text{ Susut pengerinan} = \frac{\text{Bobot daun kering}}{\text{Bobot daun basah}} \times 100\% \text{ (Utami, 2016)}$$

4.1.4 Rendemen

Tabel IV.3 Hasil rendemen ekstrak sokhlet *Zibethinus folium*

Rendemen	Bobot ekstrak	Bobot serbuk	Hasil
Ekstrak	11,15 gram	585 gram	1,9 %

$$\text{Rumus (4.3) \% Rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak}}{\text{Bobot serbuk}} \times 100\% \text{ (Firdiyani et al., 2015)}$$

4.1.5 Uji Bebas Etanol Ekstrak

Tabel IV.4 Hasil uji bebas etanol ekstrak sokhlet *Zibethinus folium*

Sampel	Hasil	Keterangan
<i>Zibethinus folium</i>	-	Tidak tercium bau ester

4.1.6 Skrining Fitokimia

Tabel IV.5 Skrining fitokimia ekstrak sokhlet *Zibethinus folium* dan fraksi etil asetat

Skrining	Ekstrak	Fraksi etil asetat	Keterangan
Flavonoid	+	+	Orange
Saponin	+	+	Busa stabil
Steroid	+	+	Hijau
Tanin	+	+	Hijau



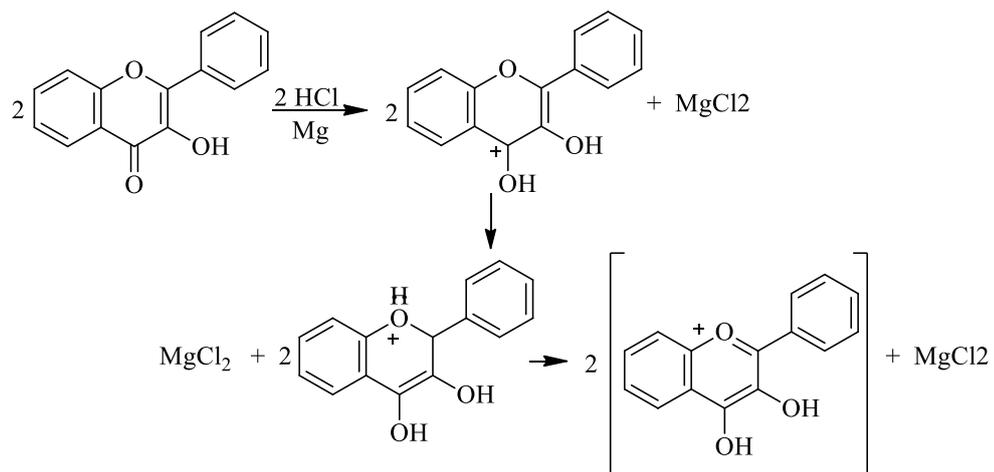
(a) flavonoid

(b) saponin

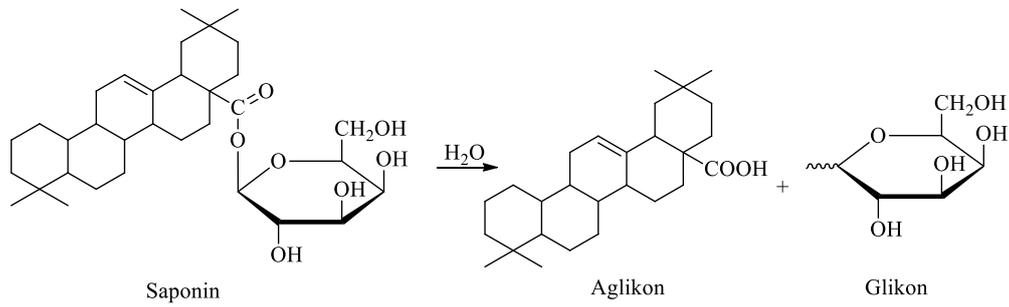
(c) tanin

(d) steroid

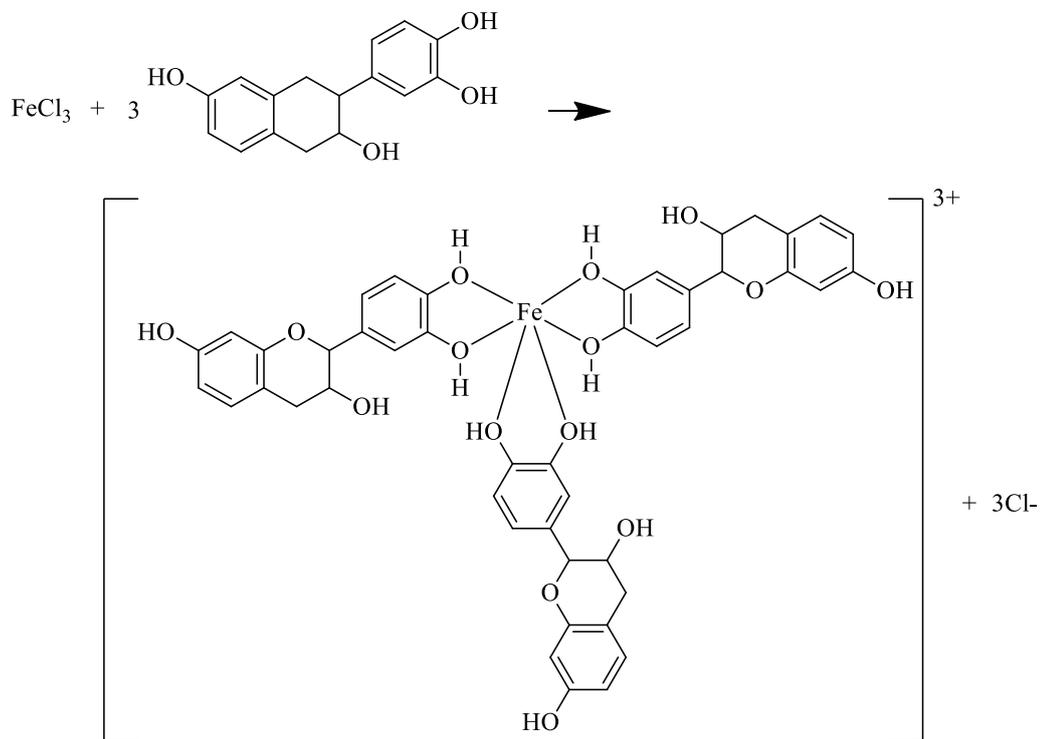
Gambar 4.1 Skrining fitokimia ekstrak sokhlet *Zibethinus folium*



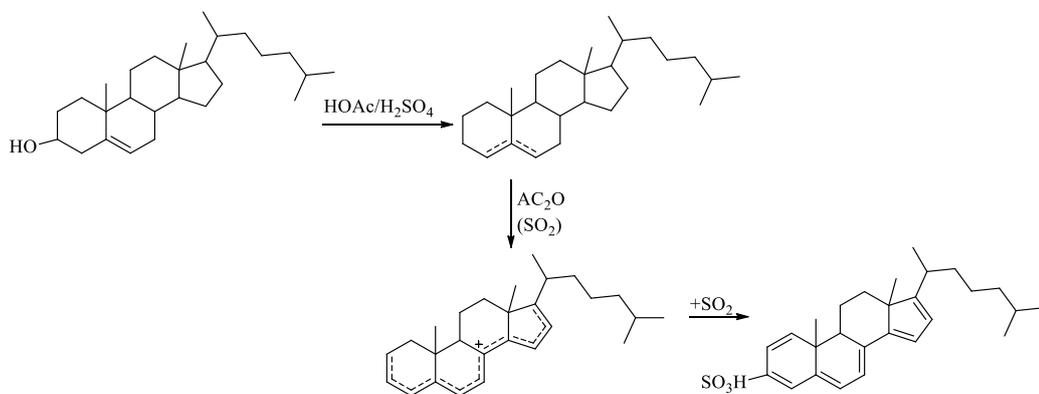
Gambar 4.2 Reaksi flavonoid dengan logam Mg dan Hcl (Ergina *et al.*, 2014)



Gambar 4.3 Reaksi saponin (Wardana & Tukiran, 2016)



Gambar 4.4 Reaksi tanin dengan FeCl_3 (Ergina *et al.*, 2014)



Gambar 4.5 Reaksi Steroid (Wardana & Tukiran, 2016)

4.1.7 Fraksinasi

Tabel IV.6 Hasil rendemen fraksi dari ekstrak sokhlet *Zibethinus folium*

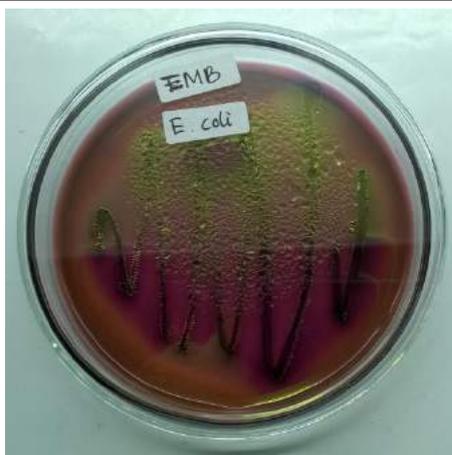
Sampel	Bobot	Rendemen
Fraksi <i>aqua destillata</i>	1,505 g	0,26 %
Fraksi etil asetat	2,125 g	0,36 %
Fraksi n-heksan	3,6 g	0,61 %

$$\text{Rumus (4.4) \% Rendemen} = \frac{\text{Bobot fraksi}}{\text{Bobot serbuk}} \times 100\% \quad (\text{Firdiyani et al., 2015})$$

4.1.8 Identifikasi *Escherichia coli*

Tabel IV.7 Hasil identifikasi *Escherichia coli*

Sampel	Hasil	Keterangan
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	+	Terbentuk kilap logam dan warna kehijauan pada media EMBA



Gambar 4.6 Identifikasi *Escherichia coli* ATCC 25922 pada media EMBA

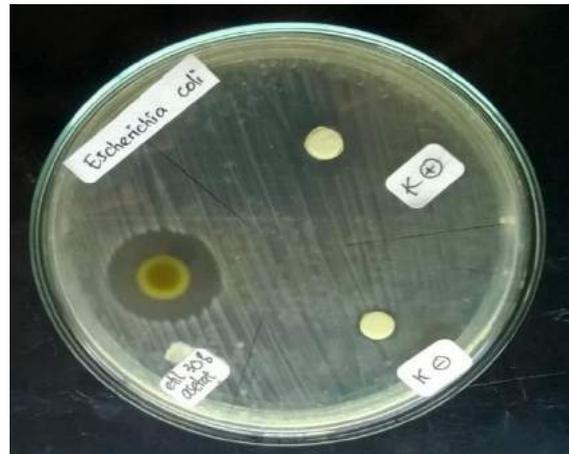
4.1.9 Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi *Zibethinus folium* Dari Ekstrak Sokhlet Terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922

Tabel IV.8 Diameter rata-rata zona hambat pertumbuhan *Escherichia coli*

Fraksi	Zona hambat (mm)			
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Rata-rata
<i>Aqua destillata</i> 30%	14	15,5	15,5	15
Etil asetat 30%	21,5	21	22,65	21,7
N-heksan 30%	19,5	20	18,5	19,3
Kontrol (+)	8	13,5	11	10,8
Kontrol (-)	0	0	0	0

Keterangan : Kontrol positif : Gel Klindamisin

Kontrol negatif : Tween 1%



Gambar 4.7 Diameter zona hambat fraksi etil asetat 30%

4.1.10 Evaluasi Gel

Tabel IV.9 Hasil evaluasi sediaan gel fraksi etil asetat 1%

No	Evaluasi	Hari Ke		
		1	14	28
1	Organoleptis			
	a. Bentuk	Semipadat	Semipadat	Semipadat
	b. Bau	Khas	Khas	Khas
	c. Warna	Hijau	Hijau	Hijau
2	pH	5	5	5
3	Homogenitas	Homogen	Homogen	Homogen
4	Daya sebar	3,82 cm	4,56 cm	3,92 cm
5	Daya lekat	1,23 detik	1 detik	1,17 detik
6	Daya proteksi			
	a. 15'	Noda merah	Noda merah	Noda merah
	b. 30'	Noda merah	Noda merah	Noda merah
	c. 60'	Noda merah	Noda merah	Noda merah
	d. 3"	Noda merah	Noda merah	Noda merah
	e. 5"	Noda merah	Noda merah	Noda merah

4.1.11 Uji Aktivitas Antibakteri Gel Fraksi Etil Asetat Terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922

Tabel IV.10 Diameter rata-rata zona hambat gel fraksi etil asetat 1% dari ekstrak sokhlet terhadap *Escherichia coli*

Sampel	Zona hambat (mm)			
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Rata-rata
Gel 1%	16	11	12,5	13,17
Kontrol (+)	11	11,5	11,5	11,3
Kontrol (-)	0	0	0	0



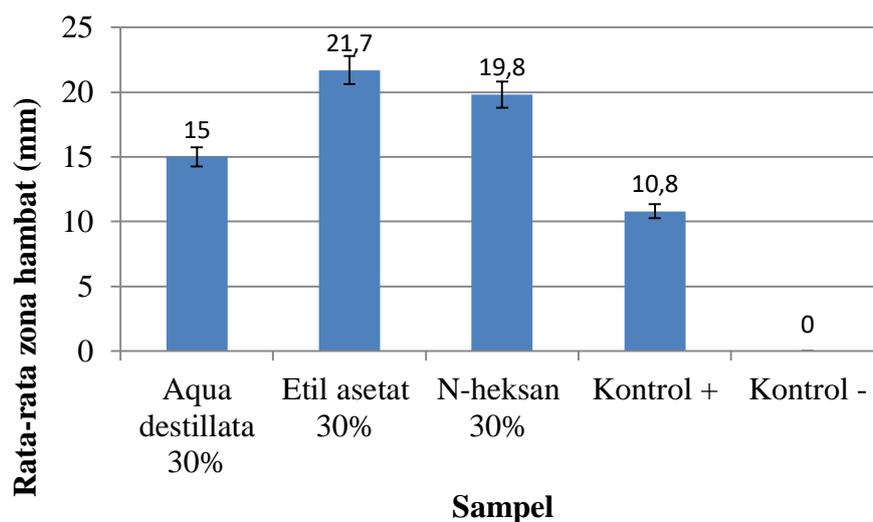
Gambar 4.8 Diameter zona hambat gel fraksi etil asetat 1%

4.2 Data Olahan Penelitian

4.2.1 Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi *Zibethinus folium* Dari Ekstrak Sokhlet

Tabel IV.11 Diameter rata-rata zona hambat pertumbuhan *Escherichia coli*

Fraksi	Rata-rata Zona hambat (mm) \pm SD
Aqua destillata 30%	15 \pm 0,87
Etil asetat 30%	21,7 \pm 0,85
N-heksan 30%	19,3 \pm 0,76
Kontrol (+)	10,8 \pm 2,75
Kontrol (-)	0,00 \pm 0,00



Gambar 4.9 Grafik diameter rata-rata zona hambat fraksi *Zibethinus folium*

Tabel IV.12 Analisa data diameter rata-rata zona hambat pertumbuhan *Escherichia coli*

Analisa Data	Metode	Sig.
Uji Normalitas	<i>Kolmogorov-Smirnov Test</i>	0,875
Uji Homogenitas	<i>Levene Statistic</i>	0,085
Analisa Hasil	<i>One-Way Anova</i>	0,000

Tabel IV.13 Hasil uji statistik *Post-Hoc* fraksi *Zibethinus folium*

Fraksi (I-J)	Sig.	Keterangan
<i>Aqua destillata</i> - etil asetat	0,000	Berbeda bermakna
<i>Aqua destillata</i> - n-heksan	0,003	Berbeda bermakna
Etil asetat - n-heksan	0,062	Tidak berbeda
<i>Aqua destillata</i> - kontrol positif	0,004	Berbeda bermakna
Etil asetat - kontrol positif	0,000	Berbeda bermakna
N-heksan - kontrol positif	0,000	Berbeda bermakna

Tabel IV.14 Hasil Uji *Two Sample T-Test* fraksi *Zibethinus folium*

Fraksi	P-value
<i>Aqua destillata</i> < n-heksan	0,001
<i>Aqua destillata</i> < etil asetat	0,004
N-heksan < etil asetat	0,018

4.2.2 Evaluasi Gel

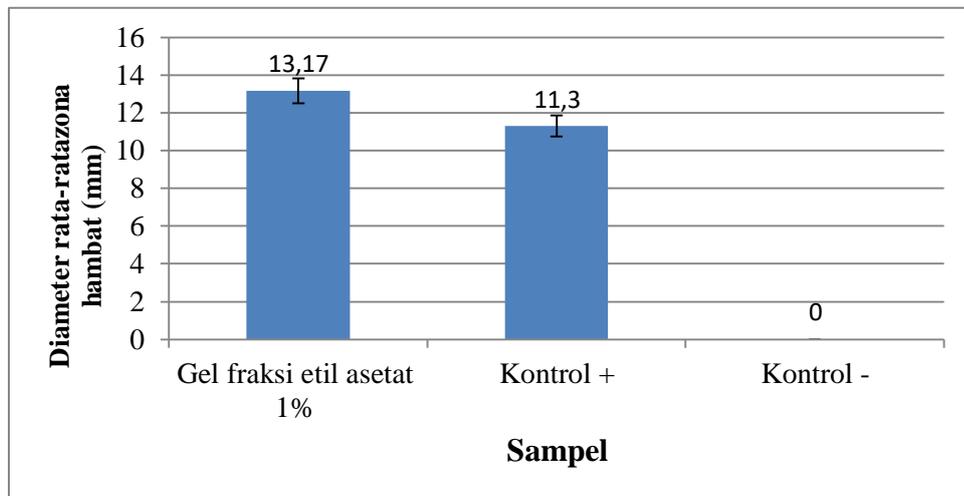
Tabel IV.15 Hasil evaluasi sediaan gel fraksi etil asetat 1% dari ekstrak sokhlet

Evaluasi	Hasil	Syarat
Organoleptis		
a. Bentuk	Semi padat	Semi padat (Stiani <i>et al.</i> , 2015)
b. Bau	Khas	Khas (Stiani <i>et al.</i> , 2015)
c. Warna	Hijau	Seperti bahan aktif (Stiani <i>et al.</i> , 2015)
pH	5,00 ± 0,00	4,5-6,5 (Yogesthinaga, 2016)
Homogenitas	Homogen	Homogen (Aponno <i>et al.</i> , 2014)
Daya sebar	4,1 ± 0,40 cm	3-5 cm (Yogesthinaga, 2016)
Daya lekat	1,13 ± 0,11 detik	>1 detik (Afianti & Murruckmihadi, 2015)
Daya proteksi	Noda merah	Tidak ada noda merah

4.2.3 Uji Aktivitas Antibakteri Gel Fraksi Etil Asetat 1%

Tabel IV.16 Diameter rata-rata zona hambat gel fraksi etil asetat dari ekstrak sokhlet terhadap *Escherichia coli*

Sampel	Rata-rata Zona hambat (mm) ± SD
Gel fraksi etil asetat 1%	13,17 ± 2,57
Kontrol (+)	11,3 ± 0,28
Kontrol (-)	0,00 ± 0,00



Gambar 4.10 Grafik diameter rata-rata zona hambat gel fraksi etil asetat 1%

Tabel IV.17 Analisa data diameter rata-rata zona hambat gel fraksi etil asetat terhadap *Escherichia coli*

Analisa Data	Metode	Sig.	
		Awal	Transformasi
Uji Normalitas	<i>Kolmogorov-Smirnov</i>	0,826	0,595
Uji Homogenitas	<i>Levene Statistic</i>	0,022	0,080
Analisa Hasil	<i>One-Way Anova</i>	0,000	0,282

Tabel IV.18 Hasil uji statistik *Post-Hoc* gel fraksi etil asetat 1%

Gel fraksi etil asetat (I-J)	Sig.	Keterangan
Gel – kontrol positif	0,183	Tidak berbeda
Gel – kontrol negatif	0,000	Berbeda bermakna
Kontrol positif – kontrol negatif	0,000	Berbeda bermakna

BAB V

PEMBAHASAN

Determinasi terhadap sampel daun durian (*Durio zibethinus* Murr) yang dilakukan di Materia Medica Batu yang hasilnya terdapat pada Lampiran 1, menunjukkan bahwa sampel yang digunakan yang berasal dari desa Sumberdadi Kecamatan Sumbergempol Kabupaten Tulungagung, Jawa Timur adalah benar daun durian (*Durio zibethinus* Murr).

Penetapan kadar air serbuk simplisia bertujuan untuk menjaga kualitas simplisia (Muhamad, 2014). Kadar air serbuk simplisia daun *Durio zibethinus* Murr yaitu 3,1%. Hasil tersebut sesuai dengan syarat kadar air simplisia dari BPOM yaitu kadar air serbuk simplisia kurang dari atau sama dengan 10% (BPOM, 2014). Kadar air simplisia yang lebih dari 10% dapat menjadi media pertumbuhan mikroorganismenya (Muhamad, 2014).

Uji susut pengeringan dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui jumlah senyawa yang hilang selama proses pengeringan (Depkes RI, 2000), namun apabila tumbuhan tidak mengandung minyak atsiri yang tinggi maka susut pengeringan menyatakan kandungan air yang menguap (Depkes RI, 1995). Susut pengeringan simplisia *Zibethinus folium* adalah 45%. Hal ini menunjukkan bahwa kandungan air *Zibethinus folium* menghilang sebesar 65%. Susut pengeringan terjadi karena hilangnya sebagian air dalam jaringan daun. Selama proses pengeringan terjadi penguapan air menuju udara karena adanya perbedaan antara kandungan uap air udara dengan daun (Utami *et al.*, 2015).

Penetapan rendemen ekstrak sokhlet *Zibethinus folium* dilakukan dengan membandingkan bobot ekstrak dengan bobot serbuk simplisia. Nilai rendemen ekstrak sokhlet *Zibethinus folium* adalah 1,9%, hal ini dikarenakan waktu ekstraksi dilakukan selama tiga jam. Faktor yang mempengaruhi nilai rendemen yaitu jenis pelarut yang digunakan, ukuran partikel, metode ekstraksi dan lamanya ekstraksi (Febrina *et al.*, 2015). Kecilnya nilai rendemen ekstrak sokhlet dipengaruhi oleh waktu ekstraksi (Bustan *et al.*, 2008)

Uji bebas etanol dilakukan untuk mengetahui bahwa ekstrak bebas dari etanol sehingga diperoleh ekstrak yang murni tanpa adanya kontaminasi, selain itu etanol mempunyai sifat antibakteri sehingga tidak akan menimbulkan reaksi positif palsu (Kuniawati, 2015). Hasil uji bebas etanol ekstrak sokhlet *Zibethinus folium* pada Tabel IV.4 menunjukkan bahwa tidak tercium bau ester yang berarti ekstrak sokhlet *Zibethinus folium* bebas dari kandungan etanol.

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi secara kualitatif kandungan golongan senyawa metabolit sekunder pada tanaman (Rahmadani, 2015). Hasil skrining fitokimia pada Tabel IV.5 diketahui bahwa ekstrak sokhlet dan fraksi etil asetat *Zibethinus folium* positif mengandung senyawa metabolit sekunder diantaranya flavonoid, saponin, tanin dan steroid. Berdasarkan hasil yang tertera pada Gambar 4.1, ekstrak sokhlet dan fraksi etil asetat *Zibethinus folium* positif mengandung flavonoid yang ditunjukkan dengan terbentuknya warna orange. Flavonoid menunjukkan hasil positif ditandai dengan terbentuknya warna orange (Aliyu *et al.*, 2014). Reaksi antara flavonoid dengan logam Mg dan Hcl ditunjukkan pada Gambar 4.2, pada reaksi tersebut terjadi reduksi inti benzopiron yang terdapat pada struktur flavonoid oleh logam Mg dan Hcl sehingga terbentuk perubahan warna dari merah menjadi jingga. Warna jingga terbentuk dari garam flavilium saat penambahan Mg dan Hcl jika dalam ekstrak tumbuhan terdapat senyawa flavonoid (Ergina *et al.*, 2014).

Pengujian saponin menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan terbentuknya busa stabil (Aliyu *et al.*, 2014) pada ekstrak *Zibethinus folium* dan fraksi etil asetat. Reaksi hidrolisis pada uji saponin ditunjukkan pada Gambar 4.3, reaksi hidrolisis saponin menjadi glikon dan aglikon menimbulkan terjadinya pembentukan busa yang stabil (Wardana & Tukiran, 2016).

Hasil positif tanin ditunjukkan oleh terbentuknya warna hijau. Warna hijau terbentuk dari reaksi tanin dan FeCl_3 yang membentuk senyawa kompleks dengan ion Fe^{3+} pada Gambar 4.4. Senyawa kompleks antara tanin dan FeCl_3 terbentuk karena tanin mempunyai atom O yang mempunyai pasangan elektron bebas yang bisa mengkoordinasikan ke atom pusat sebagai ligannya dan ion Fe^{3+} sebagai atom pusat (Ergina *et al.*, 2014).

Pengujian senyawa steroid menunjukkan warna hijau yang berarti positif mengandung steroid (Harborne, 2006). Berdasarkan Gambar 4.5, perubahan warna hijau pada uji steroid melalui pembentukan ikatan rangkap terkonjugasi karena oksidasi pada senyawa steroid (Setyowati *et al.*, 2014).

Fraksinasi dilakukan dengan tujuan memisahkan senyawa-senyawa berdasarkan tingkat kepolarannya (Harborne, 2006). Fraksinasi juga bertujuan untuk mendapatkan senyawa dengan kemurnian yang tinggi (Murrukmihadi, 2013). Hasil fraksinasi dari ekstrak sokhlet pada Tabel IV.6 diketahui bahwa fraksi *aqua destillata* dengan warna hijau diperoleh sebanyak 1,505 g dan rendemen 0,26%. Fraksi etil asetat dengan warna hijau pekat diperoleh sebanyak 2,125 g dan rendemen 0,35%. Fraksi n-heksan dengan warna hijau kehitaman diperoleh sebanyak 3,6 g dan rendemen 0,61%.

Identifikasi bakteri *Escherichia coli* dilakukan untuk memastikan kebenaran bakteri yang diperoleh menggunakan media diferensial EMBA. Hasil identifikasi *Escherichia coli* pada Tabel IV.7 dan Gambar 4.6, menunjukkan bahwa bakteri tersebut adalah benar *Escherichia coli* yang ditandai dengan terbentuknya warna hijau kilap logam. Media EMBA mengandung laktosa sehingga mampu membedakan golongan bakteri berdasarkan kemampuan dalam memfermentasi laktosa salah satunya adalah *Escherichia coli*. Bakteri *Escherichia coli* dapat memfermentasi laktosa dengan cepat dan memproduksi banyak asam sehingga dapat menghasilkan warna koloni hijau kilap logam (Brooks *et al.*, 2013).

5.1 Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Dari Ekstrak Sokhlet *Zibethinus folium* Terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922

Uji aktivitas antibakteri fraksi dari ekstrak sokhlet *Zibethinus folium* terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram. Pertimbangan penggunaan metode difusi cakram karena memiliki kelebihan mudah dalam interpretasi hasil, sederhana dan mudah dilakukan (Balouiri *et al.*, 2016). Uji antibakteri fraksi *aqua destillata*, fraksi etil asetat dan fraksi n-heksana dari ekstrak sokhlet *Zibethinus folium*

menggunakan konsentrasi 30%. Alasan digunakan konsentrasi 30% yaitu berdasarkan hasil orientasi yang telah dilakukan yang tertera pada Lampiran 10 dan Lampiran 13, ditunjukkan bahwa dari variasi konsentrasi 5%, 15%, 30% dan 45% yang menghasilkan zona hambat yang paling optimum adalah konsentrasi 30%. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi tidak menjamin semakin luasnya diameter zona hambat. Kenaikan diameter zona hambat tidak selalu sebanding dengan kenaikan konsentrasi antibakteri, hal ini terjadi karena kecepatan difusi senyawa antibakteri pada media agar yang berbeda, serta perbedaan jenis dan konsentrasi senyawa antibakteri memberikan perbedaan diameter daya hambat (Ariyanti *et al.*, 2012). Berdasarkan penelitian Febriyenti *et al.* (2014), menyatakan bahwa penurunan diameter daya hambat yang disebabkan oleh kenaikan konsentrasi merupakan penyebab terjadinya ikatan antar partikel meningkat, sehingga membentuk senyawa aktif dengan ukuran yang lebih besar dari sebelumnya. Molekul yang besar tidak mampu menembus pori-pori media agar sehingga senyawa aktif tidak dapat kontak langsung dengan bakteri yang menyebabkan ketidakmampuan merusak sel bakteri.

Berdasarkan hasil pengukuran diameter zona hambat pada Tabel IV.8, dapat diketahui bahwa fraksi *Zibethinus folium* dari ekstrak sokhlet menghasilkan diameter zona hambat yang berbeda. Menurut Pratiwi (2008), apabila diameter zona hambat kurang dari 5 mm maka aktivitas penghambatan dikategorikan lemah, diameter zona hambat 6-10 mm dikategorikan sedang, diameter 11-20 mm dikategorikan kuat dan jika diameter zona hambat lebih dari atau sama dengan 21 mm dikategorikan sangat kuat. Hasil penelitian pada Tabel IV.8, menunjukkan bahwa fraksi etil asetat 30% dari ekstrak sokhlet *Zibethinus folium* menghasilkan diameter zona hambat kategori sangat kuat sedangkan fraksi *aqua destillata* dan fraksi n-heksan menghasilkan diameter zona hambat kategori kuat. Hal ini menunjukkan bahwa fraksi yang paling efektif menghambat pertumbuhan bakteri adalah fraksi etil asetat. Aktivitas antibakteri fraksi *Zibethinus folium* dari ekstrak sokhlet didukung oleh penelitian Chigurupati *et al* (2017), yang menyatakan bahwa ekstrak daun durian memiliki aktivitas antibakteri yang berasal dari kandungan flavonoid yang tinggi, tanin, saponin dan steroid. Flavonoid dapat

menghambat sintesis asam nukleat dan aktivitas metabolisme bakteri. Menurut (Murtiwi, 2014), penghambatan sintesis asam nukleat menyebabkan rusaknya permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom dan lisosom. Ion hidroksil pada flavonoid menyebabkan perubahan komponen organik dan transport nutrisi sehingga menyebabkan toksisitas pada bakteri.

Senyawa tanin bersifat antibakteri karena mampu mendenaturasi protein sel sehingga aktivitas metabolisme dikatalisis oleh enzim yang merupakan suatu protein (Pelezar & Chan, 2008). Mekanisme antibakteri tanin yaitu zat astringent dapat menginduksi kompleksasi enzim dan substrat sehingga mengalami penghambatan, kompleksasi ion logam pada tanin dapat merusak membran sitoplasma bakteri, dan tanin telah terbukti mengganggu integritas membran dan menyebabkan kebocoran dari liposom (Murtiwi, 2014).

Mekanisme saponin dalam menghambat pertumbuhan bakteri adalah berinteraksi dengan membran sterol. Saponin menyebabkan pelepasan protein dan enzim dari dalam sel (Maradona, 2013). Senyawa steroid memiliki sifat antibakteri yang disebabkan oleh korelasi antara membran lipid, dan sensitivitas senyawa steroid menunjukkan mekanisme dimana steroid menyebabkan kebocoran liposom dan protein dari dalam sel (Shihabudeen *et al.*, 2010).

Fraksi etil asetat dari ekstrak sokhlet mempunyai zona hambat paling luas dibandingkan dengan fraksi *aqua destillata* dan fraksi n-heksan yang berarti bahwa fraksi etil asetat merupakan fraksi yang paling aktif menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Fraksi etil asetat merupakan fraksi semi polar. Fraksi semi polar secara umum adalah agen antibakteri paling kuat daripada fraksi yang lebih polar dan non polar, dan fraksi etil asetat terbukti paling ampuh sebagai antibakteri (Ahmed *et al.*, 2015). Tinggi rendahnya senyawa atau zat aktif yang terkandung dalam fraksi etil asetat berpengaruh terhadap besarnya diameter zona hambat yang terbentuk (Purwanto, 2015). Hal ini menunjukkan bahwa dalam fraksi etil asetat dari ekstrak sokhlet *Zibethinus folium* mengandung senyawa flavonoid, saponin, tanin dan steroid. Hal ini telah dibuktikan oleh hasil skrining fitokimia yang menunjukkan bahwa fraksi etil asetat positif mengandung senyawa flavonoid, tanin, saponin dan steroid. Hal ini didukung oleh penelitian yang

dilakukan oleh Aliyu *et al.* (2014), yang menyatakan bahwa fraksi etil asetat mengandung flavonoid, tanin dan steroid.

Kontrol positif yang digunakan adalah gel klindamisin. Kontrol positif menunjukkan diameter zona hambat yang lebih kecil daripada fraksi dari ekstrak sokhlet *Zibethinus folium*. Gel klindamisin bersifat mudah larut dalam air yang berarti bersifat polar (Depkes RI, 1995). Bakteri gram negatif mengandung lipid yang tinggi, sedikit peptidoglikan, membran luar berupa *bilayer*. Membran luar terdiri dari lapisan dalam berupa fosfolipid dan lapisan luar berupa lipoposakarida yang tersusun atas lipid A yang bersifat nonpolar. Hal ini menyebabkan zat antibakteri sulit menembus ke dalam dinding sel bakteri (Sudewi & Lolo, 2016) sehingga menyebabkan aktivitas antibakteri gel klindamisin lebih lemah daripada fraksi dari ekstrak sokhlet *Zibethinus folium*.

Kontrol negatif yang digunakan adalah tween 1%. Tween berfungsi sebagai agen pensuspensi yang dapat meningkatkan kelarutan fraksi (Aulifa *et al.*, 2015). Kontrol negatif tidak memberikan diameter zona hambat terhadap bakteri *Escherichia coli* yang dapat dilihat pada Gambar 4.3. Hal ini menunjukkan bahwa diameter zona hambat yang dihasilkan adalah murni berasal dari fraksi etil asetat 30%.

Data dalam penelitian ini dianalisis secara statistik menggunakan *One Way Anova* dikarenakan hanya satu variabel yang diuji yaitu fraksi dari ekstrak sokhlet *Zibethinus folium*. Syarat dalam uji *One Way Anova* adalah data yang digunakan harus terdistribusi normal dan memiliki varian yang sama. Uji normalitas dilakukan menggunakan *Kolmogorov-Smirnov* dan uji homogenitas dengan *Levene statistic* menggunakan SPSS versi 16 (Yamin & Kurniawan, 2014). Berdasarkan hasil uji normalitas pada Tabel IV.12, diketahui bahwa data zona hambat terdistribusi normal. Hal ini dibuktikan dari nilai sig. $0,826 > 0,05$ yang berarti hipotesa nol (H_0) diterima sehingga membuktikan bahwa data terdistribusi normal. Uji homogenitas pada Tabel IV.12, diketahui bahwa data memiliki varian yang sama yang dibuktikan oleh nilai sig. $0,022 > 0,05$ yang berarti H_0 diterima yang berarti data telah homogen. Pengujian data dilanjutkan dengan uji *One Way Anova*. Berdasarkan uji *One Way Anova* pada Tabel IV.12,

diketahui bahwa nilai sig. $0,000 < 0,05$ sehingga hipotesa nol (H_0) ditolak dan hipotesa 1 (H_1) diterima, yang berarti bahwa ketiga fraksi dari ekstrak sokhlet *Zibethinus folium* yaitu fraksi *aqua destillata*, fraksi etil asetat, fraksi n-heksan dan kontrol positif serta kontrol negatif memiliki diameter zona hambat yang berbeda.

Perbedaan daya hambat dari ketiga fraksi dari ekstrak sokhlet *Zibethinus folium* dan kedua kontrol secara lebih spesifik dapat diketahui dengan melakukan uji *Post-Hoc* (Wulandari, 2017). Berdasarkan uji *Post-Hoc* pada Tabel IV.13, diketahui bahwa antara fraksi *aqua destillata* dan fraksi etil asetat dengan nilai sig. $0,000 < 0,05$ yang berarti berbeda bermakna. Hal ini menunjukkan bahwa fraksi *aqua destillata* dan fraksi etil asetat telah menunjukkan daya hambat yang berbeda terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Fraksi *aqua destillata* dan fraksi n-heksan dengan nilai sig. $0,003 < 0,05$ menunjukkan perbedaan bermakna. Hal ini berarti fraksi *aqua destillata* dan fraksi n-heksan menunjukkan daya hambat yang berbeda terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*, sedangkan antara fraksi etil asetat dan fraksi n-heksan dengan nilai sig. $0,062 > 0,05$ yang berarti tidak memiliki perbedaan bermakna. Hal ini menunjukkan bahwa daya hambat fraksi fraksi etil asetat dan fraksi n-heksan terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* tidak berbeda. Fraksi *aqua destillata* dengan kontrol positif menunjukkan nilai sig. $0,004 < 0,05$ yang berarti berbeda bermakna. Hal ini menunjukkan bahwa daya hambat antara fraksi *aqua destillata* dengan kontrol positif memiliki perbedaan. Fraksi etil asetat dan fraksi n-heksan dengan kontrol positif menunjukkan nilai sig. $0,000 < 0,05$ yang berarti berbeda bermakna sehingga daya hambat antara kontrol positif dengan ketiga fraksi memiliki perbedaan.

Hasil dari uji anova tidak dapat menguji hipotesis fraksi dari *Zibethinus folium* yang paling efektif, sehingga dilakukan uji *Two-Sample T-Test* menggunakan program minitab versi 16 untuk mengetahui aktivitas antibakteri fraksi yang paling efektif. Berdasarkan hasil uji *Two Sample T-Test* pada Tabel IV.14, diketahui bahwa antara fraksi *aqua destillata* dan fraksi n-heksan menghasilkan P-value $0,001 < 0,05$ yang berarti H_0 ditolak sehingga

menunjukkan fraksi n-heksan lebih efektif daripada fraksi *aqua destillata*. Fraksi *aqua destillata* jika dibandingkan dengan fraksi etil asetat menghasilkan P-value $0,004 < 0,05$ yang berarti fraksi etil asetat lebih efektif daripada fraksi *aqua destillata*. Fraksi n-heksan dibandingkan dengan fraksi etil asetat menghasilkan P-value $0,018 < 0,05$ yang berarti fraksi etil asetat lebih efektif daripada fraksi n-heksan. Hal ini menunjukkan bahwa fraksi yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* adalah fraksi etil asetat.

Fraksi paling efektif dari ekstrak sokhlet *Zibethinus folium* yaitu fraksi etil asetat selanjutnya dilakukan formulasi gel dengan basis karbopol. Konsentrasi gel yang di formulasi adalah 1% kemudian dilakukan evaluasi dan uji aktivitas antibakteri gel fraksi etil asetat terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

5.2 Evaluasi Gel

Uji organoleptis dilakukan terkait dengan penerimaan terhadap sediaan (Wulandari, 2015). Berdasarkan data pada Tabel IV.15 ditunjukkan bahwa gel fraksi etil asetat mempunyai bentuk semi padat, warna hijau dan bau khas. Warna hijau berasal dari warna fraksi etil asetat yang ditunjukkan oleh perubahan warna basis dari bening menjadi hijau. Bau gel yang khas berasal dari bau fraksi etil asetat 1%. Hal ini dikarenakan tidak dilakukan penambahan pewangi pada sediaan gel. Hal ini menunjukkan bahwa secara organoleptis sediaan gel fraksi etil asetat telah memenuhi persyaratan sediaan topikal yaitu berbentuk semi padat, berwarna dan berbau seperti bahan aktif (Stiani *et al.*, 2015)

Uji pH dilakukan dengan tujuan mengetahui tingkat keasaman gel untuk menjamin sediaan tidak menyebabkan iritasi pada kulit (Mappa *et al.*, 2013). Menurut Yogesthinaga (2016), pH sediaan topikal harus sesuai dengan pH kulit yaitu 4,5-6,5 agar tidak mengiritasi kulit. Berdasarkan data hasil penetapan pH pada Tabel IV.15 diketahui bahwa pH sediaan gel yaitu $5,00 \pm 0,00$. Hal ini menunjukkan bahwa pH sediaan gel fraksi etil asetat telah memenuhi persyaratan. Nilai pH merupakan salah satu parameter penting yang dapat menentukan stabilitas suatu sediaan. Perubahan nilai pH menunjukkan stabil atau tidaknya

suatu sediaan (Annisa, 2017). Hal ini berarti sediaan gel fraksi etil asetat telah stabil yang ditandai oleh nilai pH yang stabil.

Uji homogenitas bertujuan untuk mengetahui ketercampuran bahan-bahan sediaan gel yang menunjukkan susunan yang homogen (Aponno *et al.*, 2014). Hasil uji homogenitas pada Tabel IV.15 menunjukkan bahwa gel fraksi etil asetat homogen yang ditandai dengan tidak terdapat butiran kasar. Hal ini sesuai dengan persyaratan homogenitas gel yaitu tidak adanya butiran kasar (Mappa *et al.*, 2013).

Uji daya sebar dilakukan untuk mengetahui bahwa sediaan gel mudah diaplikasikan pada kulit. Daya sebar sediaan gel yang baik adalah 3-5 cm karena daya sebar yang terlalu lebar dapat mengurangi estetika sediaan dan menimbulkan ketidaknyamanan pada pemakaian (Yogesthinaga, 2016). Berdasarkan hasil yang ditunjukkan pada Tabel IV.15, gel fraksi etil asetat mempunyai daya sebar 4,1 cm yang berarti mempunyai daya sebar yang baik. Sediaan gel antibakteri mempunyai area kerja spesifik sehingga mempunyai daya sebar yang kecil, jika daya sebar terlalu besar maka mengurangi kenyamanan dalam penggunaan (Yogesthinaga, 2016).

Uji daya lekat bertujuan untuk mengetahui seberapa besar kemampuan gel melekat pada kulit dalam waktu tertentu sehingga dapat berfungsi secara maksimal pada penghantaran bahan aktifnya, tidak ada persyaratan khusus terkait daya lekat sediaan semi padat, namun daya lekat sediaan semi padat sebaiknya lebih dari 1 detik (Afianti & Murrukmihadi, 2015). Berdasarkan hasil pada Tabel IV.15, diketahui bahwa daya lekat gel fraksi etil asetat adalah $1,13 \pm 0,11$ detik. Hal ini menunjukkan bahwa gel fraksi etil asetat memiliki daya lekat yang baik.

Uji daya proteksi dilakukan untuk mengetahui kekuatan sediaan gel dalam menjaga kestabilan. Larutan KOH digunakan sebagai agen intervensi yang akan berubah warna menjadi merah terhadap indikator *phenolptialein*. Perubahan warna menunjukkan sediaan tidak dapat memberikan proteksi terhadap kestabilannya. Semakin lama perubahan warna yang terjadi maka semakin besar daya proteksi (Stiani *et al.*, 2015). Berdasarkan hasil pada Tabel IV.15, gel fraksi etil asetat tidak memberikan proteksi yang ditunjukkan oleh adanya noda merah.

5.3 Uji Aktivitas Antibakteri Gel Fraksi Etil Asetat Dari Ekstrak Sokhlet *Zibethinus folium* Terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922

Pengujian antibakteri gel fraksi etil asetat 1% dari ekstrak sokhlet dilakukan menggunakan metode difusi cakram. Aktivitas antibakteri ditunjukkan oleh adanya zona hambat yang tertera pada Gambar 4.8. Zona hambat adalah zona bening yang terbentuk disekitar kertas cakram yang merupakan hasil dari senyawa yang terlarut kemudian berdifusi pada media *Nutrient agar* sehingga senyawa dari gel fraksi etil asetat menyebar keluar (Astutiningrum, 2016). Konsentrasi gel fraksi etil asetat 30% dari ekstrak sokhlet *Zibethinus folium* yang digunakan adalah 1% dikarenakan berdasarkan hasil orientasi pada Lampiran 10, diketahui bahwa dari variasi konsentrasi 0,1%, 0,3%, 0,5% dan 1% yang menunjukkan zona hambat paling optimum adalah konsentrasi 1%.

Berdasarkan data penelitian pada Tabel IV.16, diketahui bahwa diameter rata-rata zona hambat gel fraksi etil asetat 1% dari ekstrak sokhlet *Zibethinus folium* sebesar $13,17 \pm 2,57$ mm. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri gel fraksi etil asetat tergolong kuat. Formulasi gel fraksi etil asetat menggunakan karbopol sebagai *gelling agent* dan propilen glikol yang berfungsi sebagai humektan yang dapat menjaga stabilitas sediaan gel dengan cara mengabsorpsi kelembaban dari lingkungan dan mengurangi penguapan air dari sediaan. Metil paraben dan propil paraben digunakan sebagai pengawet karena sediaan gel memiliki kandungan air yang tinggi sehingga menyebabkan terjadinya kontaminasi mikroba (Saptana *et al.*, 2015). Formula gel tanpa fraksi etil asetat atau kontrol negatif pada gambar 4.5 diketahui bahwa tidak menunjukkan adanya diameter zona hambat sehingga dapat disimpulkan bahwa seluruh bahan kecuali fraksi etil asetat tidak menghasilkan aktivitas antibakteri. Hal ini menunjukkan bahwa zona hambat yang dihasilkan oleh sediaan gel berasal dari aktivitas antibakteri fraksi etil asetat dari ekstrak sokhlet *Zibethinus folium*.

Diameter zona hambat gel fraksi etil asetat lebih rendah jika dibandingkan dengan fraksi etil asetat 30%. Hal ini disebabkan oleh proses difusi dari gel fraksi etil asetat yang terhambat karena karbopol yang menyebabkan sediaan menjadi lebih kental, sehingga difusi zat aktif lebih sukar terjadi yang mengakibatkan

aktivitas antibakteri menjadi menurun (Murrukmihadi, 2013). Penurunan kecepatan difusi dapat menurunkan mobilitas zat aktif sehingga zat yang terlepas berkurang (Melani *et al.*, 2005). Penyebab lain dari daya hambat gel fraksi etil asetat 1% lebih rendah adalah dipengaruhi oleh sifat kepolaran dari bahan tambahan yang berbeda dengan bahan aktif. Bahan tambahan dari gel fraksi etil asetat yaitu karbopol, propilenglikol, EDTA, TEA, metil paraben dan propil paraben bersifat polar (Rowe, 2009), sedangkan fraksi etil asetat bersifat semi polar sehingga berpengaruh terhadap tingkat kelarutan yang tidak semudah jika semua bahan bersifat polar. Tingkat kelarutan yang tinggi dapat memudahkan pelepasan bahan obat dari basis sehingga berpengaruh terhadap efektivitasnya (Melani *et al.*, 2005).

Sifat kepolaran yang berbeda dari bahan aktif yaitu fraksi etil asetat dengan bahan tambahan gel juga dapat mempengaruhi kecepatan absorpsi bahan aktif. Sifat kepolaran senyawa atau kandungan bahan aktif merupakan penentu dari mudah tidaknya absorpsi senyawa tersebut ke dalam sel. Bahan aktif yang mempunyai tingkat kelarutan yang lebih tinggi pada pelarut polar dapat menembus lapisan fosfolipid membran sel dengan mudah, sehingga fungsi fisiologis bakteri akan cepat terganggu yang akan mengakibatkan kematian sel bakteri. Hal ini terjadi karena bahan aktif tersebut menghalangi sintesis dinding sel bakteri, membran sitoplasma, sintesis protein dan sintesis asam nukleat yang merupakan komponen dari sel bakteri (Purwanto, 2015).

Data diameter rata-rata zona hambat gel fraksi etil asetat dilakukan uji normalitas menggunakan *Kolmogorov-Smirnov* untuk melihat normalitas distribusi data (Yamin & Kurniawan, 2014). Berdasarkan uji secara statistik pada Tabel IV.17, menunjukkan bahwa data terdistribusi normal yang dibuktikan oleh nilai sig. $0,826 > 0,05$ sehingga H_0 diterima yang berarti data terdistribusi normal. Kesamaan varian data diketahui dengan dilakukan uji homogenitas menggunakan *Levene statistic*. Hasil uji homogenitas menunjukkan bahwa data memiliki varian yang berbeda dengan nilai sig. $0,022 < 0,05$ sehingga H_0 ditolak dan H_1 diterima yang berarti data tidak homogen. Data yang tidak homogen diperlukan transformasi jenis data dependen dalam bentuk logaritmik untuk melanjutkan

analisis (Sujarweni, 2012). Hasil transformasi logaritmik uji homogenitas adalah sig. $0,080 > 0,05$ yang berarti H_0 diterima sehingga data telah homogen. Pengujian data dapat dilanjutkan dengan uji *One Way Anova* yang dapat dilihat pada Tabel IV.17. Berdasarkan uji *One Way Anova*, diketahui bahwa nilai sig. $0,282 > 0,05$ sehingga hipotesis nol (H_0) diterima yang berarti gel fraksi etil asetat 1% dan kedua kontrol tidak berbeda bermakna daya hambatnya terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* secara statistik. Penentuan perbedaan daya hambat secara lebih spesifik dapat dilakukan dengan uji *Post-Hoc* (Wulandari, 2017).

Berdasarkan uji *Post-Hoc* pada Tabel IV.18, diketahui bahwa gel fraksi etil asetat 1% dan kontrol positif dengan nilai sig. $0,183 > 0,05$ yang berarti antara gel fraksi etil asetat 1% dengan kontrol positif tidak berbeda bermakna. Hal ini menunjukkan bahwa gel fraksi etil asetat 1% dan kontrol positif memiliki daya hambat yang tidak berbeda terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Gel fraksi etil asetat 1% dan kontrol negatif menunjukkan nilai sig. $0,000 < 0,05$ sehingga antara gel fraksi etil asetat 1% dengan kontrol negatif berbeda bermakna. Hal ini menunjukkan bahwa gel fraksi etil asetat 1% dengan kontrol negatif menimbulkan daya hambat yang berbeda terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

1. Fraksi dari ekstrak sokhlet *Zibethinus folium* memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* secara *in vitro* yang ditunjukkan oleh adanya daya hambat.
2. Fraksi terbaik dari ekstrak sokhlet *Zibethinus folium* sebagai antibakteri *Escherichia coli* secara *in vitro* adalah fraksi etil asetat dengan diameter rata-rata zona hambat sebesar $21,7 \pm 0,85$ mm yang tergolong sangat kuat.
3. Gel fraksi etil asetat dari ekstrak sokhlet stabil selama penyimpanan yang ditandai dengan evaluasi sediaan yang memenuhi persyaratan dan memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dengan diameter rata-rata zona hambat $13,17 \pm 2,57$ mm yang tergolong kuat.

6.2 Saran

Sebaiknya dilakukan isolasi senyawa aktif dari *Zibethinus folium* dengan kromatografi kolom dan dilakukan pengujian antibakteri terhadap bakteri selain *Escherichia coli*.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed *et al.*, 2015. Antimicrobial Activities Of Methanolic Extract of *Carissa paca* Roots and Its Fractions and Compounds Isolated From The Most Active Ethyl Acetate Fraction. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 5(7), pp.541-45.
- Afianti & Murrukmihadi, 2015. Influence Of Variation Levels HPMC As Gelling Agent Againsts Physical Properties and Antibacterial Activity of Preparation Gel Ethanolic Extract Of Basil Leaves (*Ocimum basilicum* L. *forma citratum* Back.). *Majalah Farmaseutik*, 11(2), pp.207-215.
- Afrilyanti, 2015. Pengaruh Gel Anti Jerawat Dari Ekstrak Daun Pepaya dan Daun Binahong Terhadap Konsumen untuk Meringankan Jerawat. *SKRIPSI Fakultas Teknik Universitas Negeri Semarang*, pp.1-104.
- Aliyu, Musa, Kamal, M.J. & Mohammed, M.G., 2014. Phytochemical screening and Anticonvulsant studies of ethyl acetate fraction of *Globimetula braunii* on laboratory animals. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 4(4), pp.285-89.
- Annisa, 2017. Formulasi dan Uji Stabilitas Fisika-Kimia Sediaan Gel Etil P-Metoksisinamat Dari Rimpang Kencur (*Kaempferia Galanga* Linn.). *Skripsi.Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Jakarta*, pp.1-108.
- Ansel, 2005. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi. Edisi Keempat*. Jakarta: UI Press.
- Aparna, Gayathri, Kumari & Pravalika, 2016. Formulation and Evaluation of Anti-Microbial Herbal Gel Of *Curcumin* and *Nyctanthes abor tritis* Leaves Extract. *World Journal Of Pharmacy And Pharmaceutical Sciences*, 5(6), pp.1718-29.
- Aponno, Yamlean & Supriati, 2014. Uji Efektivitas Sediaan Gel Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* Linn) Terhadap Penyembuhan Luka Yang Terinfeksi Bakteri *Staphylococcus aureus* Pada Kelinci (*Oryctolagus cuniculus*). *Pharmakon*, 3(3), pp.279-86.
- Ariyanti, Darmayasa & Sudirga, 2012. The Inhibition Of Aloe (*Aloe barbadensis* Miller) Rind Extract To The Growth Of Bacteria *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 And *Escherichia coli* ATCC 25922. *Jurnal Biologi*, 16(1), pp.1-4.
- Astutiningrum, 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara *In-Vitro*. *Skripsi. Program Studi Pendidikan Biologi Universitas Sanata Dharma*, pp.1-126.
- Atlas, R.M., 2010. *Handbook of Microbiological Media*. 4th ed. Washington, D.C.: CRC Press.

- Bakri, 2015. Deteksi Keberadaan Bakteri *Escherichia coli* O157:H7 Pada Feses Penderita Diare Dengan Metode Kultur Dan PCR. *JST Kes*, 5, pp.184-92.
- Balouiri, Sadiki & Ibsouda, 2016. Methods for In Vitro Evaluating Antimicrobial Activity: A Review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6, pp.71-79.
- Bhalekar, Madgulkar & Kadam, 2015. Evaluation of Gelling Agents For Clindamycin Phosphate Gel. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4(7), pp.1-12.
- BPOM, 2014. *Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 12 Tahun 2014 Tentang Persyaratan Mutu Obat Tradisional*. Jakarta: BPOM RI.
- Brooks, M. *et al.*, 2013. *Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology Twenty-Sixth Edition*. United States: McGraw-Hill Companies, Inc, pp. 43, 295-296.
- Bustan, M.D., Febriyani, R. & Pakpahan, H., 2008. Pengaruh Waktu Ekstraksi Dan Ukuran Partikel Terhadap Berat Oleoresin Jahe yang Diperoleh Dalam Berbagai Jumlah Pelarut Organik (Methanol). *Jurnal Teknik Kimia*, 4(15), pp.16-26.
- Cania Eka & Setyaningrum Endah, 2013. Uji Efektivitas Lavarsida Ekstrak Daun Legundi (*Vitex trifolia*) Terhadap Larva Aedes Aegypti. *Medical Journal of Lampung University*, 2(4), pp.52-60.
- Chigurupati *et al.*, 2017. Quantitative Estimation And Antimicrobial Potential Of Ethanol Extract Of *Durio zibethinus* Murr. Leaves. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 10(9), pp.251-54.
- Depkes RI, 1995. *Farmakope Indonesia IV*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Depkes RI, 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Direktorat Pengawasan Obat Tradisional.
- Dewantari, D.R. & Sugihartini, N., 2015. Formulasi dan Uji Aktivitas Gel Ekstrak Daun Petai Cina (*Leucaena glauca*, Benth) Sebagai Sediaan Obat Luka Bakar. *Farmasains*, 2(5), pp.217-22.
- El-Tanboly, E.E., 2001. The Beta-galactosidase System of A Novel Plant From Durian Seeds (*Durio zibethinus* L.) Isolation and Partial Characterization. *Pak J Biol Sci*, 4, pp.1531-34.
- Ergina, Nuryanti, S. & Pursitasari, I.D., 2014. Qualitative Test of Secondary Metabolites Compounds in Palado Leaves (*Agave Angustifolia*) Extracted With Water and Ethanol. *Jurnal Akademika Kimia*, 3(3), pp.165-72.
- Febrina, Rusli & Muflihah, 2015. Optimalisasi Ekstraksi dan Uji Metabolit Sekunder Tumbuhan Libo (*Ficus variegata* BLume). *J. Trop. Pharm. Chem*, 3(2), pp.74-81.

- Febriyenti, Sari, L.I. & Nofita, R., 2014. Formulation of Ylang-Ylang Oil Transparents Soaps and Effectivity Test on Bacterium Caused of Acnes. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 1(1), pp.61-71.
- Firdiyani, Agustini & Ma'ruf. 2015. Extraction of Bioactive Compounds as Natural Antioxidants from Fresh Spirulina plantesis using Different Solvents. *JPHPI*, 18(1), pp. 28-37.
- Fujiastuti & Sugihartini, 2015. Sifat Fisik dan Daya Iritasi Gel Ekstrak Etanol Herba Pegagan (*Centella asiatica* L.) dengan Variasi Jenis Gelling Agent. *PHARMACY*, 12(1), pp.11-20.
- Ghazali, I., 2011. *Aplikasi Analisis Multivariate Dengan Program SPSS19*. Semarang: BP Universitas Diponegoro.
- Giske, CG., Gniadkowski, M., Miriagou, V., Nordmann, P., Poirel, L., Woodford, N. 2012. Identification and Screening of Carbapenemase-Producing *Enterobacteriaceae*. *Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 18 (5). pp.432-438
- Godstime, Enwa, F., Augustina & Christopher, 2014. Mechanisms of Antimicrobial Actions of Phytochemicals against Enteric Pathogens - A Review. *Journal of Pharmaceutical, Chemical and Biological Sciences*, 2(2), pp.77-85.
- Handa, Khanuja, Longo & Rakesh, 2008. *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants*. Italy: International Centre For Science and High Technology, pp. 22, 81-93.
- Hanny, 2014. Studi Praformulasi Ekstrak Etanol 50% Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.). *Skripsi. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Jakarta*.
- Harborne, 2006. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan Terbitan Kedua*. Bandung: Penerbit ITB, pp. 7-8, 102, 149.
- Haruenkit, R. *et al.*, 2010. Comparison of Bioactive Compounds, Antioxidant and Anti-poliferative Activities of Mon Thong Durian During Ripening. *Food Chemistry*, 118, pp.540-47.
- Hättenschwiler & Vitousek, 2000. The Role of Polyphenols in Terrestrial Ecosystem Nutrient Cycling. *Trends Ecol Evol*, 15(1), pp.238-43.
- Heinrich, 2004. *Fundamental of Pharmacognosy and Phytotherapi*. Hungary: Elsevier.
- Helal *et al.*, 2012. Formulation and Evaluation Of Fluconazole Topical Gel. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4, pp.176-83.
- Hendra *et al.*, 2011. Flavonoid Analyses and Antimicrobial Activity of Various Parts of *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl Fruit. *Int. J. Mol. Sci.* , 12, pp.3422-31.

- Ho, L.-H. & Bhat, R., 2014. Exploring The Potential Nutraceutical Values of Durian (*Durio zibethinus* L.) – An Exotic Tropical Fruit. *Food Chemistry*, 168, pp.80-89.
- Inartiyah et al., 2011. *Pedoman Teknologi Penanganan Pascapanen Tanaman Obat*. Jakarta: Direktorat Budidaya dan Pascapanen Sayuran dan Tanaman Obat, pp. 35-40, 42, 46.
- Insanu, M., Ruslan, K., Fidrianny, I. & Wijaya, S., 2011. Isolasi Flavonoid dari Daun Durian (*Durio Zibethinus* Murr., Bombacaceae). *Acta Pharmaceutica Indonesia*, 34(1 & 2), pp.6-10.
- Isnawati, A., Raini, M. & Alegantina, S., 2006. Standarisasi Simplisia dan Ekstrak Etanol Daun Sembung (*Blumea balsamifera* (L)) dari Tiga Tempat Tumbuh. *Media Litbang Kesehatan*, XVI(2), pp.1-6.
- Jayaprakash & Nagarajan, 2016. Studies on The Bioactive Compounds and Antimicrobial Activities of Medicinal Plant *Centella asiatica* (Linn). *Journal of Medicinal Plants Studies*, 4(5), pp.181-185.
- Jawetz, Melnick & Adelberg's, 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta : Salemba Medika.
- Kandoli, F., Abijulu, J. & Leman, M., 2016. Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Durian (*Durio zybethinus*) Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans* Secara In Vitro. *PHARMACON*, 5(1), pp.46-52.
- Kar, A., 2008. *Pharmaceutical Microbiology*. New Delhi: New Age International (P) Ltd, Publisher.
- Kaur & Guleri, 2013. Topical Gel: A Recent Approach for Novel Drug Delivery. *Asian Journal of Biomedical & Pharmaceutical Sciences*, 3(17), pp.1-5.
- Kuniawati, 2015. Antibacterial Activity The Bambu Apus Shoot of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* In Vitro. *Jurnal Wiyata*, 2(2), pp.193-99.
- Lestari, S., Fitmawati & Wahibah, N.N., 2011. Diversity of Durian (*Durio zibethinus* Murr.) in Bengkalis Island based on morphological characters. *Buletin Kebun Raya*, 14(2), pp.29-44.
- Lüllmann, M.D., Albrecht Ziegler, P.D., Klaus Mohr, M.D. & Detlef Bieger, M.D., 2000. *Color Atlas of Pharmacology. 2nd Edition, Revised and Expanded*. New York: Thieme Stuttgart.
- Maalik, A. et al., 2014. Pharmacological Applications of Quercetin and its Derivatives: A Short Review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 13(9), pp.1561-66.
- Malinda, Fatimawali & Yudistira, 2013. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Paku Sisik Naga (*Drymoglossum piloselloides* L.Presl) Terhadap Peroksidasi Lipid Hati Pada Tikus Jantan Galur Wistar yang Diinduksi CCl4. *Pharmacon Jurnal Ilmiah Farmasi*, 2(2), pp.72-75.

- Manoharan, 2013. Synergistic Activity of Chloroform Extract of *Durio zibethinus* Wood Bark With Penicillin G Against *Staphylococcus aureus*. *Int J Biol Med Res*, 4(2), pp.3025- 3027.
- Mappa, Edy & Kojong. 2013. Formulasi Gel Ekstrak Daun Sasaladahan (*Peperomia pellucida* (L.) H.B.K) dan Uji Efektivitasnya Terhadap Luka Bakar Pada Kelinci (*Oryctolagus Cuniculus*). *PHARMACON*, 2(2), pp. 49-55.
- Maradona, D., 2013. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Durian (*Durio zibethinus* L), Daun Lengkek (*Dimocarpus longan* Lour), Dan Daun Rambutan (*Nephelium lappaceum* L) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25925 dan *Escherichia coli* ATCC 25922. *SKRIPSI*, pp.1-79.
- Melani, Purwanti & Soeratri, 2005. Korelasi Kadar Propilenglikol Dalam Basis Dan Pelepasan Dietilammonium Diklofenak Dari Basis Gel Carbopol ETD 2020. *Majalah Farmasi*, 5(1), pp.1-6.
- Menkes RI, 2011. *Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 2406/MENKES/PER/XII/2011 Tentang Pedoman Umum Penggunaan Antibiotik*. Jakarta: Menteri Kesehatan Republik Indonesia.
- Miswarti, Putra E.W., Sugandi P., 2017. Analysis of Diversity of Durian Germplasm in Bengkulu Province Based on Morphological Character. *Bul. Plasma Nutfah*, 23(1), pp.59-68.
- Mohammad, Milow.P & Ong.HC, 2012. Traditional Medicinal Plants Used By The Kensiu Tribe of Lubuk Ulu Legong, Kedah, Malaysia. *Stud Ethno Med*, 6(1), pp.49-53.
- Muhamad, 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Dan Fraksi Daun Sintok (*Cinnamomum sintoc* Blume.) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* Serta Analisis Komponen Senyawa Fraksi Aktif Dengan Kromatografi Gas-Spektrometri Massa. *SKRIPSI. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Jakarta*, pp.1-97.
- Murakami *et al.*, 2000. Macrolides and Clindamycin Suppress The Release of Shiga-like Toxins From *Escherichia coli* O157:H7 In Vitro. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 15(2), pp.103-09.
- Murtiwi, 2014. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun *Macaranga tanarius* (L.) Mull. Arg. Terhadap *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615. *SKRIPSI Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma Yogyakarta*.
- Murrukmiyadi, 2013. The Effect of Fractination Containing Alkaloid of Hibiscus Flower (*Hibiscus rosa sinensis*-L) Red Variety to Mucolytic Activities In Vitro. *Trad. Med. J*, 18(3), pp.187-94.
- Nugraheni, 2012. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Rimpang *Curcuma domestica* Dari Berbagai Daerah Terhadap *Bacillus cereus* dan *Klebsiella pneumoniae*. *SKRIPSI. Fakultas Farmasi Universitas Airlangga*, pp.1-72.

- Nurhasnawati, H., Sukarmi & Handayani, F., 2017. Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokletasi terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jambu Bol (*Syzygium malaccense* L.). *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 3(1), pp.91-95.
- Pangkalan Ide, 2011. *Healt Secret of Durian*. Jakarta: Kompas Gramedia
- Pelezar, M.J. & Chan, E.C.S., 2008. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta : UI Press.
- Pongsamart, S., Lipipun, V., Jesadanont, S. & Pongwiwatana, U., 2006. Antimicrobial Polysaccharide of Durian-rinds and Natural Essential Oils Combination in An Effective Non-alcoholic Antiseptic Lotion For Hands. *Planta Medica*, 72.
- Prasetyo & Inorih, 2013. *Pengelolaan Budidaya Tanaman Obat-Obatan (Bahan Simplisia)*. Bengkulu: Badan Penerbit Fakultas Pertanian UNIB.
- Pratiwi, 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Premjeet, S. *et al.*, 2012. Additives in Topical Dosage Forms. *International Journal of Pharmaceutical, Chemical and Biological Science*, 2(1), pp.78-96.
- Purwanto, 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Aktif Ekstrak Daun Senggani (*Melastoma malabathricum* L) Terhadap *Escherichia coli*. *Jurnal Keperawatan Sriwijaya*, 2(2), pp.84-92.
- Putri, N.D., 2015. Identifikasi Bakteri *Escherichia Coli* pada Es Batu yang Dijual Warung Nasi di Kelurahan Pisangan Tahun 2015. *Skripsi*. Jakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah
- Radji, M., 2013. *Buku Ajar Mikrobiologi*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Rahmadani, 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Dari Ekstrak Etanol 96% Kulit Batang Kayu Jawa (*Lannea coromandelica*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Helicobacter pylori*, *Pseudomonas aeruginosa*. *SKRIPSI. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Program Studi Farmasi UIN Jakarta*, pp.1-72.
- Relani, 2016. Uji Aktivitas Penangkap Radikal Bebas Ekstrak Metanol Daun Pepaya (*Carica papaya* L) Beserta Fraksinya dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). *SKRIPSI Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Purwokerto*.
- Rowe, R.C., Sheskey, P.J. & Quinn, M.E., 2009. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. 6th ed. UK: Pharmaceutical Press, pp. 17-20, 110, 242, 268, 442.
- Santoso, S., 2010. *Statistik Parametrik Konsep dan Aplikasi dengan SPSS*. Jakarta: PT Elex Media Komputindo, pp.88.

- Sah, B.P., Pathak, T., Dr.S.Sankar & Dr.B.Suresh, 2014. Phytochemical Investigations on the Fruits of *Durio zibenthinus* Linn. For Antimicrobial Activity. *International Journal of Pharma Sciences and Research*, 3, pp.878-91.
- Saptana, Sulistiarini & Rusli, 2015. Aktivitas Antibakteri Gel Ekstrak Kecombrang (*Etlingera elatior*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Dan *Staphylococcus epidermidis*. *Prosiding Seminar Nasional Kefarmasian Ke-2*, pp.1-8.
- Shah, Srivastava & Karle, 2014. Natural Gelling Agents: A Review. *International Journal of Universal Pharmacy and Bio Sciences*, 3(3), pp.318-37.
- Shelly, E., 2014. Uji Kepekaan Bakteri *Escherichia coli* Penghasil Ampc Beta-Lactamase Terhadap Antibiotik Golongan Karbapenem Dari Isolat Klinis Koleksi Laboratorium Mikrobiologi FK UGM. *SRIPSI. Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada*, pp. 1-56
- Shayne, 2008. *Pharmaceutical Manufacturing Handbook Production and Processes*. USA: Wiley Interscience.
- Shihabudeen, Priscillia & Thirumurugan, 2010. Antimicrobial Activity and Phytochemical Analysis of Selected Indian Folk Medicinal Plants. *International Journal of Pharma Sciences and Research*, 1(10), pp.430-34.
- Sivananthan & Elamaran, 2013. In vitro evaluation of antibacterial activity of chloroform extract *Andrographis paniculata* leaves and roots, *Durio zibenthinus* wood bark and *Psidium guajava* leaves against selected bacterial strains. *International Journal of Biomolecules and Biomedicine*, 3, pp.12-19.
- Stiani, Rumantir & Megawati, 2015. Ointment Formulation Of Ethanol Extract Kemangi Leaves (*Ocimum basilium* L) As Antifungal With Ointment Base Type Variation And Physical Properties Evaluation. *Farmagazine*, 2(1), pp.1-5.
- Sudewi & Lolo, W.A., 2016. Kombinasi Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) dan Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Dalam Menghambat Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Kartika-Jurnal Ilmiah Farmasi*, 4(1), pp.36-42.
- Sugiyati, R., Iskandarsyah & Djajadisastra, J., 2015. Formulasi dan Uji Penetrasi In Vitro Sediaan Gel Transfersom Mengandung Kofein sebagai Antiselulit. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 13(2), pp.131-36.
- Sugiyono, 2013. *Metode Penelitian Pendidikan (Pendekatan Kuantitatif, Kualitatif, dan R&D)*. Bandung: Alfabeta Sukri, 2012. Effect of Different Types of Solvent on Extraction of Phenolic Compounds From *Cosmoc caudatus*. Thesis. Faculty of Chemical Engineering & Natural Resources Universiti Malaysia Pahang, pp.1-24.
- Sujarweni, V.W., 2012. *SPSS untuk Paramedis*. Yogyakarta: Gava Medika. Hal: 16-17, 31-35, 141-146.

- Syamsuni, 2007. *Ilmu Resep*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran.
- Tiwari, P. et al., 2011. Phytochemical Screening and Extraction: A Review. *Internationale Pharmaceutica Scienta*, 1(1), pp.98-106.
- Utami, 2016. Optimasi Tween 80 Sebagai Emulsifying Agent dan Karbopol 940 Sebagai Gelling Agent Dalam Sediaan Emulgel Sunscreen Ekstrak Lidah Buaya (*Aloe barbadensis* Mill.) dengan Metode Desain Faktorial. *SKRIPSI Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma*, pp.1-106.
- Wardana, A.P. & Tukiran, 2016. Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kloroform Tumbuhan Gowok (*Syzygium polycepalum*). In *Prosiding Seminar Nasional Kimia dan Pembelajarannya*. Surabaya, 2016. Jurusan Kimia FMIPA Universitas Negeri Surabaya.
- Whalen, P.D..B., 2015. *Lippincott Illustrated Reviews: Pharmacology Sixth Edition*. Philadelphia: Wolters Kluwer, pp. 471, 483, 499.
- Widjaja, et al., 2014. *Kekinian Keanekaragaman Hayati Indonesia*. Jakarta: Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI).
- Widyantoro, O.B. & Sugihartini, N., 2015. Uji Sifat Fisik Dan Aktivitas Ekstrak Daun Petai Cina (*Leucaena glauca*, Benth) Dalam Berbagai Tipe Basis Salep Sebagai Obat Luka Bakar. *Media Farmasi*, 12(2), pp.186-98.
- Wiryanta, 2008. *Sukses Bertanam Durian*. Jakarta: Agrommedia Pustaka, pp.1,11-13.
- Wulandari, 2015. Formulasi dan Evaluasi Sifat Fisik Sediaan Gel Ekstrak Pegagan (*Centella asiatica* (L). Urban) dengan Gelling Agent Karbopol 940 dan Humektan Propilen glikol. *SKRIPSI. Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma Yogyakarta*, pp.1-93.
- Wulandari, 2017. Formulasi dan Uji Aktivitas Antibakteri *Staphylococcus epidermidis* Sediaan Mikroemulsi Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura* Linn.) Dengan Fase Minyak Isopropil Mirystate. *Skripsi. Fakultas Farmasi UIN Malang*, pp.1-154.
- Yamin, S., & Kurniawan, H., 2014. *SPSS Complete Teknik Analisis Terlengkap dengan Software SPSS*. Jakarta: Salemba Infotek.
- Yogesthinaga, 2016. Optimasi Gelling Agent Carbopol dan Humektan Propilen Glikol dalam Formulasi Sediaan Gel Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). *Skripsi*.
- Zhang, 2004. *Guidelines on Developing Consumer Information on Proper Use of Traditional, Complementary and Alternative Medicine*. Italie: WHO, pp. 2-4.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Determinasi Tanaman

	PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR DINAS KESEHATAN UPT MATERIA MEDICA BATU Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396 KOTA BATU 65313
Nomor	: 074/37B/102.7/2018
Sifat	: Biasa
Perihal	: Determinasi Tanaman Durian
Memenuhi permohonan saudara :	
Nama	: ARUM FAJARWATI
NIM	: 1413206007
Instansi	: STIKES KARYA PUTRA BANGSA TULUNGAGUNG
1. Perihal determinasi tanaman durian	
Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)
Subkingdom	: Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi	: Spermatophyta (Menghasilkan biji)
Divisi	: Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas	: Magnoliopsida/ Dicotyledonae (Berkeping dua/ dikotil)
Sub Kelas	: Dilleniidae
Ordo	: Malvales
Famili	: Bombacaceae
Genus	: <i>Durio</i>
Spesies	: <i>Durio zibethinus</i> Murr
Nama Daerah	: Deureuyan (Aceh), duren (Gayo), drotong (Batak), durian (Minangkabau), derian (Lampung), kadu (Sunda), duren (Jawa), dhurin (Madura), dahuyan (Dayak), duren (Bali), aduria (Bima), duria (Gorontalo), durian (Sangir), duriang (Makasar), duliango (Buol), duriang (Bugis), duria (Ternate), duria (Tidore), dulen (Seram).
Kunci Determinasi	: 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14a-15a-109b-119b-120b-129b-128b-136b-135b-139b-140b-142b-143a-144b-145a-1b.
2. Morfologi	: Habitus: Pohon, tinggi 15-30 m. Batang: Tegak, berkayu, bulat, percabangan simpodial, putih kehijauan. Daun: Tunggal, tersebar, lonjong, tepi rata, ujung runcing, pangkal meruncing, panjang 11-15 cm, lebar 4-6 cm, tangkai silindris, putih kehijauan, pertulangan menyirip, hijau kekuningan. Bunga: Tunggal, di batang, bertangkai silindris, panjang ± 5 cm, hijau, kelopak bentuk lonceng, hijau, benang sari bentuk kipas, putih, tangkai putik silindris, putih, mahkota lepas, panjang 4-5 cm, putih kekuningan. Buah: Kotak, bulat, bulat telur, panjang 15-30 cm, garis tengah 13-15 cm, berduri tajam, masih muda hijau setelah tua kuning. Biji: Bulat telur, diameter ± 3 cm, dilapisi selaput biji, kuning. Akar: Tunggang, putih kotor.
3. Nama Simplisia	: Durii zibethini Folium / Daun Durian.
4. Kandungan kimia	: Daun dan akar mengandung saponin. Daunnya juga mengandung flavonoida dan polifenol.
5. Penggunaan	: Penelitian
6. Daftar Pustaka	<ul style="list-style-type: none">• Anonim. http://www.warintek.ristek.go.id/durian, diakses tanggal 12 Desember 2010.• Syamsuhidayat, Sri Sugati dan Johny Ria Hutapea. 1991. <i>Inventaris Tanaman Obat Indonesia I</i>. Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.• Van Steenis, C.G.J. 2008. <i>FLORA: untuk Sekolah di Indonesia</i>. Pradnya Paramita, Jakarta.
Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.	
Batui, 16 Januari 2018	
Kepala UPT Materia Medica Batu	
	
Dr. Husin R.M., Drs., Apt., M.Kes.	
NIP. 196111021991031003	

Lampiran 2. Surat Pernyataan Pembelian Bakteri

SURAT PERNYATAAN

SAYA YANG BERTANDA TANGAN DIBAWAH INI :

NAMA : ANGGIATI AMBARSARI

ALAMAT : KANIGORO, BLITAR

INSTITUSI : STIKES KARYA PUTRA BANGSA TULUNGAEUNG

DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA SAYA MENGETI DAN MEMAHAMI AKIBAT DARI ISOLAT BAKTERI / JAMUR^{*)}

1. *Staphylococcus aureus*
2. *Eschericia coli*
3. *Clostridium pereringens*
4.
5.

TERHADAP SAYA, ORANG DISEKITAR SAYA DAN LINGKUNGAN SAYA.

SAYA MENGGUNAKAN ISOLAT BAKTERI / JAMUR^{*)} DIATAS HANYA UNTUK KEPERLUAN PENELITIAN

DENGAN INI SAYA MENYATAKAN BAHWA SAYA AKAN MEMPERLAKUKAN ISOLAT BAKTERI / JAMUR^{*)} TERSEBUT DENGAN SANGAT MEMPERHATIKAN BIOSAFETY DAN BIOSECURITY SELAMA ISOLAT BAKTERI TERSEBUT ADA PADA SAYA.

YANG MEMBUAT PERNYATAAN


(ANGGIATI AMBARSARI)


SAKSI
To Anita Sari, S Farm, APT

Ket :

^{*)} Coret yang tidak perlu

Surat pernyataan harus dibubuhi dengan stempel resmi institusi

Lampiran 3. Dokumentasi Pembuatan Simplisia *Zibethinus folium*

Gambar *Zibethinus folium*



Daun *Durio zibethinus* Murr.



Pohon *Durio zibethinus* Murr.

Pembuatan Simplisia *Zibethinus folium*

Pemetikan



Pencucian



Pengeringan



Sortasi Kering



Penggilingan dan pengayakan



Simplisia serbuk *Zibethinus folium*



Lampiran 4. Dokumentasi Pembuatan Ekstrak

Pembuatan klongsong berisi serbuk 45 gram sebanyak 13 klongsong.



Sokhletasi siklus pertama



Sokhletasi siklus kedua



Sokhletasi siklus ketiga



Sokhletasi siklus keempat



Sokhletasi siklus kelima



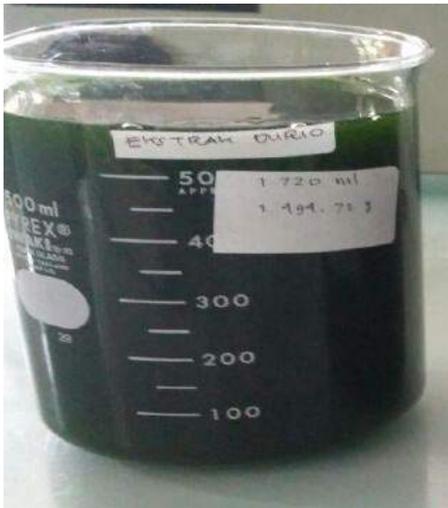
Sokhletasi siklus keenam



Sokhletasi siklus ketujuh



Ekstrak cair sokhlet



Pengovenan



Ekstrak kental



Lampiran 5. Skrining Fitokimia

1. Skrining fitokimia ekstrak sokhlet *Zibethinus folium*

Senyawa	Ekstrak	Fraksi etil asetat	Keterangan
Flavonoid			(+) flavonoid Terbentuk warna orange
Saponin			(+) saponin Terbentuk busa stabil selama 15 menit
Tanin			(+) tanin Terbentuk warna hijau
Steroid			(+) steroid Terbentuk warna hijau

Lampiran 6. Fraksinasi



Fraksi aqua destillata



Fraksi n-heksan



Fraksi etil asetat



Larutan uji



Larutan uji



Larutan uji



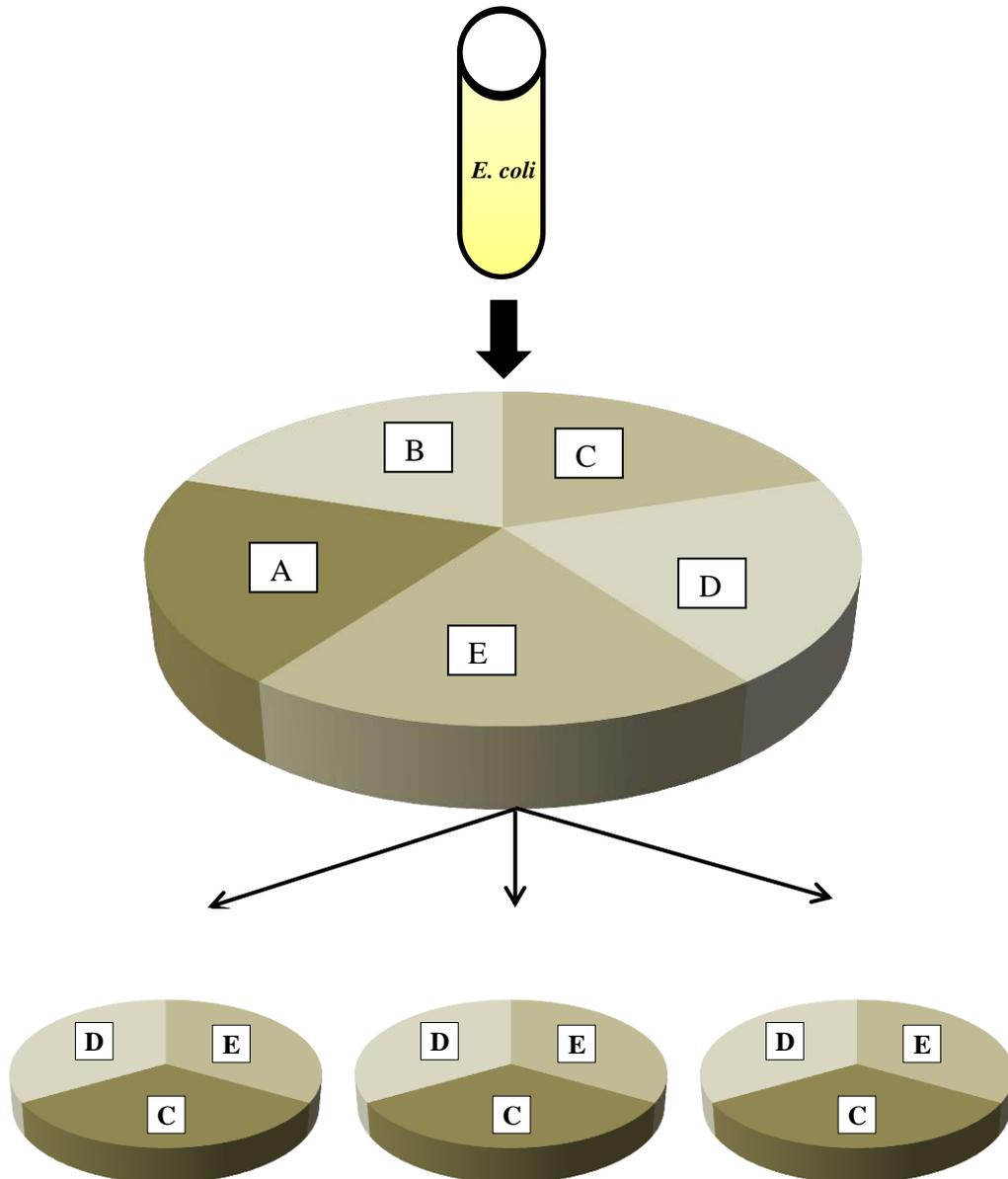
Fraksi



Larutan uji

Lampiran 7. Perlakuan Sampel

1. Perlakuan fraksi dari ekstrak sokhlet *Zibethinus folium*



Keterangan:

A : Fraksi Aqua destilata 30%

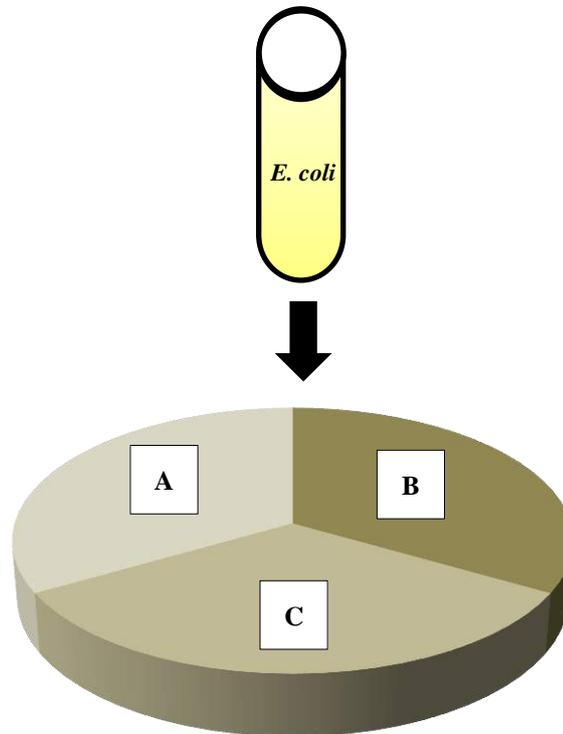
B : Fraksi n-Heksan 30%

C : Fraksi Etil Asetat 30%

D : Kontrol Positif

E : Kontrol Negatif

2. Perlakuan gel fraksi etil asetat 1%



Keterangan:

A : Fraksi Etil Asetat 30%

B : Kontrol Positif

C : Kontrol Negatif

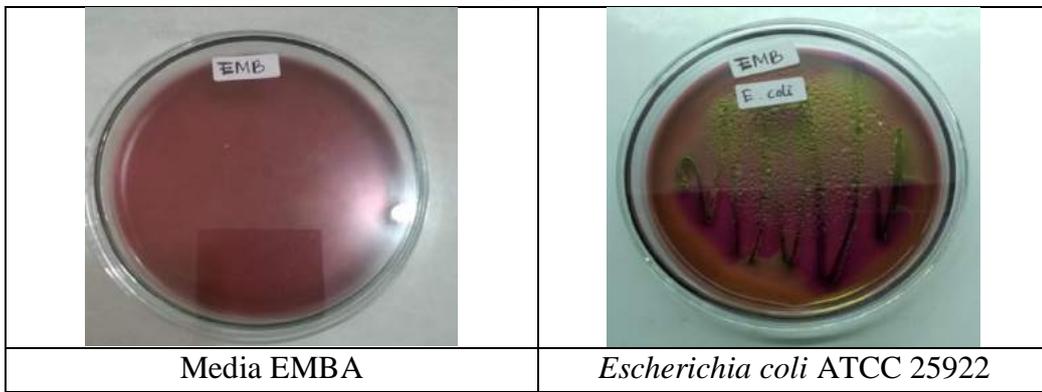
Lampiran 8. Gambar Uji Antibakteri

1. Pembuatan Suspensi Bakteri

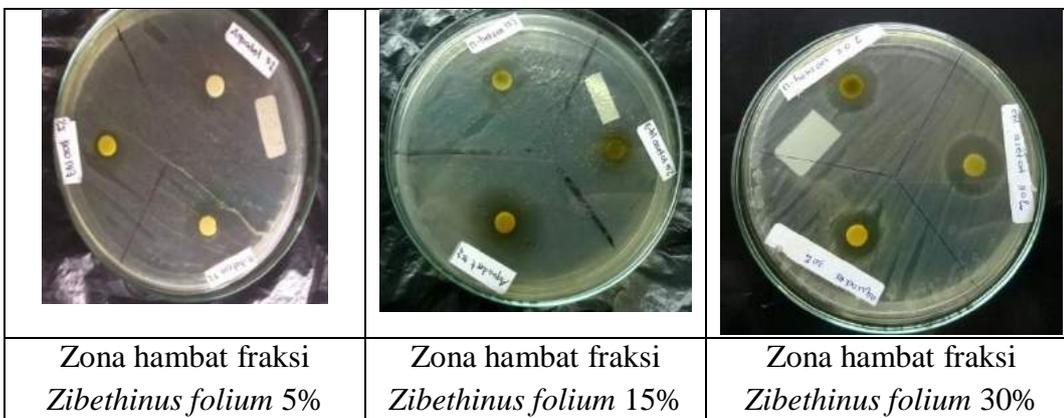


Pembuatan suspensi bakteri *Escherichia coli* sesuai dengan kekeruhan 0,5 Mc. Farland = 1×10^7 CFU/ml - 1×10^8 CFU/ml

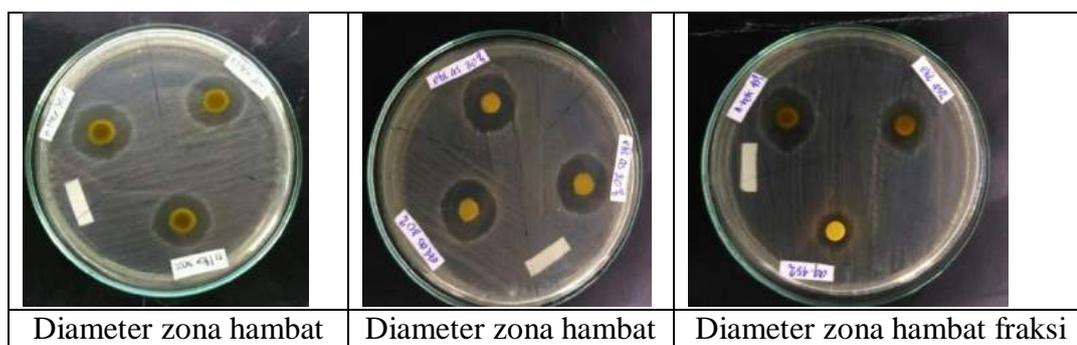
2. Identifikasi *Escherichia coli* menggunakan media EMBA



3. Orientasi antibakteri fraksi dari ekstrak sokhlet *Zibethinus folium*

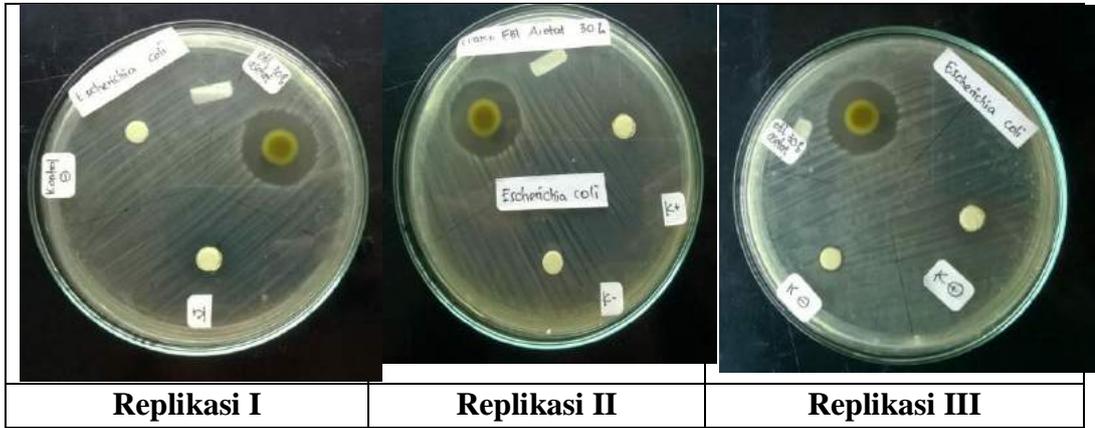


4. Uji aktivitas antibakteri fraksi dari ekstrak sokhlet *Zibethinus folium*

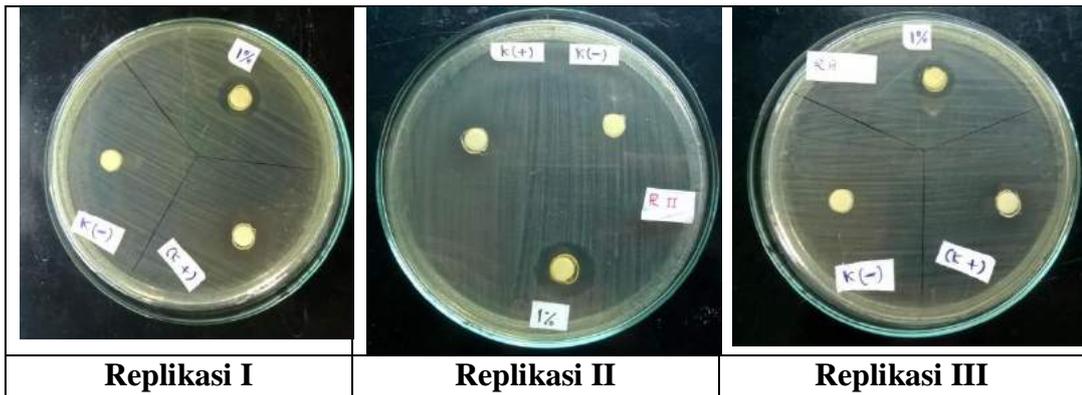


fraksi n-heksan 30%	fraksi etil asetat 30%	<i>Zibethinus folium</i> 45%
---------------------	------------------------	------------------------------

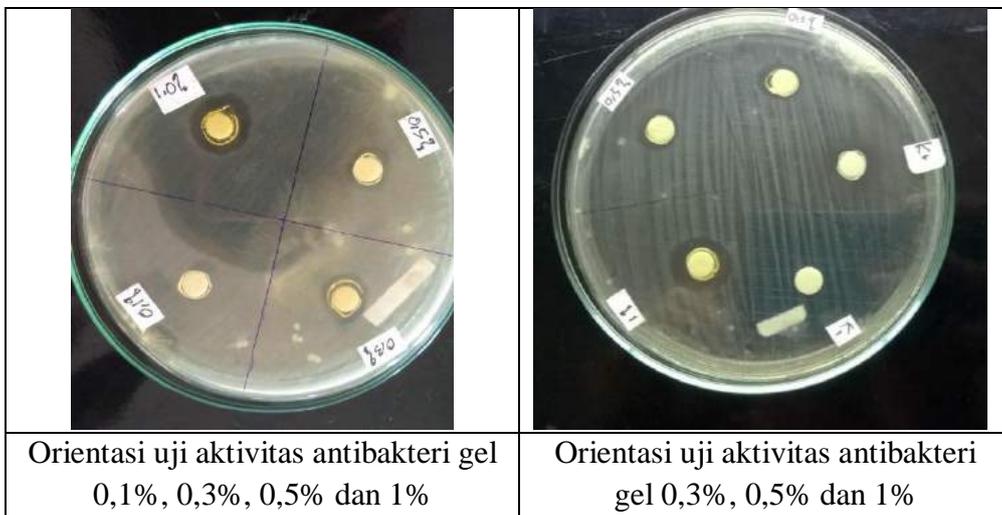
5. Uji aktivitas antibakteri fraksi etil asetat 30% dari ekstrak sokhlet *Zibethinus folium* terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922



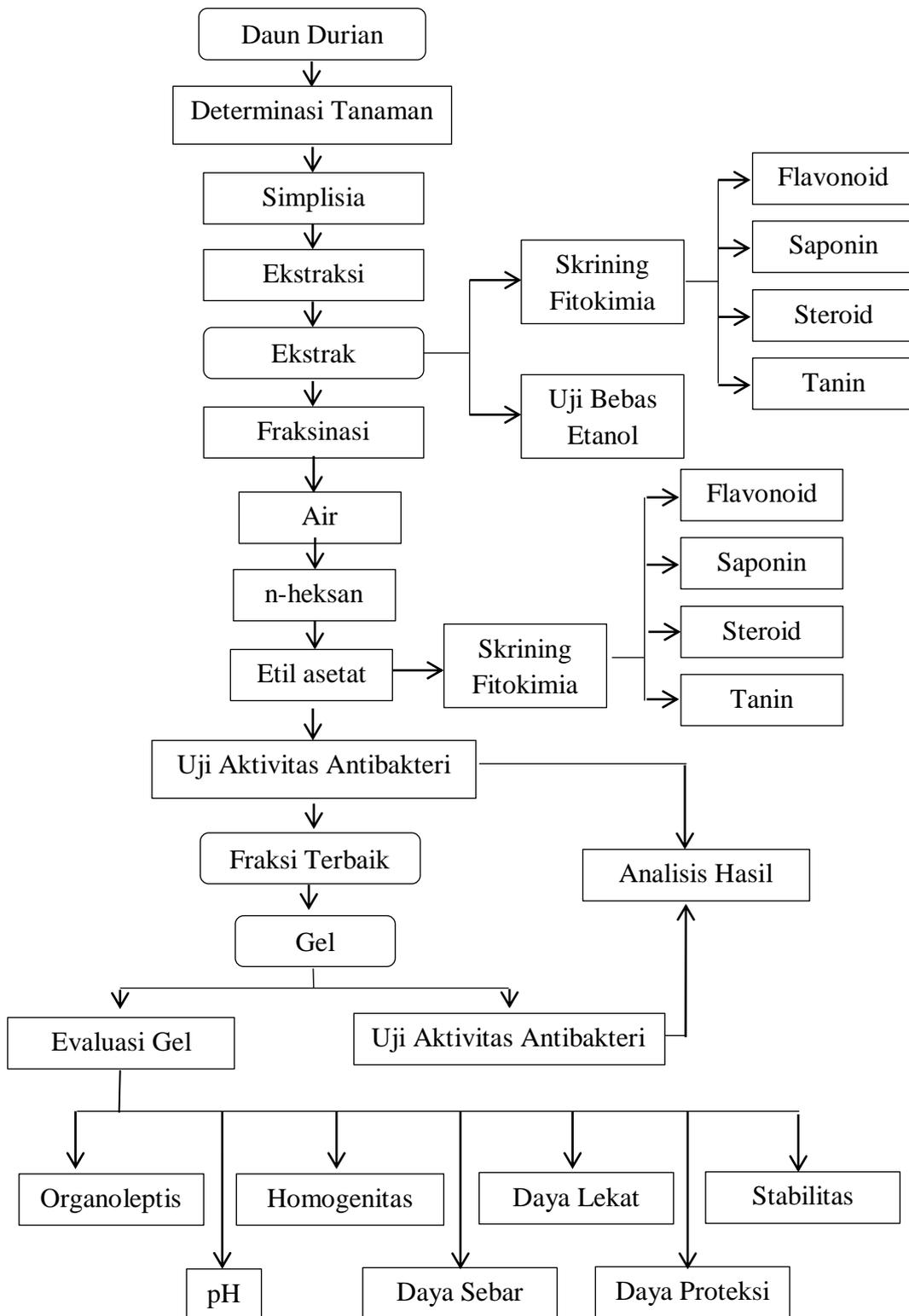
6. Uji aktivitas antibakteri gel 1% fraksi etil asetat dari ekstrak sokhlet *Zibethinus folium* terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922



7. Orientasi uji aktivitas antibakteri gel 1% fraksi etil asetat dari ekstrak sokhlet *Zibethinus folium* terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922

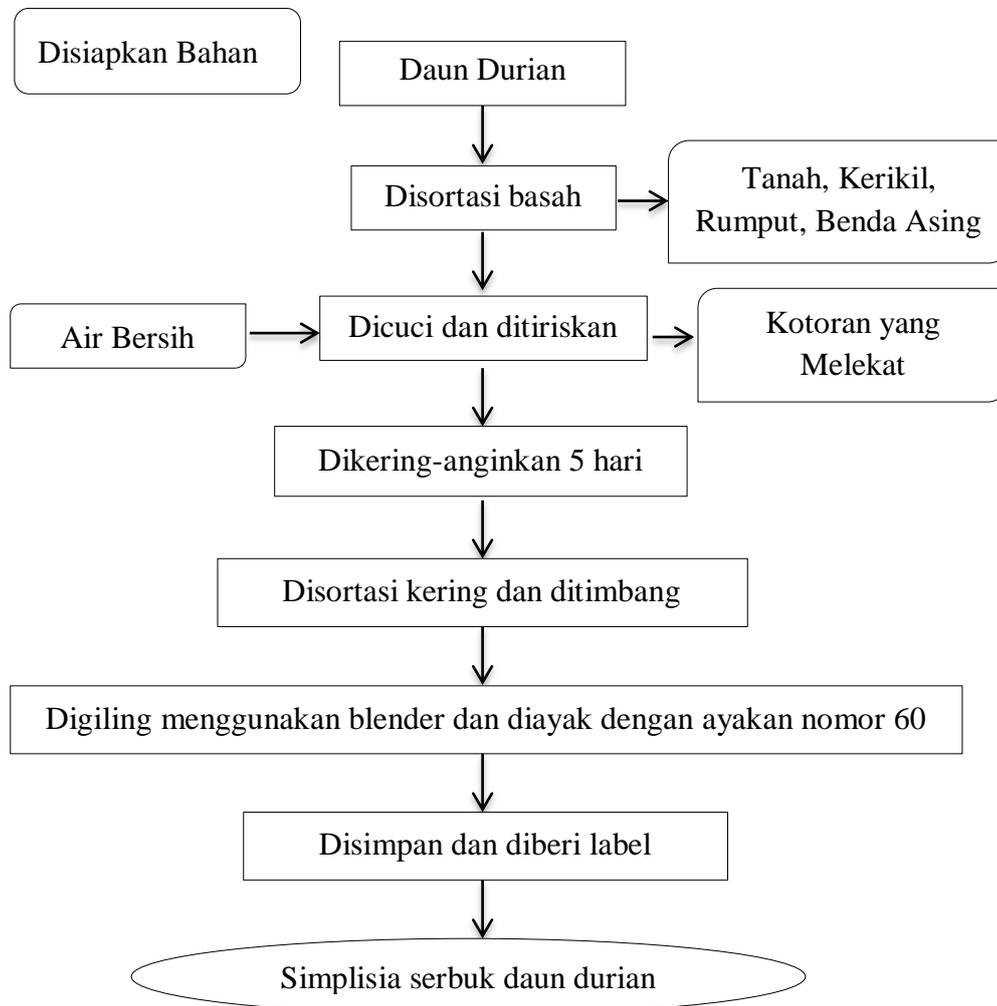


Lampiran 9. Kerangka Penelitian

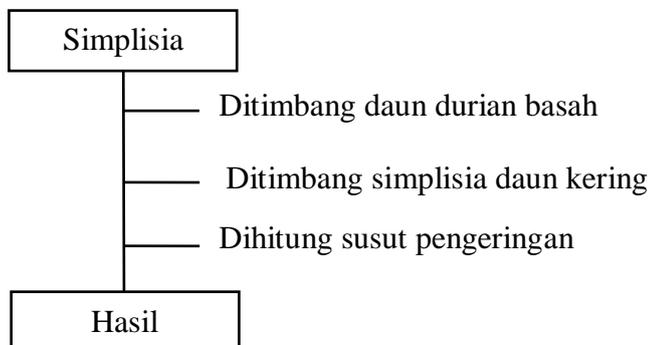


Lampiran 10. Skema Kerja

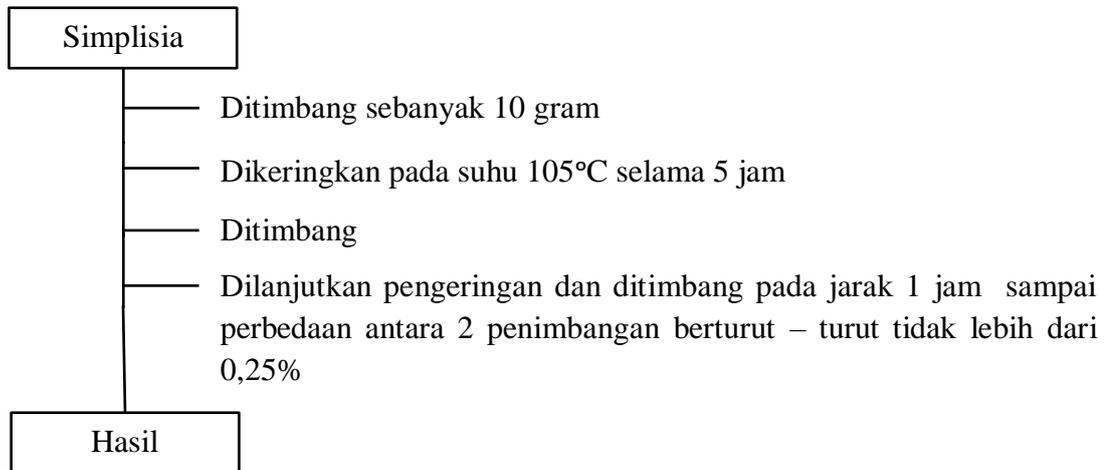
3.6.2 Pembuatan Simplisia



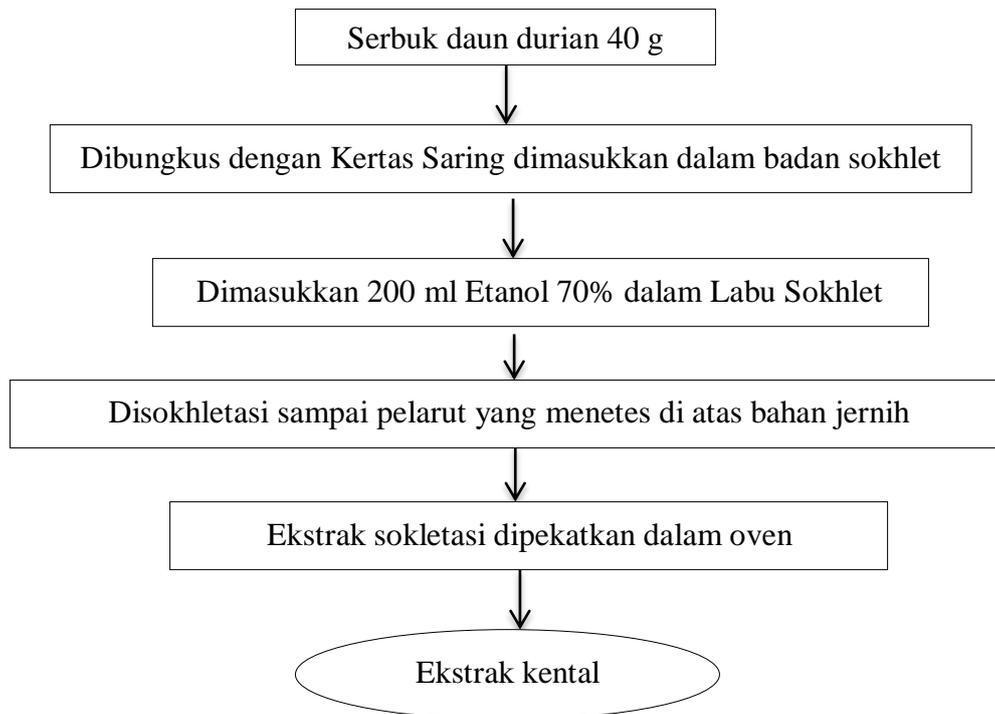
3.6.3 Uji Susut Pengeringan



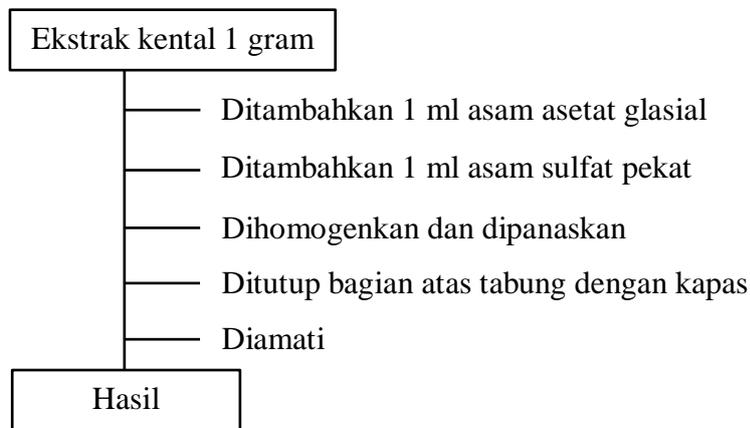
3.6.4 Uji Kadar Air Serbuk Simplisia



3.6.5 Pembuatan Ekstrak



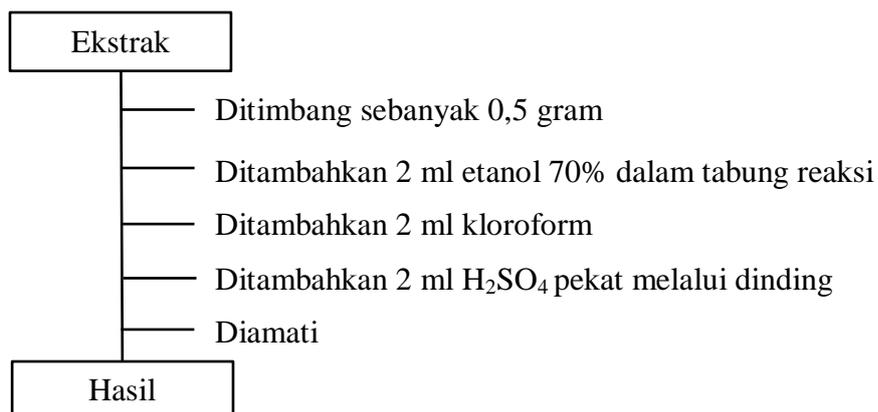
3.6.6 Uji Kadar Etanol Ekstrak



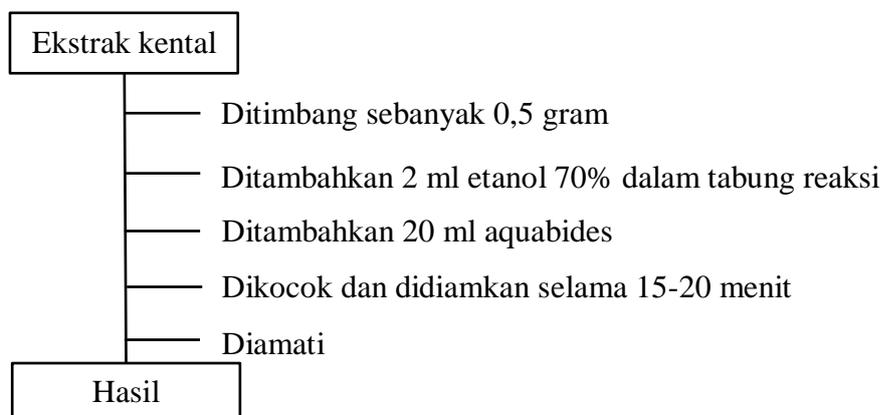
Keterangan: Jika tidak tercium bau ester maka positif bebas etanol

3.6.7 Skrinning Fitokimia

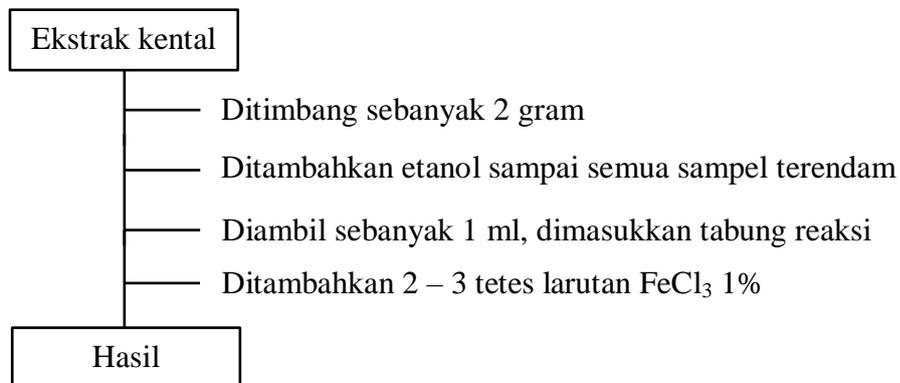
3.6.7.1 Steroid



3.6.7.2 Saponin

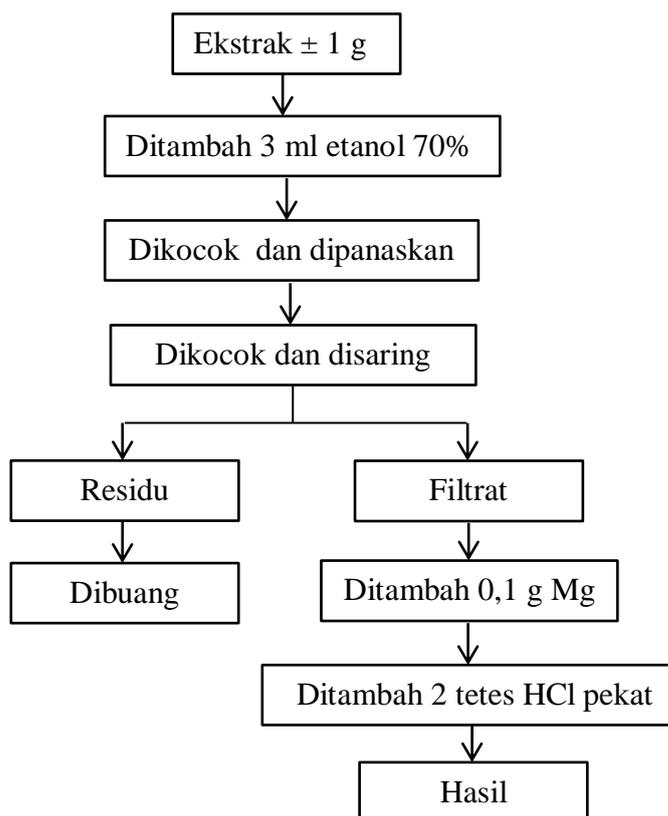


3.6.7.3 Tanin



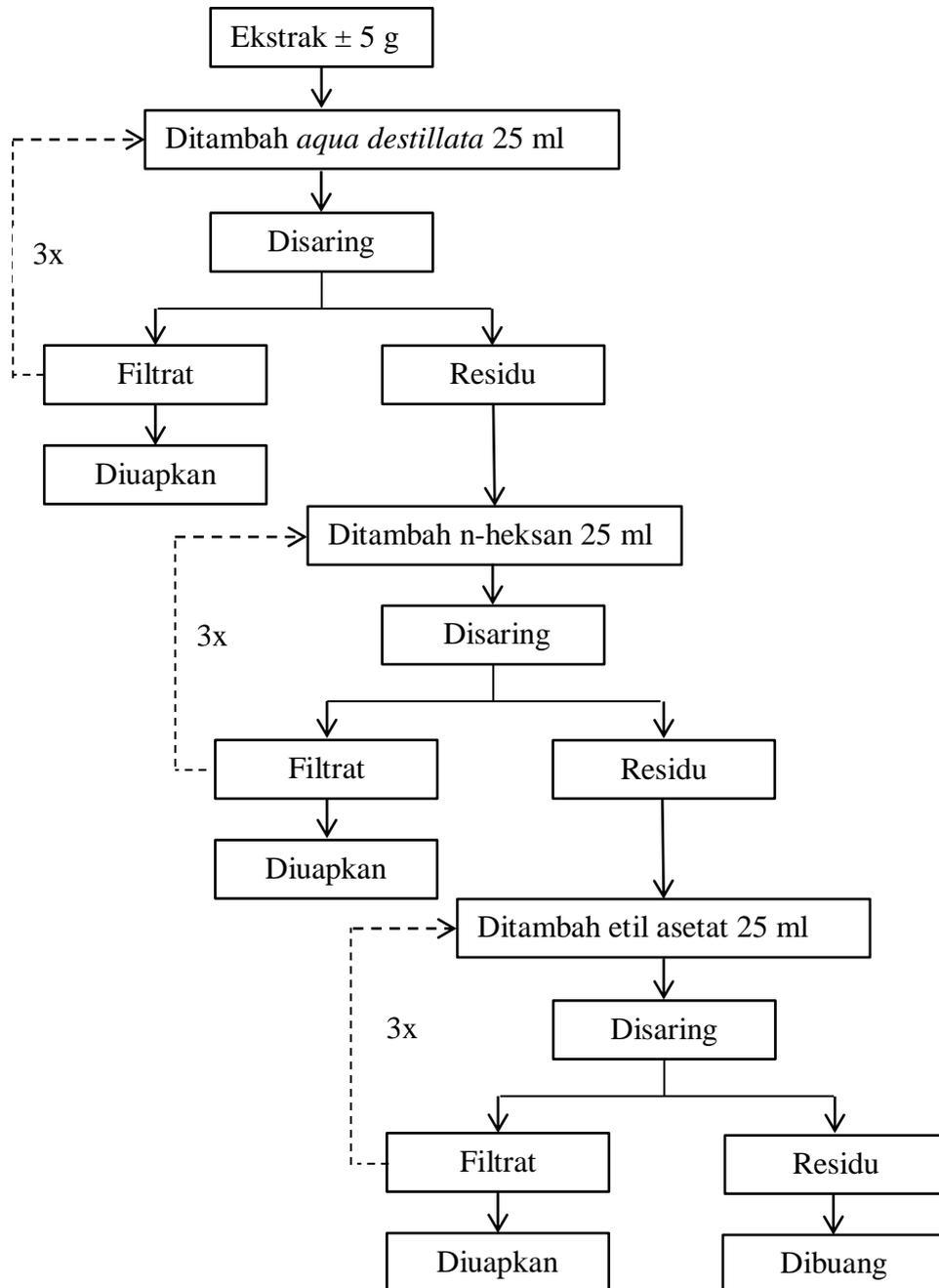
Keterangan: Adanya tanin ditunjukkan dengan terbentuknya warna hitam kebiruan atau hijau.

3.6.7.4 Flavonoid



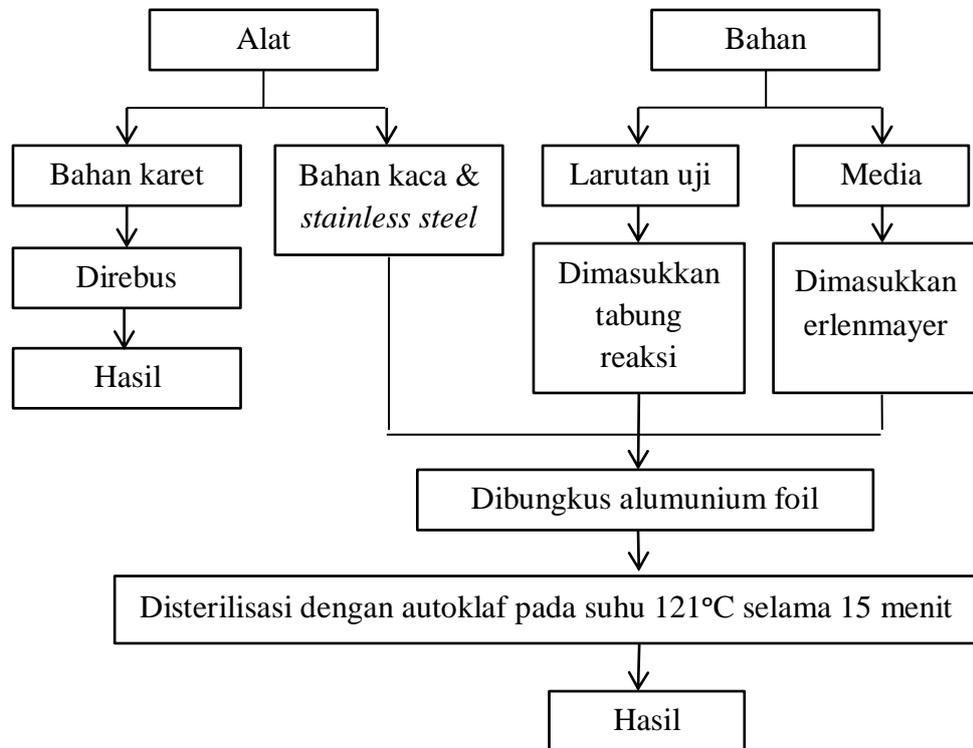
Keterangan: Adanya flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah pada lapisan etanol.

3.6.8 Fraksinasi

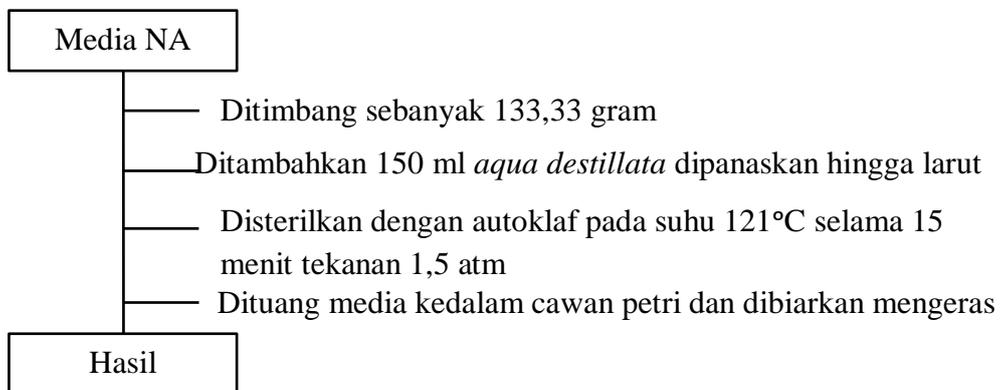


Keterangan: Tiap filtrat disari 4 kali dengan masing – masing pelarut pada tiap fraksi sampai didapat lebih kurang 100 ml pada tiap fraksi.

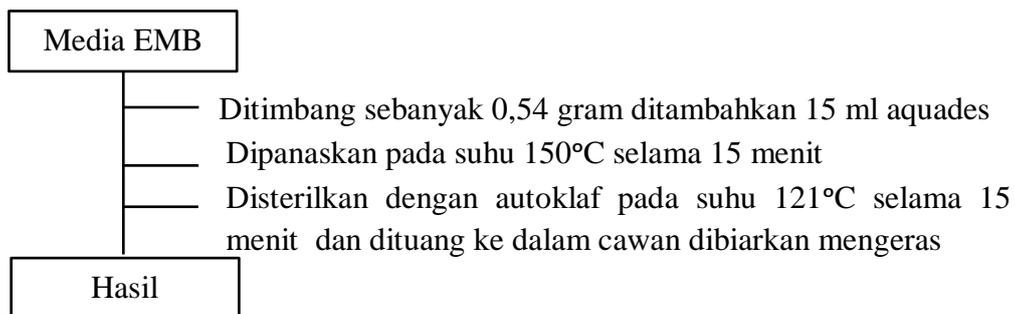
3.6.9 Sterilisasi Alat dan Bahan



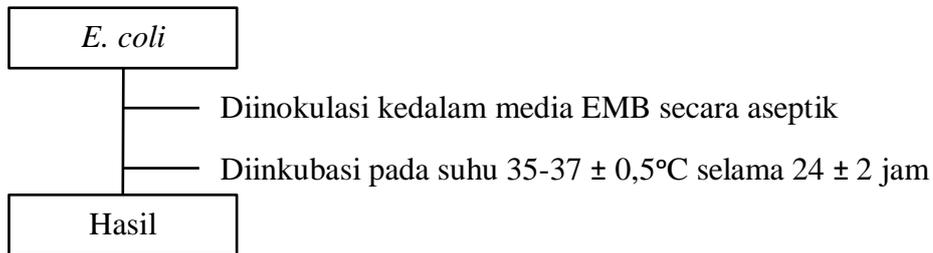
3.6.10 Pembuatan Media Pertumbuhan Bakteri



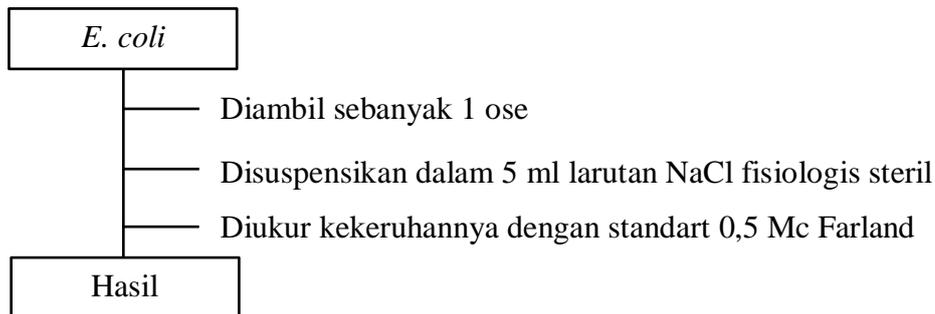
3.6.11 Pembuatan Media Identifikasi *Escherichia coli*



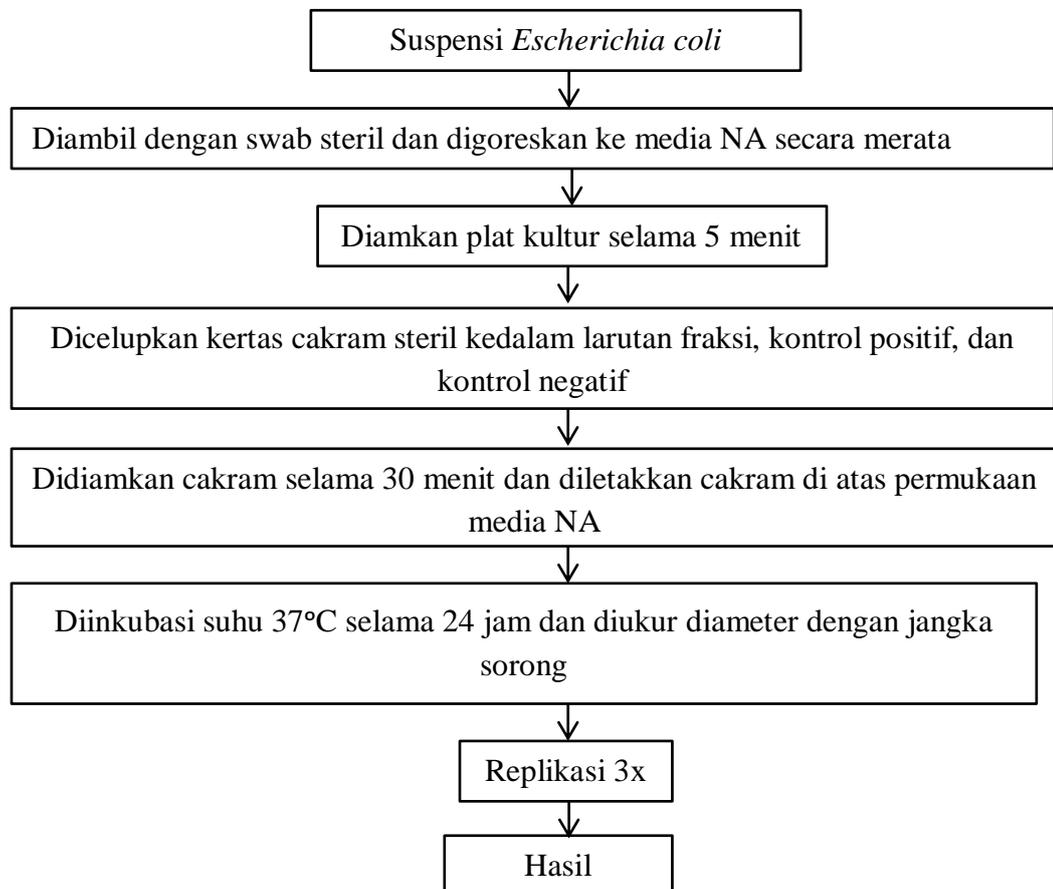
3.6.12 Uji Identifikasi *Escherichia coli*



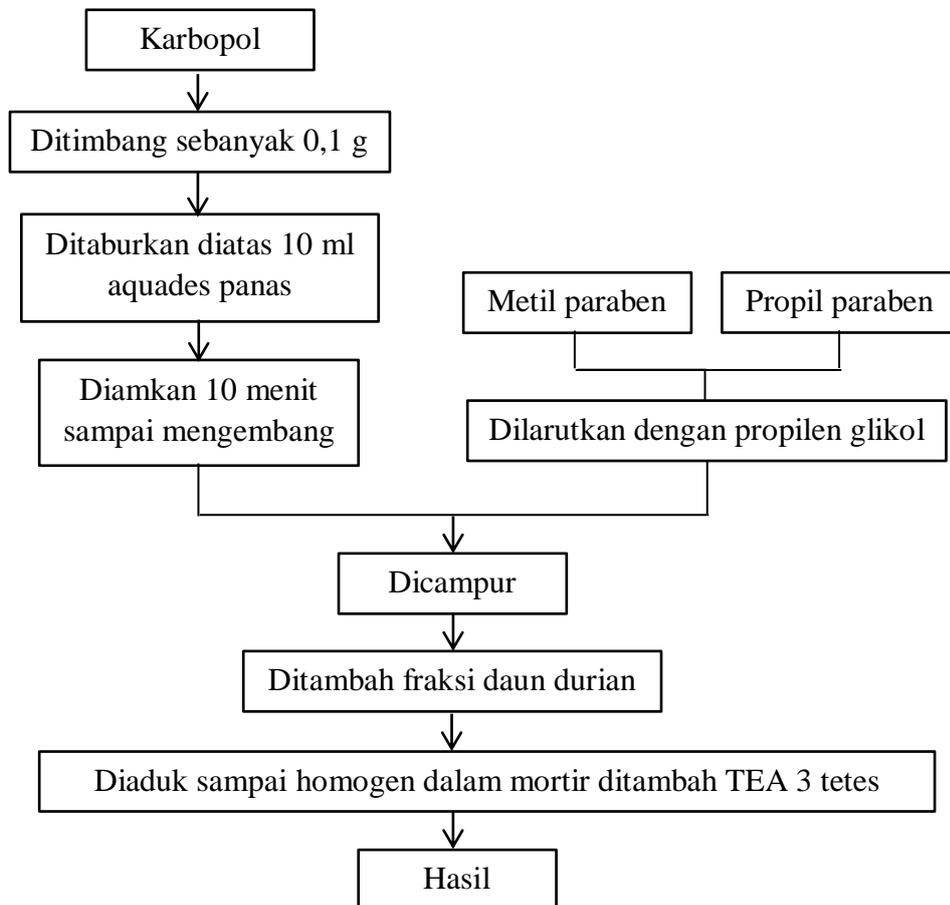
3.6.13 Pembuatan Suspensi Bakteri



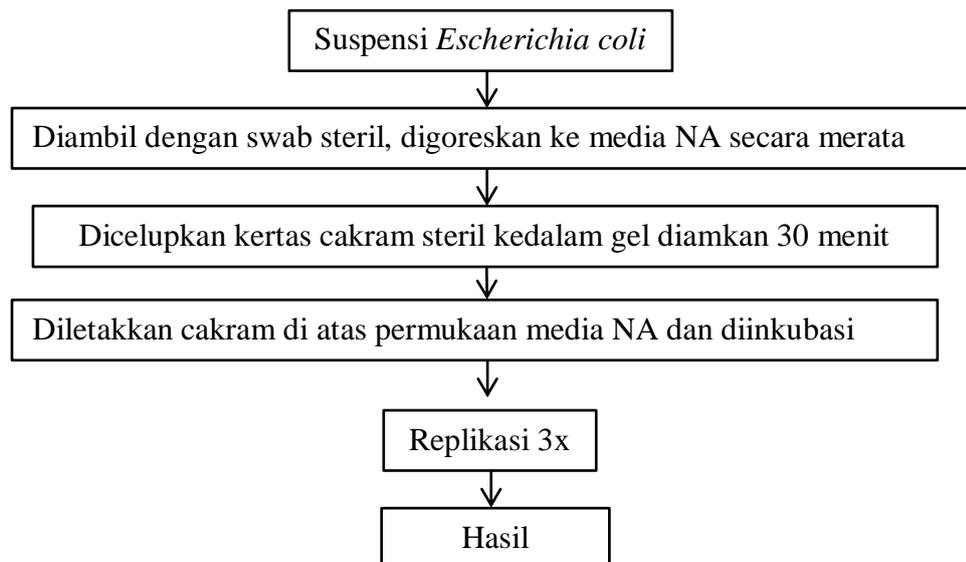
3.6.14 Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi



3.6.15 Pembuatan Gel

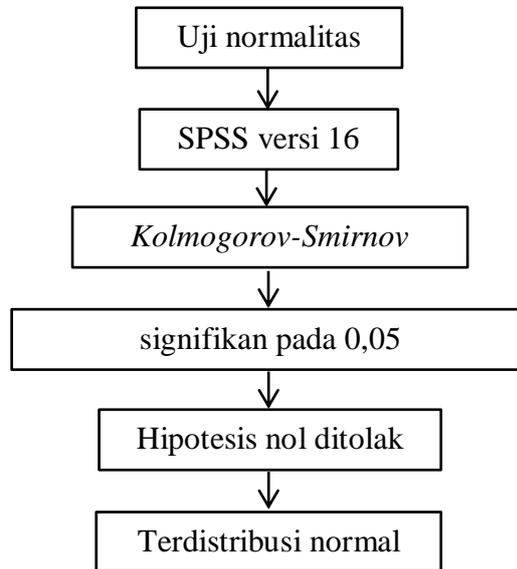


3.6.16 Uji Aktivitas Antibakteri Gel

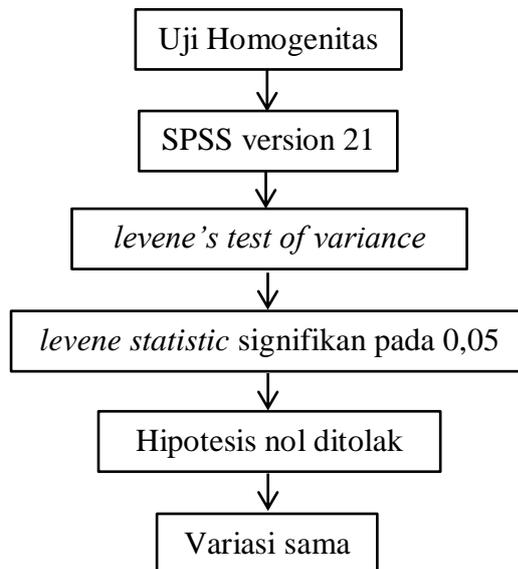


3.1 Analisa Hasil

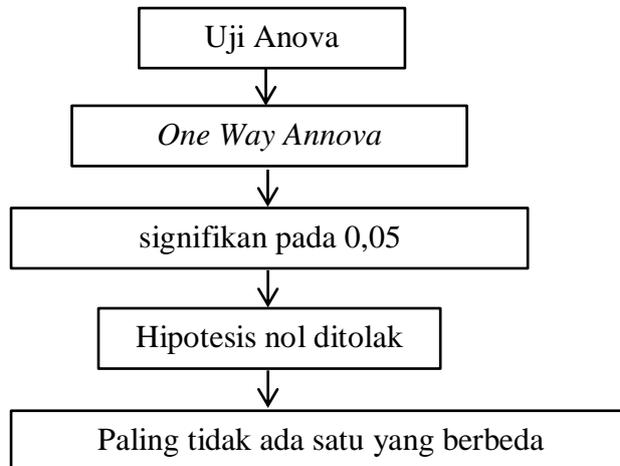
3.7.1 Uji Normalitas



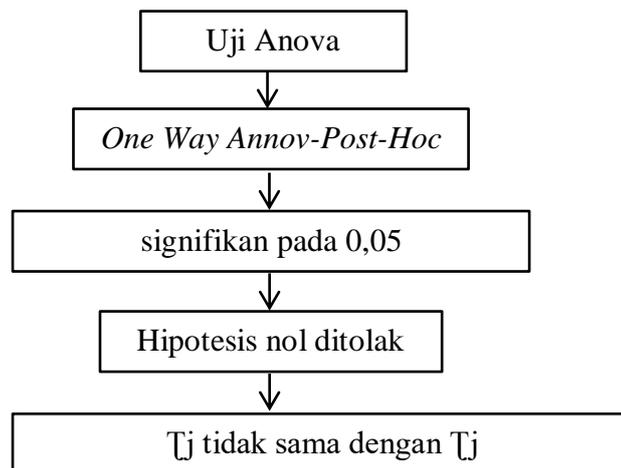
3.7.2 Uji Homogenitas



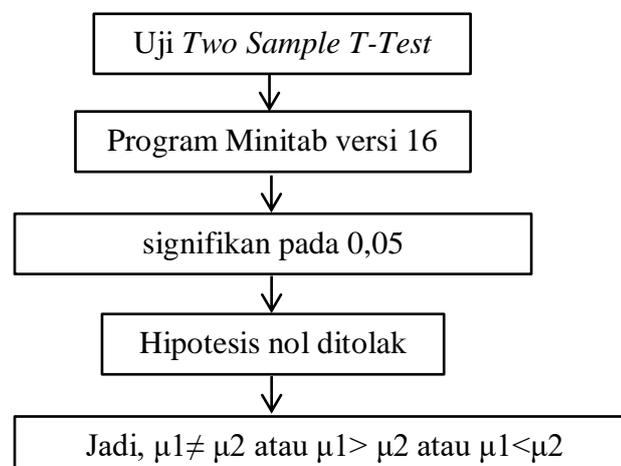
3.7.3 Uji Anova



3.7.4 Uji Perbandingan ganda (*Post-Hoc*)



3.7.5 Uji Two Sample T-Test



Keterangan: μ = fraksi *Zibethinus folium* atau kelompok kontrol

Lampiran 11. Pembuatan Reagen dan Perhitungan

3.6.10 Pembuatan Media

1. Pembuatan media NA

$$\begin{aligned}\text{Massa NA} &= \frac{\text{Mr NA}}{1000} \times \text{volume larutan (Atlas, 2010)} \\ &= \frac{20}{1000} \times 450 \text{ ml} \\ &= 9 \text{ gram.}\end{aligned}$$

Sebanyak 9 gram serbuk NA dilarutkan dalam 450 ml *aqua destillata* steril.

4. Pembuatan media NB

$$\begin{aligned}\text{Massa NB} &= \frac{\text{Mr NB}}{1000} \times \text{volume larutan (Atlas, 2010)} \\ &= \frac{8}{1000} \times 10 \text{ ml} \\ &= 0,08 \text{ gram.}\end{aligned}$$

Sebanyak 0,08 gram serbuk NB dilarutkan dalam 10 ml *aqua destillata* steril.

5. Pembuatan media EMBA

$$\begin{aligned}\text{Massa EMBA} &= \frac{\text{Mr EMBA}}{1000} \times \text{volume larutan} \\ &= \frac{36}{1000} \times 10 \text{ ml} \\ &= 0,36 \text{ gram.}\end{aligned}$$

Sebanyak 0,36 gram serbuk EMBA dilarutkan dalam 10 ml *aqua destillata* steril.

3.6.12 Pembuatan Larutan Uji Fraksi *aqua destillata*, n-heksan, etil asetat.

1. Konsentrasi 5%

$$\frac{5}{100} \times 2 \text{ ml} = 0,1 \text{ gram}$$

Sebanyak 0,1 gram dilarutkan dengan tween 1% sampai dengan volume 2 ml.

Sehingga diperoleh fraksi 5% sebanyak 2 ml.

2. Konsentrasi 15%

$$\frac{15}{100} \times 2 \text{ ml} = 0,3 \text{ gram}$$

Sebanyak 0,3 gram dilarutkan dengan tween 1% sampai dengan volume 2 ml.

3. Konsentrasi 30%

$$\frac{30}{100} \times 2 \text{ ml} = 0,6 \text{ gram}$$

Sebanyak 0,6 gram dilarutkan dengan Tween 1% sampai dengan volume 2 ml.
Sehingga diperoleh fraksi 30% sebanyak 2 ml.

4. Konsentrasi 45%

$$\frac{45}{100} \times 2 \text{ ml} = 0,9 \text{ gram}$$

Sebanyak 0,9 gram dilarutkan dengan Tween 1% sampai dengan volume 2 ml.
Sehingga diperoleh fraksi 45% sebanyak 2 ml.

3.6.13 Perhitungan Bahan Sediaan Gel

1. Fraksi etil asetat 0,1%

$$\frac{0,1}{100} \times 20 \text{ gram} = 0,02 \text{ ml}$$

Sebanyak 0,02 ml diambil dari larutan fraksi etil asetat 30% kemudian di buat sediaan gel.

2. Fraksi etil asetat 0,3%

$$\frac{0,3}{100} \times 20 \text{ gram} = 0,06 \text{ ml}$$

Sebanyak 0,06 ml diambil dari larutan fraksi etil asetat 30% kemudian di buat sediaan gel.

3. Fraksi etil asetat 0,5%

$$\frac{0,5}{100} \times 20 \text{ gram} = 0,1 \text{ ml}$$

Sebanyak 0,1 ml diambil dari larutan fraksi etil asetat 30% kemudian di buat sediaan gel.

4. Fraksi etil asetat 1%

$$\frac{1}{100} \times 20 \text{ gram} = 0,2 \text{ ml}$$

Sebanyak 0,2 ml diambil dari larutan fraksi etil asetat 30% kemudian di buat sediaan gel.

5. Karbopol 1%

$$\frac{1}{100} \times 20 \text{ gram} = 0,2 \text{ gram}$$

6. Propilen glikol 2%

$$\frac{2}{100} \times 20 \text{ gram} = 0,4 \text{ ml}$$

7. EDTA 0,05%

$$\frac{0,05}{100} \times 20 \text{ gram} = 0,01 \text{ ml}$$

8. Metil paraben 0,18%

$$\frac{0,18}{100} \times 20 \text{ gram} = 0,036 \text{ ml}$$

9. Propil paraben 0,02%

$$\frac{0,02}{100} \times 20 \text{ gram} = 0,004 \text{ ml}$$

10. Aqua destillata q.s

$$20 - (0,2+0,4+0,02+0,01+0,036+0,04) = 19,33$$

11. TEA q.s = 3 tetes

4.1.2 Perhitungan Kadar Air (Depkes RI, 2000)

Bobot botol timbang kosong = 22,56 g

Bobot botol timbang kosong + serbuk = 32,56 g

Bobot serbuk = 10,00 g

Bobot botol timbang + serbuk (Pengovenan I) = 32,25 g

Bobot botol timbang + serbuk (Pengovenan II) = 32,15 g

Bobot botol timbang + serbuk (Pengovenan III) = 32,01 g

a. Bobot serbuk 0 = 10 g

Kadar air (%) = -

b. Bobot serbuk I = 32,25 g - 22,56 g = 9,69 g

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{\text{Bobot Akhir}}{\text{Bobot Awal}} \times 100\% = \frac{9,69 \text{ g}}{10 \text{ g}} \times 100\% = 3,1 \%$$

c. Bobot serbuk II = 32,15 g - 22,56 g = 9,59 g

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{\text{Bobot Akhir}}{\text{Bobot Awal}} \times 100\% = \frac{9,59 \text{ g}}{9,69 \text{ g}} \times 100\% = 1,03 \%$$

d. Bobot serbuk III = 32,07 g - 22,56 g = 9,51 g

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{\text{Bobot Akhir}}{\text{Bobot Awal}} \times 100\% = \frac{9,51 \text{ g}}{9,59 \text{ g}} \times 100\% = 0,8 \%$$

4.1.3 Perhitungan Susut Pengeringan

Bobot daun durian basah = 5 kg

Bobot daun durian kering = 2,25 kg

$$\begin{aligned} \% \text{ Susut pengeringan} &= \frac{\text{Bobot Kering}}{\text{Bobot Basah}} \times 100\% \text{ (Utami, 2016)} \\ &= \frac{2,25 \text{ kg}}{5 \text{ kg}} \times 100\% = 45\% \end{aligned}$$

4.1.4 Perhitungan Rendemen Ekstrak dan Fraksi

1. Rendemen ekstrak *Zibethinus folium*

Bobot serbuk daun durian = 585 gram

Bobot ekstrak = 11,15 gram

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{Bobot ekstrak}}{\text{Bobot serbuk}} \times 100\% \text{ (Firdiyani et al., 2015)} \\ &= \frac{11,5 \text{ g}}{585 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 1,9\% \end{aligned}$$

2. Rendemen fraksi *aqua destillata* dari ekstrak sokhlet *Zibethinus folium*

Bobot serbuk daun durian = 585 gram

Bobot fraksi *aqua destillata* = 1,505 gram

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{Bobot fraksi}}{\text{Bobot serbuk}} \times 100\% \text{ (Firdiyani et al., 2015)} \\ &= \frac{1,505 \text{ g}}{585 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 0,26\% \end{aligned}$$

3. Rendemen fraksi etil asetat dari ekstrak sokhlet *Zibethinus folium*

Bobot serbuk daun durian = 585 gram

Bobot fraksi etil asetat = 2,125 gram

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{Bobot fraksi}}{\text{Bobot serbuk}} \times 100\% \text{ (Firdiyani et al., 2015)} \\ &= \frac{2,125 \text{ g}}{585 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 0,36\% \end{aligned}$$

4. Rendemen fraksi n-heksan dari ekstrak sokhlet *Zibethinus folium*

Bobot serbuk daun durian = 585 gram

Bobot fraksi n-heksan = 3,6 gram

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{Bobot fraksi}}{\text{Bobot serbuk}} \times 100\% \text{ (Firdiyani et al., 2015)} \\ &= \frac{3,6 \text{ g}}{585 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 0,61\% \end{aligned}$$

Lampiran 12. Hasil Orientasi

1. Data diameter zona hambat variasi konsentrasi fraksi dari ekstrak sokhlet *Zibethinus folium*

Tabel 1 Diameter rata-rata zona hambat pertumbuhan *Escherichia coli*

Konsentrasi	Rata-rata zona hambat (mm)		
	Fraksi Aqua destillata	Fraksi Etil asetat	Fraksi n-heksan
45 %	10	16	18,5
30 %	15	22,65	19,3
15 %	9,75	17,5	17,5
5 %	12,25	15,5	13,15
Kontrol (+)	10,83	10,83	10,83
Kontrol (-)	0	0	0

2. Data diameter zona hambat variasi konsentrasi gel fraksi etil asetat dari ekstrak sokhlet *Zibethinus*

Sampel	Diameter zona hambat (mm)			
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Rerata
Gel 0,1%	0	0	0	0
Gel 0,3%	8,5	8,5	9	9
Gel 0,5%	9,5	9,5	9,5	9,5
Gel 1%	16	11	12,5	13,17
Kontrol (+)	11	11,5	11,5	11,3
Kontrol (-)	0	0	0	0

Lampiran 13. Hasil Evaluasi Gel

No	Evaluasi	Hari Ke		
		1	14	28
1	Organoleptis			
	a. Bentuk	Semipadat	Semipadat	Semipadat
	b. Bau	Khas	Khas	Khas
	c. Warna	Hijau pekat	Hijau pekat	Hijau pekat
2	pH			
	Replikasi 1	5	5	5
	Replikasi 2	5	5	5
	Replikasi 3	5	5	5
	Rata-rata	5	5	5
3	Homogenitas	Homogen	Homogen	Homogen
4	Daya sebar			
	Plat	3,5 cm	3,7 cm	3,3 cm
	Bobot 50 g	3,6 cm	4,2 cm	3,6 cm
	Bobot 100 g	3,8 cm	4,7 cm	3,9 cm
	Bobot 150 g	3,9 cm	5 cm	4,3 cm
	Bobot 200 g	4,3 cm	5,2 cm	4,5 cm
	Rata-rata	3,82 cm	4,56 cm	3,92 cm
5	Daya lekat			
	Replikasi 1	1,1 detik	1 detik	1,2 detik
	Replikasi 2	1,2 detik	1,1 detik	1,2 detik
	Replikasi 3	1,4 detik	0,9 detik	1,1 detik
	Rata-rata	1,23 detik	1 detik	1,17 detik
6	Daya proteksi			
	a. 15'	Noda merah	Noda merah	Noda merah
	b. 30'	Noda merah	Noda merah	Noda merah
	c. 60'	Noda merah	Noda merah	Noda merah
	d. 3"	Noda merah	Noda merah	Noda merah
	e. 5"	Noda merah	Noda merah	Noda merah

Gambar evaluasi sediaan gel 1% fraksi etil asetat

		
<p>Gel fraksi etil asetat 1%</p>	<p>Uji pH</p>	<p>Uji homogenitas</p>
<p>Uji daya sebar</p>	<p>Uji daya lekat</p>	<p>Uji daya proteksi</p>
		

Lampiran 14. Data Olahan SPSS

1. Fraksi dari ekstrak sokhlet *Zibethinus folium*

a. Uji normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Fraksi Zibethinus folium
N		15
Normal Parameters ^a	Mean	3.00
	Std. Deviation	1.464
Most Extreme Differences	Absolute	.153
	Positive	.153
	Negative	-.153
Kolmogorov-Smirnov Z		.592
Asymp. Sig. (2-tailed)		.875
a. Test distribution is Normal.		

Jika Sig. < 0,05 maka Ho ditolak, jika sig. > 0,05 maka Ho diterima

Hipotesis nol = Terdistribusi normal, Hipotesis 1 = Tidak terdistribusi normal.

Sig. = 0,875 > 0,05. Jadi, Ho diterima yang berarti data terdistribusi normal

b. Uji homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Diameter zona hambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.802	4	10	.085

Hipotesis nol = Varian data sama (homogen), Hipotesis 1 = Varian data tidak sama (tidak homogen)

Sig. = 0,085 < 0,05. Jadi, Ho diterima yang berarti data homogen.

c. Uji *One way annova*

ANOVA

Diameter zona hambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	879.229	4	219.807	114.097	.000
Within Groups	19.265	10	1.926		
Total	898.494	14			

d. Uji Post-Hoc

Multiple Comparisons

Diameter zona hambat
LSD

(I) Fraksi Zibethin us folium	(J) Fraksi Zibethin us folium	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	-6.71667	1.13328	.000	-9.2418	-4.1916
	3	-4.33333	1.13328	.003	-6.8584	-1.8082
	4	4.16667	1.13328	.004	1.6416	6.6918
	5	15.00000	1.13328	.000	12.4749	17.5251
2	1	6.71667	1.13328	.000	4.1916	9.2418
	3	2.38333	1.13328	.062	-.1418	4.9084
	4	10.88333	1.13328	.000	8.3582	13.4084
	5	21.71667	1.13328	.000	19.1916	24.2418
3	1	4.33333	1.13328	.003	1.8082	6.8584
	2	-2.38333	1.13328	.062	-4.9084	.1418
	4	8.50000	1.13328	.000	5.9749	11.0251
	5	19.33333	1.13328	.000	16.8082	21.8584
4	1	-4.16667	1.13328	.004	-6.6918	-1.6416
	2	-10.88333	1.13328	.000	-13.4084	-8.3582
	3	-8.50000	1.13328	.000	-11.0251	-5.9749
	5	10.83333	1.13328	.000	8.3082	13.3584
5	1	-15.00000	1.13328	.000	-17.5251	-12.4749
	2	-21.71667	1.13328	.000	-24.2418	-19.1916
	3	-19.33333	1.13328	.000	-21.8584	-16.8082
	4	-10.83333	1.13328	.000	-13.3584	-8.3082

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

e. Uji Two-Sample T-Test

Aqua destilata < n-heksan

Two-Sample T-Test and CI: Fraksi Aqua destilata; Fraksi n-Heksan

Two-sample T for Fraksi Aqua destilata vs Fraksi n-Heksan

	N	Mean	StDev	SE Mean
Fraksi Aqua destilata	3	15,000	0,866	0,50
Fraksi n-Heksan	3	21,717	0,846	0,49

Difference = mu (Fraksi Aqua destilata) - mu (Fraksi n-Heksan)
 Estimate for difference: -6,717
 95% upper bound for difference: -5,072
 T-Test of difference = 0 (vs <): T-Value = -9,61 P-Value = 0,001 DF = 3

<

Worksheet 1 ***

	C1	C2	C3	C4	C5
	Fraksi Aqua destilata	Fraksi n-Heksan	Fraksi Etil Asetat		
1	14,0	21,50	19,5		
2	15,5	21,00	20,0		
3	15,5	22,65	18,5		
4					

Keterangan:

Hipotesis nol = $\mu_1 = \mu_2$, Hipotesis 1 = $\mu_1 \neq \mu_2$ atau $\mu_1 > \mu_2$ atau $\mu_1 < \mu_2$

P-Value $0,001 < 0,05$, jadi H_0 ditolak. Berarti fraksi *aqua destillata* lebih kecil daripada fraksi n-heksan.

***Aqua destillata* < etil asetat**

Two-Sample T-Test and CI: Fraksi Aqua destilata; Fraksi Etil Asetat

Two-sample T for Fraksi Aqua destilata vs Fraksi Etil Asetat

	N	Mean	StDev	SE Mean
Fraksi Aqua destilata	3	15,000	0,866	0,50
Fraksi Etil Asetat	3	19,333	0,764	0,44

Difference = mu (Fraksi Aqua destilata) - mu (Fraksi Etil Asetat)
 Estimate for difference: -4,333
 95% upper bound for difference: -2,764
 T-Test of difference = 0 (vs <): T-Value = -6,50 P-Value = 0,004 DF = 3

↓	C1	C2	C3	C4	C5
	Fraksi Aqua destilata	Fraksi n-Heksan	Fraksi Etil Asetat		
1	14,0	21,50	19,5		
2	15,5	21,00	20,0		
3	15,5	22,65	18,5		

Keterangan:

Hipotesis nol = $\mu_1 = \mu_2$, Hipotesis 1 = $\mu_1 \neq \mu_2$ atau $\mu_1 > \mu_2$ atau $\mu_1 < \mu_2$

P-Value $0,004 < 0,05$, jadi H_0 ditolak. Berarti fraksi *aqua destillata* lebih kecil daripada fraksi etil asetat.

n-heksan < etil asetat

Two-Sample T-Test and CI: Fraksi n-Heksan; Fraksi Etil Asetat

Two-sample T for Fraksi n-Heksan vs Fraksi Etil Asetat

	N	Mean	StDev	SE Mean
Fraksi n-Heksan	3	21,717	0,846	0,49
Fraksi Etil Asetat	3	19,333	0,764	0,44

Difference = mu (Fraksi n-Heksan) - mu (Fraksi Etil Asetat)
 Estimate for difference: 2,383
 95% lower bound for difference: 0,835
 T-Test of difference = 0 (vs >): T-Value = 3,62 P-Value = 0,018 DF = 3

↓	C1	C2	C3	C4	C5
	Fraksi Aqua destilata	Fraksi n-Heksan	Fraksi Etil Asetat		
1	14,0	21,50	19,5		
2	15,5	21,00	20,0		
3	15,5	22,65	18,5		

Keterangan:

Hipotesis nol = $\mu_1 = \mu_2$, Hipotesis 1 = $\mu_1 \neq \mu_2$ atau $\mu_1 > \mu_2$ atau $\mu_1 < \mu_2$

P-Value $0,018 < 0,05$, jadi H_0 ditolak. Berarti fraksi etil asetat lebih efektif daripada fraksi n-heksan.

2. Gel 1% fraksi etil asetat

a. Uji normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Gel Fraksi Etil asetat
N		9
Normal Parameters ^a	Mean	2.00
	Std. Deviation	.866
Most Extreme Differences	Absolute	.209
	Positive	.209
	Negative	-.209
Kolmogorov-Smirnov Z		.628
Asymp. Sig. (2-tailed)		.826

a. Test distribution is Normal.

Hipotesis nol = Terdistribusi normal. Hipotesis 1 = Tidak terdistribusi normal.

Sig. = 0,826 > 0,05. Jadi, Ho diterima yang berarti data terdistribusi normal.

Transformasi uji normalitas.

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Transformdiameterzonahambatgel
N		6
Normal Parameters ^a	Mean	1.0842
	Std. Deviation	.06215
Most Extreme Differences	Absolute	.314
	Positive	.314
	Negative	-.245
Kolmogorov-Smirnov Z		.769
Asymp. Sig. (2-tailed)		.595

a. Test distribution is Normal.

Sig. = 0,595 > 0,05. Jadi, Ho diterima yang berarti data terdistribusi normal.

b. Uji homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Diameter zona hambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
7.731	2	6	.022

Transformasi uji homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Transformdiameterzonahambatgel

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
5.434	1	4	.080

Sig. = 0,080 > 0,05. Jadi, Ho diterima yang berarti data homogen

c. Uji One way annova

ANOVA

Diameter zona hambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	305.167	2	152.583	68.663	.000
Within Groups	13.333	6	2.222		
Total	318.500	8			

Keterangan :

Jika Sig. < 0,05 maka Ho ditolak, jika sig. > 0,05 maka Ho diterima

Hipotesis nol = $\tau_1 = \tau_2 = \tau_3$

Hipotesis 1 = Paling tidak ada 1 τ_i yang berbeda.

Sig. 0,000 < 0,05, jadi Ho ditolak, berarti ada perbedaan zona hambat dari kelompok uji dengan kontrol.

Transformasi one way annova

ANOVA

Transformdiameterzonahambatgel

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.005	1	.005	1.544	.282
Within Groups	.014	4	.003		
Total	.019	5			

Sig. 0,282 > 0,05, jadi Ho diterima, berarti tidak ada perbedaan zona hambat dari kelompok uji dengan kontrol.

d. Uji Post-Hoc

Multiple Comparisons

Diameter zona hambat

LSD

(I) Gel Fraksi Etil asetat	(J) Gel Fraksi Etil asetat	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	1.83333	1.21716	.183	-1.1450	4.8116
	3	13.16667	1.21716	.000	10.1884	16.1450
2	1	-1.83333	1.21716	.183	-4.8116	1.1450
	3	11.33333	1.21716	.000	8.3550	14.3116
3	1	-13.16667	1.21716	.000	-16.1450	-10.1884
	2	-11.33333	1.21716	.000	-14.3116	-8.3550

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

Keterangan: 1= gel fraksi etil asetat, 2= kontrol positif, 3 = kontrol negatif

Jika Sig. < 0,05 maka Ho ditolak, jika sig. > 0,05 maka Ho diterima

Hipotesis nol = $\tau_i = \tau_j$

Hipotesis 1 = $\tau_i \neq \tau_j$

