

SKRIPSI

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



DEVRI WINDI SARI

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

2018

SKRIPSI

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

DEVRI WINDI SARI

NIM: 1413206013

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

2018

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI GEL FRAKSI DARI
MASERAT *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:

**DEVRI WINDI SARI
NIM: 1413206013**

**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**

iii

SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Devri Windi Sari

NIM : 1413206013

Program Studi : S1 Farmasi

menyatakan bahwa sesungguhnya skripsi yang saya tulis dengan judul:

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

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

Demikian surat pernyataan ini saya buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Tulungagung, 11 Mei 2018



Devri Windi Sari
NIM: 1413206013

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT, karena atas rahmat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik dan tepat waktu. Penulis mempersembahkan skripsi dengan judul “**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI GEL FRAKSI DARI MASERAT *Zibethinus folium* TERHADAP *Escherichia coli* SECARA IN VITRO**”. Penulisan skripsi ini dilakukan untuk memenuhi salah satu syarat kelulusan dalam rangka memperoleh gelar Sarjana Farmasi, STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini sangat sulit terwujud sebagaimana yang diharapkan, tanpa bimbingan dan bantuan serta tersedianya fasilitas-fasilitas yang diberikan oleh beberapa pihak. Oleh karena itu, dalam kesempatan ini penulis sampaikan rasa terima kasih dan hormat kepada:

1. Ibu dr. Denok Sri Utami, MH selaku Ketua STIKes Karya Putra Bangsa.
2. Bapak Yanu Andhiarto, M. Farm., Apt selaku dosen pembimbing utama penulis yang telah bersedia meluangkan waktu dan pikiran untuk membimbing, memberikan masukan, dan motivasi dalam penyusunan skripsi.
3. Ibu Sri Rahayu Dwi Purnaningtyas, M.Kes., Apt selaku dosen pembimbing serta penulis yang telah memberikan banyak sekali ilmu, arahan, dan membantu penulis dalam menyelesaikan penulisan skripsi.
4. Bapak/Ibu Dosen Program Studi S1 Farmasi STIKes Karya Putra Bangsa yang telah memberikan banyak ilmu, petuah, nasehat, dan motivasi kepada penulis.
5. Seluruh jajaran Laboran STIKes Karya Putra Bangsa yang telah bersedia meluangkan waktu dan tenaga untuk menemani penulis melakukan penelitian di Laboratorium.
6. Kedua orang tua penulis beserta seluruh keluarga besar penulis, terima kasih atas doa, dukungan, perhatian, serta pengertiannya sehingga penulis bisa menyelesaikan skripsi dan studi S1 Farmasi di STIKes Karya Putra Bangsa.
7. Anggiati Ambarsari, Arum Fajarwati, dan Dahniar Husnawiyatul Azizah terima kasih telah memberi semangat, motivasi, dan dukungan baik dalam bentuk tenaga maupun pikiran.

8. Teman-teman program studi S1 Farmasi angkatan 2014 terima kasih untuk kebersamaannya, dukungan, motivasi, semangat, serta doanya selama ini.

Penulis menyadari bahwa masih terdapat kekurangan yang harus disempurnakan dari skripsi ini. Oleh karena itu, Penulis memohon maaf yang sebesar-besarnya dan membuka diri untuk segala kritikan dan masukan yang dapat membangun dan meningkatkan kualitas skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat di masa depan.

Tulungagung, 11 Mei 2018

Penulis

RINGKASAN

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

Escherichia coli merupakan bakteri yang sering menyebabkan infeksi pada manusia. Sekitar 85% ISK dan sekitar 50% infeksi nosokomial di masyarakat penyebabnya adalah *Escherichia coli*. Infeksi lain dari *Escherichia coli* adalah diare. Obat yang paling banyak digunakan pada infeksi yang disebabkan oleh bakteri adalah antibiotik, Namun dalam penggunaannya antibiotik sudah banyak mengalami resistensi akibat penggunaan yang kurang tepat, serta tidak sesuai dengan indikasi. Oleh karena itu diperlukan pengembangan obat dan pencarian sumber senyawa yang mempunyai potensi tinggi sebagai antibakteri dari bahan alam. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui aktivitas antibakteri fraksi *Zibethinus folium* dan aktivitas antibakteri gel fraksi terbaik dari maserat *Zibethinus folium* terhadap *Escherichia coli* menggunakan metode difusi agar.

Metode penelitian yang digunakan adalah eksperimental. Sampel daun diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan etanol 70% dan dimurnikan dengan metode fraksinasi menggunakan pelarut *aqua destilata*, n-heksan, dan etil asetat. Kontrol positif klindamisin gel dan kontrol negatif DMSO 5%. Efektivitas *Zibethinus folium* sebagai antibakteri dijelaskan dengan *minimal inhibitory concentration* (MIC). Fraksi terbaik dari maserat *Zibethinus folium* kemudian dibuat sediaan gel. Evaluasi sediaan mencakup uji organoleptis, pH, homogenitas, daya sebar, daya lekat, dan daya proteksi. Analisa statistik dilakukan dengan *One-Way Anova* dan *Two-Sample T-Test*.

Hasil pengujian aktivitas antibakteri fraksi *aqua destilata* dan fraksi etil asetat dari maserat *Zibethinus folium* menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli*, Sedangkan fraksi n-heksan dari maserat *Zibethinus folium* tidak menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli*. Fraksi *aqua destilata* 40% menunjukkan respon hambatan paling optimum dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar $8,33 \pm 0,76$ mm. Aktivitas antibakteri diduga berasal dari senyawa aktif flavonoid, saponin, dan tanin yang bekerja secara sinergis. Gel fraksi *aqua destilata* 5% dari maserat *Zibethinus folium* mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dengan rata-rata diameter zona hambat $9,83 \pm 0,76$ mm. Gel fraksi *aqua destilata* 5% memenuhi syarat uji organoleptis, homogenitas, daya sebar, dan daya lekat, namun tidak memenuhi syarat uji pH dan daya proteksi.

ABSTRACT

ANTIBACTERIAL ACRIVITY TEST OF GEL FRACTION FROM *Zibethinus folium* MACERATE AGAINST *Escherichia coli* IN VITRO

Durian leaf (Durio Zibethinus Murr) is part of plants that have antibacterial activity. The aim of this research is to know the antibacterial activity of Zybethinus folium fraction and antibacterial activity of the best fraction gel from Zerbethinus folium macerate to Escherichia coli using agar diffusion method. The leaf sample was extracted using maseration method with 70% ethanol solvent and purified by fractionation method using aqua distillate, n-hexane, and ethyl acetate solvent. The gel preparation is prepared from the best fraction of Zibethinus folium. The evaluation of the preparation includes organoleptic tests, pH, homogeneity, dispersion, adhesion, and protection. Statistical analysis was performed with One-Way Anova and Two-Sample T-Test. The result testing of antibacterial activity of aqua distillate fraction and ethyl acetate fraction of maserate Zybethinus folium showed antibacterial activity against Escherichia coli, while n-hexane fraction of maserate Zybethinus folium showed no antibacterial activity against Escherichia coli. The distillation of distilled aqua distillata fraction of 40% showed the best resistance with zone of inhibition $8.33 \pm 0,76$ mm. The 5% aqua distillate gel of the Zybethinus folium maserate has antibacterial activity against Escherichia coli with an zone of inhibitory $9.83 \pm 0,76$ mm and is not stable during storage.

Keywords: *Zibethinus folium, maceration, fractionation, gel, antibacterial, Escherichia coli*

DAFTAR ISI

	Hal
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
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	4
1.5 Manfaat Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Obat Tradisional.....	6
2.2 Durian	6
2.2.1 Klasifikasi	6
2.2.2 Morfologi.....	7
2.2.2.1 Batang	7
2.2.2.2 Daun	7
2.2.2.3 Bunga	8
2.2.2.4 Biji	8
2.2.3 Kandungan	8

2.2.3.1	Saponin.....	9
2.2.3.2	Flavonoid.....	9
2.2.3.3	Tanin	10
2.2.3.4	Steroid	10
2.2.4	Khasiat	11
2.3	Simplisia	11
2.3.1	Definisi	11
2.3.2	Syarat.....	12
2.3.3	Penyiapan Simplisia	12
2.3.3.1	Sortasi Basah.....	12
2.3.3.2	Pencucian	13
2.3.3.3	Perajangan	13
2.3.3.4	Pengeringan.....	13
2.3.3.5	Sortasi Kering.....	14
2.3.3.6	Pengemasan dan Penyimpanan.....	14
2.4	Ekstraksi	15
2.4.1	Metode Ekstraksi	15
2.4.1.1	Maserasi	15
2.4.1.2	Perkolasi.....	16
2.4.1.3	Refluks	16
2.4.1.4	Sokhletasi	16
2.4.1.5	Digesti	17
2.4.1.6	Infus	17
2.4.1.7	Dekok.....	17
2.4.2	Pelarut	17
2.4.2.1	Air	18
2.4.2.2	Etanol	18
2.4.2.3	Aseton	18
2.4.2.4	Gliserin.....	18
2.4.2.5	Kloroform.....	19

2.5	Fraksinasi	19
2.6	Gel	19
2.6.1	Formulasi Gel	20
2.6.1.1	Karbopol.....	20
2.6.1.2	Propilen Glikol	21
2.6.1.3	<i>Triethanolamine</i> (TEA).....	21
2.6.1.4	Etanol	21
2.6.1.5	Ethylenediaminetetraacetate (EDTA).....	21
2.6.1.6	Metil Paraben	22
2.6.1.7	Propil Paraben	22
2.7	Bakteri	22
2.7.1	Definisi.....	22
2.7.2	Penggolongan Bakteri.....	23
2.8	<i>Escherichia coli</i>	23
2.8.1	Klasifikasi <i>Escherichia coli</i>	23
2.8.2	Morfologi <i>Escherichia coli</i>	24
2.9	Antibakteri	25
2.9.1	Mekanisme Kerja Antibakteri	25
2.9.1.1	Menghambat Metabolisme Sel	25
2.9.1.2	Menghambat Sintesis Asam Nukleat Sel.....	25
2.9.1.3	Mengganggu Keutuhan Membran Sel	25
2.9.1.4	Menghambat Sintesis Dinding Sel	26
2.9.1.5	Menghambat Sintesis Protein Sel	26
2.9.2	Antibakteri Pembanding	26
2.10	Uji Aktivitas Antibakteri	27
2.10.1	Metode difusi.....	27
2.10.1.1	<i>Disc Diffusion</i>	27
2.10.1.2	<i>E-test</i>	27
2.10.1.3	<i>Cup-Plate Technique</i>	27
2.10.1.4	<i>Ditch-Plate Technique</i>	28
2.10.1.5	<i>Gradient-Plate Technique</i>	28

2.10.2 Metode dilusi	28
2.10.2.1 Metode Dilusi Cair	28
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 Kadar Air Serbuk Simplisia.....	32
3.6.4 Uji Susut Pengeringan.....	32
3.6.5 Pembuatan Maserat	33
3.6.6 Uji Bebas Etanol Maserat.....	33
3.6.7 Skrining Fitokimia	33
3.6.8 Fraksinasi.....	34
3.6.9 Sterilisasi Alat dan Bahan	34
3.6.10 Pembuatan Media.....	34
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 Durian.....	35
3.6.15 Formulasi Gel	36
3.6.16 Pembuatan Gel.....	36

3.6.17 Evaluasi Gel.....	37
3.6.18 Uji Aktivitas Antibakteri Gel	38
3.7 Jalan Penelitian.....	38
3.8 Analisa Hasil	39
3.9 Alur Penelitian	41
3.10 Jadwal Penelitian	42
BAB IV HASIL PENELITIAN	43
4.1 Data Mentah.....	43
4.1.1 Determinasi Tanaman	43
4.1.2 Uji Kadar Air Serbuk Simplisia.....	43
4.1.3 Uji Susut Pengerinan.....	43
4.1.4 Rendemen Maserat.....	43
4.1.5 Uji Bebas Etanol Ekstrak	44
4.1.6 Skrining Fitokimia	44
4.1.7 Fraksinasi.....	44
4.1.8 Identifikasi <i>Escherichia coli</i>	45
4.1.9 Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi <i>Zibethinus folium</i>	45
4.1.10 Evaluasi Gel.....	46
4.1.11 Uji Aktivitas Antibakteri Gel Fraksi <i>Zibethinus folium</i>	46
4.2 Data Olahan	47
4.2.1 Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi <i>Zibethinus folium</i>	47
4.2.2 Evaluasi Gel.....	48
4.2.3 Uji Aktivitas Antibakteri Gel Fraksi <i>Aqua destilata</i>	48
BAB V PEMBAHASAN	50
5.1 Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi <i>Zibethinus folium</i> terhadap <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	54
5.2 Evaluasi Gel	57
5.3 Uji Aktivitas Antibakteri Gel Fraksi <i>Aqua destilata</i> 5% terhadap <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	60
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN.....	60
6.1 Kesimpulan	60

6.2 Saran.....	62
DAFTAR PUSTAKA.....	63
LAMPIRAN	71

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
II. 1	Kategori respon hambatan pertumbuhan bakteri <i>Escherichia coli</i> 24
III. 2	Formula standart gel ekstrak daun <i>Nyctanthes arbor</i> 36
III. 3	Formulasi gel Fraksi daun durian dimodifikasi 36
IV. 4	Hasil uji kadar air <i>Zibethinus folium</i> 43
IV. 5	Hasil uji susut pengeringan <i>Zibethinus folium</i> 43
IV. 6	Hasil persentase rendemen maserat <i>Zibethinus folium</i> 43
IV. 7	Hasil uji bebas etanol maserat <i>Zibethinus folium</i> 44
IV. 8	Hasil skrining fitokimia maserat <i>Zibethinus folium</i> 44
IV. 9	Hasil persentase rendemen maserat <i>Zibethinus folium</i> 44
IV. 10	Hasil identifikasi <i>Escherichia coli</i> 45
IV. 11	Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi <i>Zibethinus folium</i> 45
IV. 12	Hasil evaluasi gel fraksi <i>Aqua destilata</i> 5% 46
IV. 13	Hasil uji aktivitas antibakteri gel fraksi <i>Aqua destilata</i> 5% 46
IV. 14	Diameter zona hambat fraksi <i>Zibethinus folium</i> terhadap <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 47
IV. 15	Analisis hasil uji aktivitas antibakteri fraksi <i>Zibethinus folium</i> 48
IV. 16	Hasil evaluasi gel fraksi <i>Aqua destilata</i> 5% 48
IV. 17	Diameter zona hambat gel fraksi <i>aqua destilata</i> 5% terhadap <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 48
IV. 18	Analisis hasil uji aktivitas antibakteri gel fraksi <i>aqua destilata</i> 5% 49

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 <i>Durio zibethinus</i> Murr.	7
2.2 Struktur senyawa saponin	9
2.3 Struktur senyawa flavonoid	9
2.4 Struktur senyawa tanin	10
2.5 Struktur senyawa steroid	10
2.6 <i>Escherichia coli</i>	24
3.7 Alur Penelitian	41
4.8 Hasil skrining fitokimia maserat <i>Zibethinus folium</i> : (a) flavonoid, (b) tanin, (c) steroid, (d) saponin	44
4.9 Identifikasi <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	45
4.10 Diameter zona hambat fraksi <i>Zibethinus folium</i> terhadap <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.....	46
4.11 Diameter zona hambat fraksi <i>Aqua destilata</i> 40% terhadap <i>Escherichia coli</i> <i>coli</i> ATCC 25922	46
4.12 Diameter zona hambat gel fraksi <i>Aqua destilata</i> 5% terhadap <i>Escherichia coli</i> <i>coli</i> ATCC 25922	47
4.13 Diameter zona hambat fraksi <i>Zibethius folium</i> terhadap <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.....	47
4.14 Diameter zona hambat gel fraksi <i>Aqua destilata</i> 5% terhadap <i>Escherichia coli</i> <i>coli</i> ATCC 25922.....	48
4.15 Reaksi hidrolisis senyawa saponin.....	51
4.16 Reaksi flavonoid dengan Mg dan HCl	52
4.17 Reaksi uji fitokimia steroid.....	52
4.18 Reaksi tanin dengan FeCl ₃	53

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Hasil Determinasi <i>Zibethinus folium</i>	71
2. Surat Pernyataan Pembelian Bakteri.....	72
3. Perlakuan Fraksi <i>Zibethinus Folium</i>	73
4. Perlakuan Gel Fraksi <i>Aqua destilata 5%</i>	74
5. Dokumentasi Penelitian.....	75
6. Uji Kadar Air Simplisia <i>Zibethinus folium</i>	81
7. Susut Pengeringan <i>Zibethinus folium</i>	82
8. Rendemen <i>Zibethinus folium</i>	83
9. Pembuatan Larutan Uji.....	84
10. Pembuatan Media.....	85
11. Formulasi Gel Fraksi <i>Aqua destilata 5%</i>	86
12. Hasil Orientasi Fraksi <i>Zibethinus folium</i>	87
13. Hasil Orientasi Gel Fraksi <i>Aqua destilata</i>	88
14. Analisis Statistik <i>One-Way Anova</i> Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi <i>Zibethinus folium</i>	89
15. Analisis Statistik <i>Two-Sample T-Test</i> Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi <i>Zibethinus folium</i>	92
16. Analisis Statistik <i>One-Way Anova</i> Uji Aktivitas Antibakteri Gel Fraksi <i>Aqua destilata 5%</i>	93
17. Pembuatan Reagen.....	95

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia dikenal sebagai negara *megabiodiversity* dan menjadi salah satu pusat keanekaragaman hayati dunia (Suhartini, 2009). Indonesia mempunyai tingkat keberagaman kehidupan yang sangat tinggi, meskipun luas wilayah Indonesia hanya sekitar 1,3% dari luas bumi (Kusmana & Hikmat, 2015). Keanekaragaman jenis tumbuhan Indonesia menempati urutan kedua di dunia setelah Brazil dan menduduki urutan terkaya pertama, jika biota laut ikut diperhitungkan. Spesies tumbuhan di bumi kita ini diperkirakan hidup sekitar 40.000 spesies, dimana 30.000 spesies hidup di kepulauan Indonesia. 30.000 diantara spesies tumbuhan yang hidup di kepulauan Indonesia, diketahui sekurang-kurangnya 9.600 spesies tumbuhan berkhasiat sebagai obat dan kurang lebih 300 spesies telah digunakan sebagai bahan obat tradisional oleh industri obat tradisional (Depkes RI, 2007).

Obat tradisional adalah bahan atau ramuan bahan yang berupa bahan tumbuhan, bahan hewan, bahan mineral, sediaan sarian (galenik) atau campuran dari bahan tersebut, yang secara turun-temurun telah digunakan untuk pengobatan berdasarkan pengalaman (BPOM, 2005). Indonesia merupakan salah satu negara pengguna tumbuhan obat terbesar di dunia bersama negara lain di Asia, seperti Cina dan India (Widjaja *et al.*, 2014). Tanaman asli Indonesia yang berpotensi sebagai obat salah satunya adalah daun durian (Insanu *et al.*, 2011).

Daun durian (*Zibethinus folium*) merupakan bagian tanaman yang mempunyai aktivitas antibakteri (Maradona, 2013). Daun durian mengandung senyawa flavonoid dan saponin (Kandoli *et al.*, 2016). Mekanisme flavonoid sebagai antibakteri adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler yang mengganggu integritas membran sel bakteri (Kumar & Pandey, 2013). Saponin menurunkan tegangan permukaan sel sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar secara difusi melalui membran luar dan dinding sel yang rentan.

Menurut maradona (2013) daun durian mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphyococcus aureus*. Penelitian lain menyebutkan bahwa daun durian mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* (Chigurupati *et al.*, 2017).

Escherichia coli merupakan bakteri yang sering menyebabkan infeksi pada manusia. *Escherichia coli* termasuk flora normal pada sistem pencernaan manusia yang mempunyai peranan penting pada fungsi normal intestinal dan nutrisi, namun bila mencapai jaringan di luar intestinal bakteri ini akan menjadi patogen (Noviana, 2004). Sekitar 85% ISK (Infeksi Saluran Kemih) dan sekitar 50% infeksi nosokomial di masyarakat penyebabnya adalah *Escherichia coli* (Firizki, 2013). Infeksi lain dari *Escherichia coli* adalah diare. Infeksi ini bisa menyebar melalui makanan atau minuman yang terkontaminasi, atau bisa dari orang ke orang sebagai akibat kebersihan yang buruk. Menurut WHO diare merupakan penyebab kematian nomor dua pada anak di bawah lima tahun, dan bisa membunuh sekitar 525.000 anak setiap tahunnya (WHO, 2017). Obat yang paling banyak digunakan pada infeksi yang disebabkan oleh bakteri adalah antibiotik (Menkes RI, 2011).

Antibiotik mempunyai dua efek utama, yaitu secara terapeutik mampu menyerang organisme infeksius dan juga mengeliminasi bakteri lain yang bukan penyebab penyakit (Amin, 2014). Kemampuan antibiotik dalam mengatasi maupun mencegah penyakit infeksi menyebabkan penggunaannya mengalami peningkatan yang luar biasa. Menurut Menkes RI (2011) Sekitar 40-62% antibiotik digunakan secara tidak tepat untuk penyakit-penyakit yang sebenarnya tidak memerlukan antibiotik. Penelitian lain yang berhubungan dengan kualitas penggunaan antibiotik di berbagai bagian rumah sakit, ditemukan 30%-80% tidak sesuai indikasi (Menkes RI, 2011). Klindamisin merupakan antibiotik turunan linkomisin yang bekerja dengan menghambat sintesis protein (Katzung *et al.*, 2012). Klindamisin terutama bermanfaat untuk infeksi kuman anaerob dalam penggunaan klinik (Gunawan, 2012). Aktivitas antibakteri klindamisin sama halnya yang ditunjukkan pada senyawa kimia flavonoid yang terkandung dalam daun durian. Menurut Widjaja *et al.* (2014), kegunaan bahan tumbuhan sebagai

bahan obat bertumpu pada kandungan senyawa bioaktif yang diproduksi oleh sel-sel tumbuhan tersebut di dalam sistem jalur biosintesis metabolit sekundernya. Senyawa-senyawa aktif tersebut dapat dipisahkan dari tanamannya melalui proses yang disebut dengan ekstraksi.

Ekstraksi adalah proses pemisahan senyawa aktif dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai (Mukhriani, 2014). Maserasi merupakan proses pengestrakan simplisia dengan menggunakan pelarut yang dilakukan pada suhu kamar dan disertai dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan (Depkes RI, 2000). Keuntungan metode maserasi yaitu, prosedur dan peralatan yang digunakan sederhana, senyawa aktif tidak terurai karena proses ekstraksi dilakukan tanpa pemanasan (Nurhasnawati *et al.*, 2017). Maserat yang dihasilkan merupakan campuran dari berbagai senyawa. Oleh karena itu, diperlukan fraksinasi untuk memisahkan golongan utama kandungan yang satu dari golongan utama yang lainnya. Fraksinasi merupakan suatu proses pemisahan senyawa berdasarkan perbedaan kepolaran (Harborne, 2006). Menurut Nwodo *et al.* (2011), fraksinasi dari maserat tumbuhan atau pemurnian zat aktif pada prinsipnya mampu mengoptimalkan potensi dan memperluas spektrum aktivitas maserat tumbuhan.

Efektivitas maserat tumbuhan sebagai antibakteri dapat dinilai dengan kemampuannya untuk menekan pertumbuhan bakteri yang dijelaskan oleh *minimal inhibitory concentration* (MIC) dan ditandai dengan *minimal bactericidal concentration* (MBC) (Bonev *et al.*, 2008). Metode difusi agar adalah metode yang telah dikembangkan sejak tahun 1940 dan menjadi metode resmi yang digunakan laboratorium mikrobiologi untuk uji kepekaan antibakteri. Kelebihan metode difusi agar, yaitu: sederhana, biaya relatif rendah, mampu menguji sejumlah besar mikroorganisme dan antibakteri, serta memberikan kemudahan dalam menginterpretasikan hasil. Aplikasi metode difusi agar salah satunya adalah untuk skrining antibakteri maserat tanaman (Balouiri *et al.*, 2016). Menurut Aparna *et al.* (2016), pelepasan zat aktif dari maserat tumbuhan sebagai antibakteri dapat segera dicapai dengan memformulasikannya kedalam bentuk gel.

Gel adalah sediaan semipadat terdiri dari suspensi yang dibuat dari partikel anorganik yang kecil atau molekul organik yang besar, terpenetrasi oleh suatu cairan (Depkes RI, 1995). Alasan dibuat sediaan gel karena mudah mengering, membentuk lapisan film yang mudah dicuci, memberikan sensasi sejuk di kulit, tidak berminyak, mudah menyebar, melembutkan, serta kompatibel dengan beberapa bahan tambahan (Patel *et al.*, 2011; Sayuti, 2015).

Berdasarkan latar belakang diatas, penulis ingin mengetahui aktivitas antibakteri fraksi *Zibethinus folium* dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*, yaitu salah satu bakteri penyebab infeksi.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimanakah aktivitas antibakteri fraksi *Zibethinus folium* terhadap *Escherichia coli* secara *in vitro*?
2. Berapakah konsentrasi optimum dari fraksi terbaik *Zibethinus folium* sebagai antibakteri terhadap *Escherichia coli* secara *in vitro*?
3. Bagaimana stabilitas dan aktivitas antibakteri gel fraksi terbaik dari maserat *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 konsentrasi optimum dari fraksi terbaik *Zibethinus folium* sebagai antibakteri terhadap *Escherichia coli* secara *in vitro*.
3. Mengetahui stabilitas dan aktivitas antibakteri gel fraksi terbaik dari maserat *Zibethinus folium* 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 minimum secara *in vitro*.

2. Konsentrasi terbesar fraksi *Zibethinus folium* menimbulkan efek yang paling kuat sebagai antibakteri terhadap *Escherichia coli* secara *in vitro*.
3. Gel fraksi terbaik dari maserat *Zibethinus folium* stabil selama penyimpanan dan mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* secara *in vitro*.

1.5 Manfaat Penelitian

1.5.1 Bagi Peneliti

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

1.5.2 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.

1.5.3 Bagi Masyarakat

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

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Obat Tradisional

Obat tradisional (OT) merupakan salah satu warisan budaya bangsa Indonesia yang telah digunakan selama berabad-abad untuk memelihara dan meningkatkan kesehatan serta pencegahan dan pengobatan penyakit (Depkes RI, 2008). OT adalah bahan atau ramuan bahan yang berupa bahan tumbuhan, bahan hewan, bahan mineral, sediaan sarian (galenik) atau campuran dari bahan tersebut, yang secara turun-temurun telah digunakan untuk pengobatan berdasarkan pengalaman (BPOM, 2005).

2.2 Durian

Durian merupakan pohon hutan yang berukuran sedang hingga besar dengan tinggi dapat mencapai 50 m, serta umurnya dapat mencapai puluhan bahkan ratusan tahun. Tanaman durian dapat tumbuh dengan baik di daerah dataran rendah sampai ketinggian maksimal 800 m dpl dengan curah hujan antara 1500-2500 mm per tahun dan merata sepanjang tahun (Widyawati & Nurbani, 2017). Intensitas cahaya matahari yang dibutuhkan durian adalah 60-80%. Suhu yang dibutuhkan oleh durian rata-rata 20-30°C. Tanaman durian dapat tumbuh pada suhu 15°C tetapi pertumbuhannya tidak optimal dan jika suhu mencapai 35°C, maka daun akan terbakar (Muliani, 2008).

Durian merupakan tanaman yang berasal dari Malaysia, Brunei, dan Indonesia. Di daerah Aceh, durian dikenal dengan nama dereuyan sedangkan di daerah Sunda dan Jawa dikenal dengan nama kadu dan duren (Insanu *et al.*, 2011).

2.2.1 Klasifikasi

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae

Ordo : Malvaceae
Famili : Bombacaceae
Genus : *Durio*
Spesies : *Durio zibethinus* Murr (Rukmana, 2001)



Gambar 2.1 *Durio zibethinus* Murr (Miswarti *et al.*, 2017)

2.2.2 Morfologi

2.2.2.1 Batang

Kulit batang durian berwarna merah coklat gelap, kasar dan kadang terkelupas dengan bentuk pohon (tajuk) mirip segitiga (Widyawati & Nurbani, 2017). Tinggi pohon durian bervariasi, tergantung jarak tanam dan asal bibit. Jika ditanam rapat maka pohon cenderung tumbuh meninggi. Apabila ditanam di tempat terbuka dan jarak tanam agak renggang, pohon akan lebih pendek dan melebar. Pohon yang ditanam dari biji akan lebih tinggi daripada yang diperbanyak secara vegetatif (Muliani, 2008).

2.2.2.2 Daun

Daun berbentuk jorong hingga lanset, terletak berseling, bertangkai, berpangkal lancip atau tumpul dan berujung lancip melandai, sisi atas berwarna hijau terang, sisi bawah tertutup sisik-sisik berwarna perak atau keemasan dengan bulu-bulu (Pangkalan Ide, 2011). Struktur daun agak tebal dengan permukaan atas berwarna hijau mengilap dan bagian bawah berwarna coklat atau kuning keemasan (Wiryanta, 2008).

2.2.2.3 Bunga

Bunga muncul langsung dari batang (*cauliflorus*) atau cabang-cabang yang tua di bagian pangkal (*proximal*), berkelompok dalam karangan berisi 3-10 kuntum berbentuk tukal atau malai rata. Kuncup bunganya membulat, berdiameter sekitar 2 cm, bertangkai panjang. Kelopak bunga berbentuk tabung sepanjang lebih kurang 3 cm, daun kelopak tambahan terpecah menjadi 2-3 cuping berbentuk bundar telur (Pangkalan Ide, 2011). Bunga durian tergolong bunga sempurna, memiliki alat kelamin jantan dan betina dalam satu bunga serta berbau menyengat dan biasanya mekar pada senja hari (Widyawati & Nurbani, 2017).

2.2.2.4 Buah

Buah durian bertipe kapsul berbentuk bulat, bulat telur hingga lonjong, dengan panjang hingga 25 cm dan diameter hingga 20 cm. Kulit buahnya tebal, permukaannya bersudut tajam, berwarna hijau kekuning-kekuningan, kecoklatan, hingga keabu-abuan. Buah berkembang setelah pembuahan dan memerlukan 4-6 bulan untuk pemasakan (Pangkalan Ide, 2011). Belahan buah umumnya berjumlah 5, tebal dan berserat. Buah matang dapat dipanen pada umur 4-5 bulan setelah bunga mekar (Muliani, 2008).

2.2.2.5 Biji

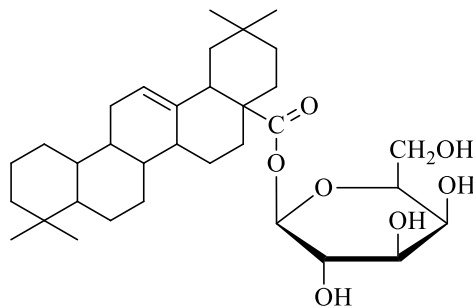
Biji terbungkus oleh arilus (salut biji, yang biasa disebut sebagai daging buah durian) berwarna putih hingga kuning terang dengan ketebalan yang bervariasi, namun pada kultivar tunggal ketebalan arilus ini dapat mencapai 3 cm (Pangkalan Ide, 2011).

2.2.3 Kandungan

Durian merupakan sumber karbohidrat terbanyak dalam dunia buah. Setiap 100 g isi durian (tanpa biji) mengandung 2,7 g protein, 3,4 g lemak, 27,9 g karbohidrat, 40 mg kalsium, 1,9 mg zat besi, 150 mg vitamin A, dan 23,3 mg vitamin C, dan 153 kalori. Kandungan gizi lain dari buah durian, yaitu: natrium, serat, kalsium, fosfor, karoten, kalium, tiamin, niasin, dan riboflavin (Pangkalan Ide, 2011). Buah durian mengandung apigenin, asam p-hidroksibenzoat, asam vanilat, asam kafeat, asam ferulat, asam anisat dan kuersetin (Poovarodom *et al.*, 2010). Kulit buah durian mengandung tanin, alkaloid, triterpenoid dan flavonoid

(Arlofa, 2015). Biji durian mengandung alkaloid, fenolik, flavonoid, dan triterpenoid (Amir & Saleh, 2014). Menurut penelitian Maradona (2013), daun durian mengandung senyawa saponin, tanin, dan steroid. Penelitian lain menyebutkan bahwa daun durian mengandung senyawa kimia flavanoid dan saponin (Kandoli *et al.*, 2016).

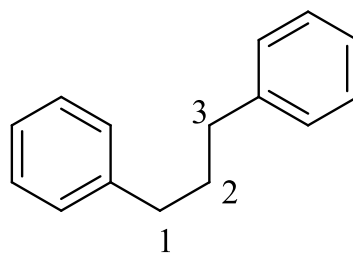
2.2.3.1 Saponin



Gambar 2.2 Struktur Senyawa Saponin (Wardana & Tukiran, 2016)

Saponin merupakan senyawa berasa pahit, menusuk dan menyebabkan bersin, dan sering mengakibatkan iritasi terhadap selaput lendir Saponin tersebar luas di antara tanaman tinggi. Keberadaan saponin sangat mudah ditandai dengan pembentukan larutan koloidal dengan air yang apabila digojog menimbulkan buih yang stabil (Gunawan & Mulyani, 2010). Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri adalah menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar secara difusi melalui membran luar dan dinding sel yang rentan. Selanjutnya, mengikat membran sitoplasma dan mengganggu, serta mengurangi kestabilan. Akibatnya sitoplasma bocor keluar dari sel dan mengakibatkan kematian sel (Ngajow *et al.*, 2013).

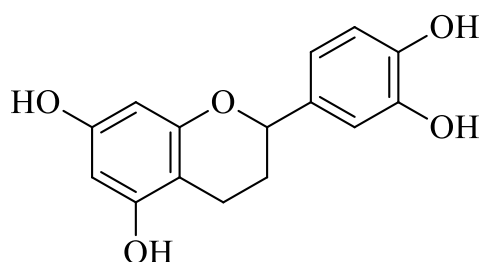
2.2.3.2 Flavonoid



Gambar 2.3 Struktur Senyawa Flavonoid (Kristanti *et al.*, 2008)

Flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol yang terbesar yang ditemukan di alam. Flavonoid di alam juga sering di jumpai dalam bentuk glikosidanya (Kristanti *et al.*, 2008). Flavonoid terutama berupa senyawa yang larut dalam air. (Harborne, 2006). Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler yang mengganggu integritas membran sel bakteri (Kumar & Pandey, 2013).

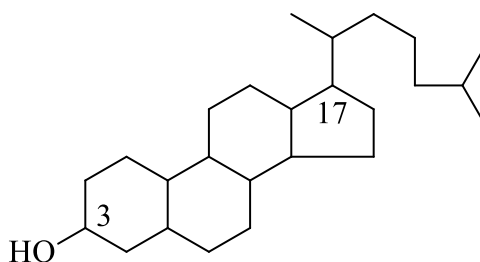
2.2.3.3 Tanin



Gambar 2.4 Struktur Senyawa Tanin (Robinson, 1995)

Tanin adalah senyawa metabolit sekunder polifenolik pada tanaman tingkat tinggi (Khanbabaee & Ree, 2001). Tanin terdapat luas dalam tumbuhan berpembuluh, dalam *angiospermae* terdapat khusus dalam jaringan kayu. Menurut batasannya, tanin dapat bereaksi dengan protein membentuk kopolimer mantap yang tak larut dalam air (Harborne, 2006). Aktivitas antibakteri tanin berdasarkan kemampuannya mengkerutkan dinding sel atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas sel bakteri. Terganggunya permeabilitas sel mengakibatkan sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati. Selain itu tanin juga memiliki daya antibakteri dengan cara mempresipitasi protein, karena mempunyai efek yang sama dengan fenolik (Courtney *et al.*, 2016).

2.2.3.4 Steroid



Gambar 2.5 Struktur Senyawa Steroid (Gunawan & Mulyani, 2010)

Steroid merupakan golongan lipid yang diturunkan dari senyawa jenuh yang dinamakan siklopentanoperhidrofenantrena, yang memiliki inti dengan 3 cincin sikloheksana terpadu dan 1 cincin siklopentana yang tergabung pada ujung cincin sikloheksana tersebut. Beberapa turunan steroid yang penting yaitu steroid alkohol atau sterol. Beberapa steroid lain yaitu asam-asam empedu, hormon seks (androgen dan estrogen) dan hormon kortikosteroid (Rachmawaty, 2016). Steroid telah dilaporkan memiliki sifat antibakteri, korelasi antara membran lipid dan sensitivitas senyawa steroid menunjukkan mekanisme dimana steroid menyebabkan kebocoran liposom (Shihabudeen *et al.*, 2010).

2.2.1 Khasiat

Daging buah digunakan untuk meningkatkan tekanan darah, penghangat badan, dan mencegah dampak dari faktor penuaan dari luar. Kulit buah digunakan untuk pengobatan ruam kulit, mempermudah buah air besar, dan mengusir nyamuk. Kulit buah juga bisa dibakar dan abunya digunakan dalam ramuan untuk melancarkan haid (Pa ngkalan Ide, 2011). Biji daun durian banyak mengandung antioksidan yang mampu menangkal radikal bebas (Amir & Saleh, 2014).

Menurut Kandoli *et al.* (2016), daun durian mempunyai aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans* dengan zona hambat rata-rata sebesar 3,55 mm. Penelitian Maradona (2013) menyebutkan bahwa 100 ppm ekstrak etanol daun durian mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dengan zona hambat 11 mm. Penelitian lain menyebutkan bahwa ekstrak etanol daun durian mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dengan konsentrasi hambat minimal 0,1 mg/ml dan konsentrasi bunuh minimal 0,25 mg/ml (Chigurupati *et al.*, 2017).

2.3 Simplisia

2.3.1 Definisi

Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dikatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia dibedakan simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia pelikan (mineral) (Depkes RI, 2000).

Simplisia secara umum merupakan produk hasil pertanian tumbuhan obat setelah melalui proses pasca panen dan proses preparasi secara sederhana menjadi bentuk produk kefarmasian yang siap dipakai atau siap proses selanjutnya, yaitu: siap dipakai dalam bentuk serbuk halus untuk diseduh sebelum diminum (jamu); siap dipakai untuk dicacah dan digodok sebagai jamu godokan (infus); diproses selanjutnya untuk dijadikan produk sediaan farmasi lain yang umumnya melalui proses ekstraksi, separasi, dan pemurnian (Depkes RI, 2000).

Simplisia daun adalah irisan daun yang telah dikeringkan dan digunakan sebagai bahan baku obat tradisional. Pembuatannya bertujuan untuk memperpanjang usia simplisia dan memberikan nilai tambah pada produk (Inartiyah *et al.*, 2011).

2.3.2 Syarat

Simplisia sebagai bahan kefarmasian seharusnya memenuhi 3 parameter mutu umum suatu bahan (material), yaitu: kebenaran jenis (identifikasi), kemurnian (bebas dari kontaminasi kimia dan biologis) serta aturan penstabilan (wadah, penyimpanan dan transportasi). Simplisia sebagai bahan dan produk konsumsi manusia sebagai obat tetap diupayakan memenuhi 3 paradigma seperti produk kefarmasian lainnya, yaitu *Quality-Safety-Efficacy* (Mutu-Aman-Manfaat). Simplisia sebagai bahan dengan kandungan kimia yang bertanggung jawab terhadap respon biologis harus mempunyai spesifikasi kimia, yaitu informasi komposisi (jenis dan kadar) senyawa kandungan (Depkes RI, 2000).

2.3.3 Penyiapan Simplisia

2.3.3.1 Sortasi Basah

Sortasi basah adalah pemilahan hasil panen ketika tanaman masih segar. Sortasi dilakukan terhadap tanah, kerikil, rumput-rumputan, bahan tanaman lain atau bagian lain dari tanaman yang tidak digunakan, dan bagian tanaman yang rusak (Gunawan & Mulyani, 2010). Sortasi basah bertujuan untuk memastikan simplisia benar dan murni, artinya berasal dari tanaman yang merupakan bahan baku simplisia yang dimaksud, bukan dari tanaman lain (Emilan *et al.*, 2011).

2.3.3.2 Pencucian

Pencucian dilakukan untuk menghilangkan tanah dan pengotoran lainnya yang melekat pada bahan simplisia. Pencucian dilakukan dengan air bersih, misalnya air dari mata air, air sumur atau air PAM. Bahan simplisia yang mengandung zat yang mudah larut di dalam air yang mengalir, pencucian agar dilakukan dalam waktu yang sesingkat mungkin. Pencucian satu kali dapat menghilangkan 25 % dari jumlah mikroba awal dan pencucian tiga kali, jumlah mikroba yang tertinggal hanya 42 % dari jumlah mikroba awal (Depkes RI, 1985). Pencucian dilakukan sampai air bekas cucian jernih (Inartiyah *et al.*, 2011).

2.3.3.3 Perajangan

Perajangan merupakan kegiatan untuk memperkecil ukuran produk atau perubahan bentuk dengan menggunakan alat dan/atau mesin dengan jenis dan spesifikasi sesuai sifat dan karakteristik tanaman (Indartiyah *et al.*, 2011). Perajangan bahan simplisia dilakukan untuk mempermudah proses pengeringan, pengepakan dan penggilingan (Depkes RI, 1985). Perajangan harus memperhatikan ketebalan yang dihasilkan, apabila terlalu tebal maka proses pengeringan akan terlalu lama dan kemungkinan dapat membusuk atau berjamur. Sedangkan, perajangan yang terlalu tipis akan berakibat rusaknya kandungan kimia karena oksidasi atau reduksi. Alat perajang atau pisau yang digunakan sebaiknya terbuat dari stainless steel (Emilan *et al.*, 2011).

2.3.3.4 Pengeringan

Pengeringan simplisia bertujuan untuk menurunkan kadar air sehingga bahan tersebut tidak mudah ditumbuhi kapang dan bakteri, menghilangkan aktivitas enzim yang bisa menguraikan lebih lanjut kandungan zat aktif, dan memudahkan dalam hal pengelolaan proses selanjutnya (Gunawan & Mulyani, 2010). Tanda bahwa simplisia sudah kering adalah mudah meremah bila diremas atau mudah patah. Menurut persyaratan obat tradisional pengeringan dilakukan sampai kadar air tidak lebih dari 10% (Emilan *et al.*, 2011).

Cara pengeringan simplisia dapat dilakukan berdasarkan senyawa aktif yang dikandung dalam bagian tanaman yang dikeringkan. Jika digunakan untuk mengeringkan bagian tanaman yang relatif keras seperti kayu, kulit kayu, biji, dan

mengandung senyawa aktif yang relatif stabil, maka dilakukan pengeringan alamiah dengan panas sinar matahari langsung. Jika digunakan untuk mengeringkan bagian tanaman yang lunak seperti bunga, daun, dan mengandung senyawa aktif mudah menguap, maka dilakukan pengeringan alamiah dengan diangin-anginkan dan tidak dipanaskan dengan sinar matahari langsung (Depkes RI, 1985).

2.3.3.5 Sortasi Kering

Sortasi kering adalah pemilihan bahan setelah mengalami proses pengeringan (Gunawan & Mulyani, 2010). Tujuan sortasi kering untuk memisahkan benda-benda asing seperti bagian-bagian tanaman yang tidak diinginkan dan pengotoran-pengotoran lain yang masih ada dan tertinggal pada simplisia kering. Proses ini dilakukan sebelum simplisia dibungkus untuk kemudian disimpan (Depkes RI, 1985).

2.3.3.6 Pengemasan dan Penyimpanan

Pengemasan simplisia dilakukan menggunakan bahan pengemas yang sesuai dengan simplisia yang akan dikemas. Misalnya simplisia yang mengandung minyak atsiri sebaiknya tidak dikemas dalam wadah plastik, karena plastik akan menyerap bau bahan tersebut. Bahan pengepak yang baik adalah karung goni atau karung plastik. Simplisia yang ditempatkan dalam karung goni atau karung plastic praktis cara penyimpanannya, yaitu dengan ditumpuk. Pengemas yang terbuat dari aluminium atau kaleng dan seng mudah melapuk, sehingga perlu dilapisi dengan plastik atau malam. Penyimpanan harus teratur dan rapi untuk mencegah resiko tercemar atau saling mencemari satu sama lain, mempermudah pengambilan, pemeriksaan dan pemeliharaannya (Emilan *et al.*, 2011).

Penyimpanan simplisia harus dilengkapi dengan label yang mencantumkan identitas, kondisi, jumlah, mutu dan cara penyimpanannya. Adapun tempat atau gudang penyimpanan harus memenuhi syarat antara lain harus bersih, tertutup, sirkulasi udara baik, tidak lembab, penerangan cukup bila diperlukan, tidak terpapar sinar matahari secara langsung (Emilan *et al.*, 2011).

2.4 Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu cara untuk menarik satu atau lebih zat dari bahan asal. Tujuan utama ekstraksi ialah mendapatkan atau memisahkan sebanyak mungkin zat-zat yang memiliki khasiat pengobatan (*concentrata*) dari zat-zat yang tidak berkhasiat, agar lebih mudah dipergunakan dan disimpan dibandingkan simplisia asal, dan tujuan pengobatannya lebih terjamin (Syamsuni, 2007).

Metode ekstraksi yang dipilih untuk digunakan dalam suatu penelitian fitokimia tertentu sangat bergantung pada tekstur dan kandungan air bahan tumbuhan yang diekstraksi dan jenis senyawa yang akan diisolasi. Pada umumnya yang perlu dilakukan dalam mengekstraksi adalah “membunuh” jaringan tumbuhan untuk mencegah terjadinya oksidasi atau hidrolisis oleh enzim (Kristanti *et al.*, 2008).

2.4.1 Metode Ekstraksi

2.4.1.1 Maserasi

Maserasi ialah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Maserasi secara teknologi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi kinetik berarti dilakukan pengadukan yang kontinyu (terus-menerus). Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama, dan seterusnya (Depkes RI, 2000).

Maserasi berasal dari bahasa latin *Macerace* berarti mengairi dan melunakkan. Maserasi merupakan cara ekstraksi yang paling sederhana. Dasar dari maserasi adalah melarutnya bahan kandungan simplisia dari sel yang rusak, yang terbentuk pada saat penghalusan, ekstraksi (difusi) bahan kandungan dari sel yang masih utuh. Setelah selesai waktu maserasi, artinya keseimbangan antara bahan yang diekstraksi pada bagian dalam sel dengan masuk ke dalam cairan telah tercapai, maka proses difusi segera berakhir. Selama maserasi atau proses perendaman dilakukan pengocokan berulang-ulang. Upaya ini menjamin keseimbangan konsentrasi bahan ekstraksi yang lebih cepat di dalam cairan. Sedangkan keadaan diam selama maserasi menyebabkan turunnya perpindahan

bahan aktif. Secara teoritis pada suatu maserasi tidak memungkinkan terjadinya ekstraksi absolut. Semakin besar perbandingan simplisia terhadap cairan pengestraksi, akan semakin banyak hasil yang diperoleh (Voight, 1994).

Lama simplisia dimaserasi tergantung pada keadaannya, biasanya ditentukan pada tiap pembuatan sediaan. Jika ada ketentuan lain, biasanya setengah sampai dua jam, sedangkan menurut *Farmakope Belanda* untuk pembuatan ekstrak atau tingtur adalah selama 5 hari (Syamsuni, 2007).

Keuntungan metode maserasi yaitu, prosedur dan peralatan yang digunakan sederhana, senyawa aktif tidak terurai karena proses ekstraksi dilakukan tanpa pemanasan (Nurhasnawati *et al.*, 2017).

2.4.1.2 Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (exhaustive extraction) yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Proses ini terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetesan/penampungan ekstrak), terus-menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali bahan (Depkes RI, 2000).

2.4.1.3 Refluks

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

2.4.1.4 Sokhletasi

Sokhletasi ialah ekstraksi dengan menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinyu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendinginan balik (Depkes RI, 2000). Ekstraksi soklet hanya diperlukan dimana senyawa yang diinginkan memiliki kelarutan terbatas dalam pelarut, dan pengotor tidak larut dalam pelarut tersebut (Tiwari *et al.*, 2011).

2.4.1.5 Digesti

Digesti merupakan maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinyu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan (kamar), yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50°C (Depkes RI, 2000).

2.4.1.6 Infus

Infus adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air mendidih, temperature terukur 96°C-98°C selama waktu tertentu (15-20 menit) (Depkes RI, 2000). Umumnya infus selalu dibuat dari simplisia yang mempunyai jaringan lunak, yang mengandung minyak atsiri, dan zat-zat yang tidak tahan pemanasan lama (Depkes RI, 1979).

2.4.1.7 Dekok

Dekok adalah infus yang waktunya lebih lama (lebih dari 30 menit) dan temperatur sampai titik didih air (Depkes RI, 2000). Dekok adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur 90°C selama 30 menit. Metode ini digunakan untuk ekstraksi konstituen yang larut dalam air dan konstituen yang stabil terhadap panas (Tiwari *et al.*, 2011).

2.4.2 Pelarut

Pelarut adalah zat yang digunakan sebagai media untuk melarutkan zat lain. Kesuksesan penentuan senyawa biologis aktif dari bahan tumbuhan sangat tergantung pada jenis pelarut yang digunakan dalam prosedur ekstraksi. Sifat pelarut yang baik untuk ekstraksi yaitu toksisitas dari pelarut yang rendah, mudah menguap pada suhu yang rendah, dapat mengekstraksi komponen senyawa dengan cepat, dapat mengawetkan dan tidak menyebabkan ekstrak terdisosiasi (Tiwari *et al.*, 2011).

Cairan pelarut dalam proses pembuatan ekstrak adalah pelarut yang baik (optimal) untuk senyawa kandungan yang berkhasiat atau yang aktif, dengan demikian senyawa tersebut dapat terpisahkan dari bahan dan dari senyawa kandungan lainnya, serta ekstrak hanya mengandung sebagian besar senyawa kandungan yang diinginkan (Depkes RI, 2000). Cairan penyari yang baik adalah cairan yang dapat melarutkan zat-zat berkhasiat tertentu, tetapi zat-zat yang tidak berguna tidak terbawa serta (Syamsuni, 2007). Faktor utama sebagai

pertimbangan dalam pemilihan cairan pelarut, yaitu: selektivitas, kemudahan bekerja dan proses dengan cairan tersebut, ekonomis, ramah lingkungan, dan keamanan (Depkes RI, 2000).

2.4.2.1 Air

Air termasuk pelarut yang murah dan mudah digunakan dengan pemakaian yang luas. Pada suhu kamar, air adalah pelarut yang baik untuk berbagai zat, misalnya garam alkaloid, glukosida, sakarida, asam tumbuh-tumbuhan, zat warna, dan garam-garam mineral. Air dapat menarik banyak zat, namun banyak diantara zat tersebut yang merupakan media yang baik untuk pertumbuhan jamur dan bakteri, akibatnya simplisia mengembang sedemikian rupa sehingga mempersulit penarikan pada perkolasi (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. Etanol juga menyebabkan enzim-enzim tidak bekerja, termasuk peragian, serta menghalangi pertumbuhan jamur dan sebagian besar bakteri sehingga di samping sebagai cairan penyari, juga berguna sebagai pengawet (Syamsuni, 2007).

2.4.2.3 Aseton

Aseton merupakan pelarut yang baik untuk berbagai lemak, minyak atsiri, dan damar (Syamsuni, 2007). Aseton melarutkan beberapa komponen senyawa hidrofilik dan lipofilik dari tumbuhan. Keuntungan pelarut aseton yaitu dapat bercampur dengan air, mudah menguap dan memiliki toksisitas rendah. Aseton digunakan terutama untuk studi antibakteri dimana banyak senyawa fenolik yang terekstraksi dengan aseton (Tiwari *et al.*, 2011).

2.4.2.4 Gliserin

Gliserin adalah pelarut yang baik untuk tanin hasil-hasil oksidasinya, jenis-jenis gom dan albumin juga larut dalam gliserin. Cairan ini tidak atsiri sehingga tidak sesuai untuk pembuatan ekstrak-ekstrak kering, tetapi baik sekali untuk pembuatan fluid gliserata, seperti yang dipergunakan dalam N.F VIII, dengan perbandingan 3 volume air dengan 1 volume gliserin (Syamsuni, 2007).

2.4.2.5 Kloroform

Kloroform tidak dipergunakan untuk sediaan dalam karena mempunyai efek farmakologi. Merupakan pelarut yang baik untuk alkaloid basa, damar, minyak lemak, dan minyak atsiri. Air kloroform dipergunakan pada pembuatan *Extractum Secalis cornuti* (Syamsuni, 2007).

2.5 Fraksinasi

Fraksinasi adalah metode pemisahan campuran menjadi beberapa fraksi yang berbeda susunannya. Fraksinasi diperlukan untuk memisahkan golongan utama kandungan yang satu dari golongan utama yang lainnya (Harborne, 2006). Fraksinasi dengan ekstraksi cair-cair dilakukan dengan pengocokan. Prinsip pemisahan pada proses fraksinasi adalah didasarkan pada perbedaan tingkat kepolaran dan perbedaan bobot jenis antara dua fraksi (Pratiwi *et al.*, 2016).

Pelarut n-heksana adalah pelarut non polar yang dapat merusak jaringan daun sehingga dapat terbuka dan senyawa metabolit sekunder pada daun dapat terekstrak. Pelarut n-heksana dapat mengekstrak senyawa kimia seperti lilin, lipid dan minyak yang mudah menguap (Harborne, 2006).

Etil asetat merupakan pelarut dengan karakteristik semipolar. Etil asetat secara selektif akan menarik senyawa yang bersifat semipolar seperti fenol dan terpenoid (Tiwari *et al.*, 2011).

2.6 Gel

Gel adalah sediaan semipadat terdiri dari suspensi yang dibuat dari partikel anorganik yang kecil atau molekul organik yang besar, terpenetrasi oleh suatu cairan. Gel dapat digunakan untuk obat yang diberikan secara topikal (Depkes RI, 1995). Gel mengandung larutan bahan aktif tunggal atau campuran dengan pembawa yang bersifat hidrofilik maupun hidrofobik. Basis dari gel merupakan senyawa hidrofilik sehingga memiliki konsistensi lembut. Efek penguapan kandungan air yang terdapat pada basis gel memberikan sensasi dingin saat diaplikasikan pada kulit. Sediaan gel hidrofilik memiliki sifat daya sebar yang baik pada permukaan kulit. Keuntungan dari gel adalah pelepasan obat dari

sediaan dinilai baik, zat aktif dilepaskan dalam waktu yang singkat dan nyaris semua zat aktif dilepaskan dari pembawanya (Voight, 1994)

Jenis gel berdasarkan fase koloid, yaitu: Anorganik (sistem dua fasa) dan gel fase tunggal. Sistem gel dua fasa merupakan gel yang terdiri dari jaringan partikel kecil yang terpisah. Sistem dua fasa yang ukuran partikel dari fase terdispersi relative besar, massa gel kadang-kadang dinyatakan sebagai magma; Organik (sistem fasa tunggal) yang terdiri dari makromolekul organik yang tersebar sama dalam suatu cairan sedemikian hingga tidak terlihat adanya ikatan antara molekul makro yang terdispersi dan cairan. Gel fase tunggal dapat dibuat dari makromolekul sintetik (seperti karbomer) atau dari gom alam (misalnya Tragakan) (Depkes RI, 1995).

2.6.1 Monografi Bahan

2.6.1.1 Karbopol

Karbopol merupakan *gelling agent* yang sering digunakan karena dengan konsentrasi yang kecil dapat menghasilkan gel dengan viskositas yang tinggi (Rowe *et al.*, 2009). Karbopol berwarna putih, memiliki tekstur seperti bulu, asam, bubuk higroskopis dengan sedikit bau yang khas. Karbopol merupakan basis gel yang kuat, memiliki keasaman yang tinggi sehingga dalam penggunaannya sebagai *gelling agent* hanya dibutuhkan sekitar 0,5-2,0% (Rowe *et al.*, 2009). pH karbopol sekitar 3,0 dan pada pH yang lebih tinggi (sekitar 5 atau 6), viskositas karbopol akan meningkat. Karbopol ketika kontak dengan air dan terbongkar menjadi pH netral dapat mengembang hingga 1000 kali dari volumenya (Samala & Sridevi, 2016).

2.6.1.2 Propilen Glikol

Propilen glikol ($C_3H_8O_2$) merupakan cairan bening, tidak berwarna, kental, praktis tidak berbau, manis, dan memiliki rasa yang sedikit tajam menyerupai gliserin. Propilen glikol larut dalam aseton, kloroform, etanol (95%), gliserin, dan air; larut pada 1 pada 6 bagian eter, tidak larut dengan minyak mineral ringan atau *fixed oil*, tetapi akan melarutkan beberapa minyak esensial. Sebagai humektan, konsentrasi propilenglikol yang biasa digunakan adalah 15% (Rowe *et al.*, 2009).

Humektan adalah bahan dalam produk kosmetik yang bertujuan untuk mencegah hilangnya lembab dari produk dan meningkatkan jumlah air (kelembaban) pada lapisan kulit terluar saat produk diaplikasikan (Barel *et al.*, 2009). Humektan membantu menjaga kelembaban kulit dengan mekanisme yaitu menjaga kandungan air pada lapisan stratum korneum serta mengikat air dari lingkungan ke kulit (Leyden & Rawlings, 2002).

2.6.1.3 Triethanolamine (TEA)

TEA memiliki penampilan yang jernih, berupa cairan kental yang berwarna kuning serta sedikit memiliki bau amonia. TEA memiliki pH 10,5 dalam 0,1 N larutan, sangat higroskopis, berwarna coklat apabila terpapar udara dan cahaya. TEA digunakan sebagai agen pembasa dan dapat juga digunakan sebagai *emulsifying agent* (Rowe *et al.*, 2009). Penambahan TEA dapat menggeser keseimbangan ion sehingga terbentuk struktur garam larut air. Hal ini menyebabkan terjadinya tolakan ionik pada grup karboksilat dan polimer menjadi kaku dan keras, sehingga meningkatkan viskositas air dan karakteristik gel terbentuk (Wulandari, 2015).

2.6.1.4 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. Etanol dalam sediaan topikal digunakan dalam pengembangan sistem penghantaran sediaan topikal sebagai peningkat permeasi (Rowe *et al.*, 2009).

2.6.1.5 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 (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).

2.6.1.6 Metil Paraben

Metil Paraben berbentuk serbuk kristal, berwarna putih dan tidak berbau. Nama kimia metil paraben adalah *methyl-4-hydroxybenzoate* dengan rumus kimia $C_8H_8O_3$. Kelarutan metil paraben terhadap pelarut etanol yakni 1:2, sedangkan terhadap air yakni 1:400, 1:50 (pada suhu $50^{\circ}C$), dan 1:30 (pada suhu $80^{\circ}C$). Range konsentrasi yang digunakan dalam sediaan topikal, yaitu 0,02-0,3%. Metil paraben merupakan paraben yang paling aktif. Aktivitas antibakteri meningkat dengan meningkatnya panjang rantai alkil. Aktivitas zat dapat diperbaiki dengan menggunakan kombinasi paraben yang memiliki efek sinergis terjadi. Kombinasi yang sering digunakan adalah dengan metil-, etil-, propil-, dan butil paraben (Rowe *et al.*, 2009).

2.6.1.7 Propil Paraben

Propil paraben ($C_{10}H_{12}O_3$) atau nipasol berbentuk bubuk putih, kristal, tidak berbau, dan tidak berasa. Propil paraben banyak digunakan sebagai pengawet antibakteri dalam kosmetik, produk makanan, dan formulasi sediaan farmasi. Range konsentrasi yang digunakan dalam sediaan topikal, yaitu 0,01-0,6%. Propil paraben menunjukkan aktivitas antibakteri antara pH 4-8. Efikasi pengawet menurun dengan meningkatnya pH karena pembentukan anion fenolat. Paraben lebih aktif terhadap ragi dan jamur daripada terhadap bakteri. Mereka juga lebih aktif terhadap gram-positif dibandingkan terhadap bakteri gram-negatif (Rowe *et al.*, 2009).

2.7 Bakteri

2.7.1 Definisi

Bakteri merupakan sel prokariot yang khas, uniseluler dan tidak mengandung struktur yang membatasi membran di dalam sitoplasmanya. Reproduksi terutama dengan pembelahan biner sederhana yaitu suatu proses aseksual. Morfologi bakteri terdiri dari tiga bentuk, yaitu sferis (kokus), batang (basil), dan spiral. Ukuran bakteri bervariasi tetapi pada umumnya berdiameter sekitar 0,5-1,0 μm dan panjang 1,5-2,5 μm (Pelczar & Chan, 2008).

2.7.2 Penggolongan Bakteri

Bakteri dapat digolongkan ke dalam dua kelompok berdasarkan perbedaan struktur dinding selnya. Cara yang digunakan untuk mengelompokkan bakteri berdasarkan struktur dinding selnya adalah pewarnaan/pegecatan Gram. Struktur dinding sel akan menentukan respon pewarnaan. Pengelompokan bakteri menurut pewarnaan Gram ada dua, yaitu: bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif (Madigan *et al.*, 2015).

Dinding sel bakteri Gram positif sebagian besar terdiri atas beberapa lapisan peptidoglikan yang membentuk struktur yang tebal dan kaku. Kekakuan dinding sel bakteri yang disebabkan karena lapisan peptidoglikan dan ketebalan peptidoglikan ini membuat bakteri Gram positif resisten terhadap lisis osmotik (Jawetz *et al.*, 2005). Beberapa bakteri gram positif juga mengandung asam teikoat. Salah satu fungsi asam teikoat adalah mengikat Ca^{2+} dan Mg^{2+} kemudian ditransfer ke dalam sel. Hasil pengecatan gram positif adalah bakteri berwarna ungu (Madigan *et al.*, 2015).

Dinding sel bakteri Gram negatif mengandung lapisan peptidoglikan yang tipis, membran luar yang terdiri dari protein, lipoprotein, fosfolipid, lipopolisakarida dan membran dalam. Selain itu dinding sel bakteri Gram negatif mengandung polisakarida dan lebih rentan terhadap kerusakan mekanik dan kimia (Jawetz *et al.*, 2005). Hasil pengecatan gram negatif adalah bakteri berwarna merah (Madigan *et al.*, 2015).

2.8 *Escherichia coli*

2.8.1 Klasifikasi *Escherichia coli*

Kingdom	: Prokaryotae
Division	: Gracilicutes
Class	: Scotobacteria
Order	: Eubacteriales
Family	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Escherichia</i>
Species	: <i>coli</i> (Jawetz <i>et al.</i> , 2013)

2.8.2 Morfologi *Escherichia coli*



Gambar 2.6 *Escherichia coli* Perbesaran asli 1000 x (Jawetz *et al.*, 2013)

Escherichia coli adalah kuman oportunistik yang banyak ditemukan di dalam usus besar manusia sebagai flora normal. Kuman berbentuk batang pendek (kokobasil), gram negatif, ukuran $0,4-0,7 \mu\text{m} \times 1,4 \mu\text{m}$, sebagian besar gerak positif dan beberapa strain mempunyai kapsul (FK UI, 1994). *Escherichia coli* tidak membentuk spora, tidak tahan asam, sebagian besar bergerak (motil) dengan flagel peritrikus (merata tersebar ke seluruh permukaan sel) tetapi ada pula yang nonmotil, dan beberapa strain mempunyai kapsul. Bakteri ini dapat tumbuh secara anaerob fakultatif (umumnya bersifat kemoheterotrof). Nilai pH umum untuk pertumbuhannya adalah 7,0-7,5 serta kisaran suhu untuk pertumbuhannya 10-40°C dengan suhu optimum 37°C. *Escherichia coli* sangat tidak sensitif terhadap panas (Maradona, 2013).

Identifikasi *E. coli* dapat dilakukan pada media diferensial *Eosin Methylen Blue Agar* (EMBA). Media ini memiliki kandungan metilen biru dimana zat tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif sehingga yang tumbuh hanya bakteri Gram negatif saja. Selain itu, EMBA memiliki kondisi yang asam sehingga hal tersebut membuat kompleks presipitat dan menimbulkan warna hijau kilap logam pada *E. coli* (Putri, 2015).

2.9 Antibakteri

Antibakteri adalah bahan atau senyawa yang dapat membasmi bakteri terutama bakteri patogen. Senyawa antibakteri harus mempunyai sifat toksisitas selektif, yaitu berbahaya bagi parasit tetapi tidak berbahaya bagi inangnya (Rachmawaty, 2016).

Antibakteri sering disebut sebagai bakteristatik atau bakterisidal. Istilah bakteristatik menggambarkan suatu obat yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Sedangkan istilah bakterisidal menggambarkan suatu obat yang menyebabkan kematian pada mikroorganisme (Katzung *et al.*, 2012).

2.9.1 Mekanisme Kerja Antibakteri

2.9.1.1 Menghambat Metabolisme Sel

Aktibakteri bekerja dengan menghambat pembentukan asam folat dari asam amino benzoat (PABA). Asam folat dibutuhkan bakteri untuk kelangsungan hidupnya. Apabila kebutuhan asam folat tidak tercukupi, maka kehidupan mikroba akan terganggu. Dengan mekanisme kerja ini diperoleh efek bakteristatik (Gunawan, 2012).

2.9.1.2 Menghambat Sintesis Asam Nukleat Sel

DNA, RNA, dan protein memegang peranan sangat penting di dalam proses kehidupan normal sel. Hal ini berarti bahwa gangguan apapun yang terjadi pada pembentukan atau pada fungsi zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel. Bahan antibakteri dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan ikatan yang sangat kuat pada enzim DNA Dependent dan RNA Polymerase bakteri sehingga menghambat sintesis RNA bakteri (Jawetz *et al.*, 2005).

2.9.1.3 Mengganggu Keutuhan Membran Sel

Membran plasma bersifat *semipermeable* dan mengendalikan transport berbagai metabolit ke dalam dan keluar sel. Adanya gangguan atau kerusakan struktur pada membran plasma dapat menghambat atau merusak kemampuan membran plasma sebagai penghalang (*barrier*) osmosis dan mengganggu sejumlah proses biosintesis yang diperlukan dalam membran (Jawetz *et al.*, 2005).

2.9.1.4 Menghambat Sintesis Dinding Sel

Antibakteri bekerja dengan merusak atau mencegah sintesis lapisan peptidoglikan yang menyusun dinding sel bakteri, akibatnya bakteri akan lisis. Mekanisme ini menjadi dasar efek bakterisidal terhadap bakteri yang peka (Gunawan, 2012).

2.9.1.5 Menghambat Sintesis Protein Sel

Antibakteri dengan mekanisme penghambatan sintesis protein sel. Sintesis protein merupakan hasil akhir dari dua proses utama, yakni transkripsi (sintesis asam ribonukleat) dan translasi (sintesis protein yang ARN-dependent). Antibakteri yang dapat menghambat salah satu dari proses tersebut dapat menghambat sintesis protein. Salah satu mekanisme penghambatan sintesis protein dilakukan adalah dengan menghambat perlekatan tRNA dan mRNA ke ribosom (Jawetz *et al.*, 2005).

2.9.2 Antibakteri Pembanding

Karakteristik klindamisin hidroklorida yang digunakan sebagai antibakteri pembanding menurut FI VI adalah sebagai berikut:

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 μg 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).

2.10 Uji Aktivitas Antibakteri

Respon pertumbuhan populasi mikroorganisme terhadap antibakteri dapat diukur dengan uji aktivitas antibakteri (Pratiwi, 2008). Aktivitas antibakteri dapat diukur secara *in vitro* untuk menentukan potensi agen antibakteri dalam larutan, konsentrasi antibakteri dalam cairan tubuh atau jaringan, dan kepekaan mikroorganisme penyebab terhadap obat yang diketahui (Jawetz *et al.*, 2005).

2.10.1 Metode difusi

2.10.1.1 *Disc Diffusion*

Metode *disc diffusion* (tes Kirby & Bauer) merupakan metode yang digunakan untuk menentukan aktivitas agen antibakteri. Piringan yang berisi agen antibakteri diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media agar. Area jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antibakteri pada permukaan media agar (Pratiwi, 2008).

2.10.1.2 *E-test*

E-test merupakan metode yang digunakan untuk mengestimasi MIC. Pada metode ini digunakan strip plastik yang mengandung agen antibiotik dari kadar terendah hingga tertinggi dan diletakkan pada permukaan media agar yang telah ditanami mikroorganisme. Pengamatan dilakukan pada area jernih yang ditimbulkannya yang menunjukkan kadar agen antibakteri yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme pada media agar (Pratiwi, 2008).

2.10.1.3 *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 antibakteri 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).

2.10.1.4 *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).

2.10.1.5 *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. 1 Kategori respon hambatan pertumbuhan bakteri (David & Stout, 1971)

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

2.10.2 Metode dilusi

2.10.2.1 Metode Dilusi Cair

Metode dilusi *cair/broth dilution test (serial dilution)* merupakan metode untuk mengukur MIC dan MBC. 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 (Pratiwi, 2008). Uji kepekaan cara dilusi cair dengan menggunakan tabung reaksi, tidak praktis dan jarang dipakai (Jawetz *et al.*, 2005).

2.10.2.2 Metode Dilusi Padat

Metode dilusi padat/*solid dilution test* merupakan metode yang cocok untuk pengujian kepekaan antibakteri dan antijamur (Balouiri *et al.*, 2016). Metode ini serupa dengan metode dilusi cair namun menggunakan media padat (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 untuk pembuatan simplisia, serbuk daun durian 500 g dan etanol 70% 2500 ml untuk pembuatan maserat. Maserat daun durian, asam asetat glasial dan asam sulfat pekat untuk uji kadar etanol maserat. Maserat daun durian, n-heksan, etil asetat, etanol, klorofom, asam sulfat (H₂SO₄) pekat, magnesium, HCl, dan larutan FeCl₃ 1% untuk skrining fitokimia dan fraksinasi. Fraksi daun durian 15%, 30% dan 40%, karbopol, propilen glikol, etanol, metil paraben, propil paraben, *ethylenediaminetetraacetic acid* (EDTA), trietanolamin (TEA), dan *aqua destilata* untuk pembuatan gel. *Nutrient agar* (NA), *nutrient broth* (NB), *aqua destilata*, *eosin methylene blue agar* (EMBA), *Escherichia coli*, NaCl fisiologis, Mc Farland, fraksi daun durian, gel fraksi daun durian gel klindamisin dan DMSO untuk uji aktivitas antibakteri.

3.2 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah gunting, blender, ayakan mesh 60, neraca analitik dan wadah simplisia untuk pembuatan simplisia. Botol kaca coklat, corong kaca, kain mori, oven dan *beaker glass* untuk pembuatan maserat. 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 maserat. Tabung reaksi, pipet ukur, *beaker glass*, pipet tetes, *stop watch*, corong pisah, corong kaca, kertas saring dan *beaker glass* untuk skrining fitokimia dan fraksinasi. *Beaker glass*, batang pengaduk, mortar, stamper, sudip, pipet ukur dan pipet tetes untuk pembuatan gel. *Beaker glass*, 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. 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.

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

3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas adalah variabel yang dapat menjadi penyebab atau yang mempengaruhi perubahannya atau munculnya variabel dependen (terikat) (Sugiyono, 2013). Variabel bebas yang digunakan dalam penelitian ini adalah fraksi daun durian (*Zybethinus folium*) dengan seri konsentrasi 15%, 30, dan 40%.

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 metode ekstraksi (maserasi), jenis bakteri (*Escherichia coli*), metode uji antibakteri dan formulasi sediaan gel.

3.5.3 Variabel Terikat

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

3.6 Metode Penelitian

3.6.1 Determinasi Tanaman

Sampel tanaman daun durian diidentifikasi di di Materia Medica Batu Malang untuk mengetahui morfologi daun durian (*Zybethinus folium*).

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, menggunakan air bersih dari sumur secara mengalir yang bertujuan untuk menghilangkan tanah atau pengotor lain yang melekat dan ditiriskan. Proses berikutnya dilakukan pengeringan dengan cara diangin-anginkan sampai kering dan dilakukan sortasi kering (Depkes RI, 1985).

3.6.3 Uji Kadar Air Serbuk Simplisia

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

3.6.4 Uji Susut Pengeringan

Uji susut pengeringan simplisia dilakukan menggunakan botol timbang tertutup yang telah dipanaskan pada suhu 105°C dan ditara. Simplisia sebanyak 1-2 g dimasukkan dalam botol timbang dan diratakan hingga membentuk lapisan setebal kurang lebih 5-10 mm, kemudian dimasukan kedalam ruang pengering,

dibuka tutup dan dikeringkan pada suhu 105⁰C hingga dicapai bobot tetap (Depkes RI, 2000).

3.6.5 Pembuatan Maserat

Simplisia yang diperoleh dihaluskan dengan blender dan diayak dengan ayakan nomor 60. Serbuk simplisia ditimbang seberat 500 g. Serbuk yang telah ditimbang kemudian dimaserasi menggunakan pelarut etanol 70% sebanyak 2500 ml selama 72 jam. Filtrat kemudian disaring menggunakan kain mori rangkap dua. Filtrat hasil saringan diuapkan dengan oven pada suhu 70°C untuk mendapatkan maserat (Kandoli *et al.*, 2016).

3.6.6 Uji Bebas Etanol Maserat

Uji bebas etanol maserat dilakukan dengan memasukkan sejumlah maserat kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 1 ml asam asetat glasial dan 1 ml asam sulfat pekat. Campuran tersebut dihomogenkan dan dipanaskan, kemudian tabung ditutup dengan kapas. Hasil positif bebas etanol ditunjukkan dengan tidak terdapat bau ester (Depkes RI, 1995).

3.6.7 Skrining Fitokimia

3.6.7.1 Saponin

Sampel sebanyak \pm 1 ml dididihkan dengan 10 ml *aqua destilata* dalam penangas air. Filtrat dikocok dan didiamkan selama 15 menit. Terbentuknya busa yang stabil (bertahan lama) berarti positif terdapat saponin (Harborne, 2006).

3.6.7.2 Flavonoid

Sampel sebanyak \pm 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, dan hijau pada lapisan etanol menunjukkan adanya flavonoid (Harborne, 2006).

3.6.7.3 Steroid

Sampel sebanyak \pm 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 (reagen Liebermann-Burchard). Perubahan warna dari ungu ke biru atau hijau menunjukkan adanya steroid (Harborne, 2006).

3.6.7.4 Tanin

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

3.6.8 Fraksinasi

Maserat 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). Filtrat hasil saringan diuapkan dengan oven pada suhu 60°C.

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 destilata*, 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* (EMBA)

Serbuk EMB sebanyak 0,36 g dilarutkan dalam 10 ml *aqua destilata*, 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).

3.6.10.3 Pembuatan Media *Nutrient Agar* (NA)

Serbuk NA sebanyak 4,2 g dilarutkan dalam 210 ml *aqua destilata*, 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 maserat daun durian diencerkan dengan menggunakan *dimethylsulfoxide* (DMSO) 5%. Seri konsentrasi yang dibuat adalah 15%, 30%, dan 40% dalam volume masing-masing 10 ml.

3.6.13 Pembuatan Suspensi Bakteri

Satu ose biakan bakteri *Escherichia coli* yang telah diremajakan 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 *Zibethinus folium*

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 15%, 30%, dan 40% 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 klindamisin. Kontrol negatif disiapkan dengan mencelupkan kertas cakram

dalam *dimethylsulfoxide* (DMSO) 5%. Cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Diukur diameter zona hambat (Jayaprakash & Nagarajan, 2016).

3.6.15 Formulasi Gel

Tabel III. 2 Formula Standart Gel (Aparna *et al.*, 2016)

Bahan	Konsentrasi
Ekstrak daun <i>Nyctanthes arbor 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 destilata</i>	ad 100 ml
TEA	q.s

Tabel III. 3 Formulasi Gel Fraksi Daun Durian Dimodifikasi

Bahan	Konsentrasi	Standart (Rowe <i>et al.</i> , 2009)
Maserat daun	Konsentrasi optimum	-
Karbopol	1 %	0,5-2,0%
Propilen glikol	2 %	≈ 15%
Etanol	0,1 %	-
EDTA	0,05 %	0,05-0,1%
Metil paraben	0,18 %	0,02-0,3%
Propil paraben	0,02 %	0,01-0,6%
<i>Aqua destilata</i>	ad 20 ml	-
TEA	q.s	-

3.6.16 Pembuatan Gel

Ditimbang karbopol sebanyak 0,1 g dan ditaburkan diatas 20 ml *aqua destilata* panas didiamkan selama 24 jam sampai mengembang sehingga terbentuk massa gel. Dibagi *aqua destilata* menjadi dua bagian. Bagian pertama terdiri dari fraksi daun durian dan propilen glikol dalam 9,75 ml *aqua destilata*. Bagian kedua terdiri dari metil paraben dan propil paraben dalam 9,75 ml *aqua destilata*. Ditambahkan bagian kedua ke dalam massa gel diaduk sampai homogen. Kedua bagian dicampur dalam gelas beker dan ditambahkan TEA tetes demi tetes sambil diaduk untuk membentuk konsistensi gel, selanjutnya dilakukan evaluasi sediaan gel (Aparna *et al.*, 2016).

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 destilata* dalam gelas beker. Larutan diukur pHnya menggunakan pH indikator universal sebanyak tiga kali replikasi dan dihitung nilai rata-rata pH (Kaur & Guleri, 2013). pH sediaan gel harus sesuai dengan pH kulit yaitu 4,5-6,5 (Manus *et al.*, 2016).

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 Proteksi

Sediaan gel dioleskan pada kertas saring yang sebelumnya telah ditetesi fenolftalein. 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).

3.6.17.5 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). Menurut Manus *et al.* (2016) daya sebar 5-7 cm menunjukkan konsistensi semisolid yang sangat nyaman dalam penggunaan.

3.6.17.6 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). Daya lekat yang baik memungkinkan obat tidak mudah lepas dan semakin lama melekat pada kulit, sehingga dapat menghasilkan efek yang diinginkan. Persyaratan daya lekat yang baik untuk sediaan topikal adalah tidak kurang dari 4 detik (Sari *et al.*, 2015).

3.6.17.7 Uji Stabilitas

Uji kestabilan sediaan gel meliputi warna, bau, homogenitas, dan pH dievaluasi pada suhu kamar ($27\pm 2^{\circ}\text{C}$) dalam waktu 4 minggu dengan pengamatan setiap 2 minggu sekali (Sugiyati *et al.*, 2015).

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 sejumlah 10 mikroliter. 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 mengoleskan kertas cakram dalam gel klindamisin. Kontrol negatif disiapkan dengan mengoleskan kertas cakram dalam gel yang mengandung DMSO 5%. Cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Diukur diameter zona hambat (Jayaprakash & Nagarajan, 2016).

3.7 Jalan Penelitian

Kelompok I	Kontrol negatif, yaitu DMSO 5%.
Kelompok II	Kontrol positif, yaitu klindamisin.
Kelompok III	Kelompok uji, yaitu fraksi n-heksan, etil asetat, dan air dengan seri konsentrasi 15%, 30%, dan 40%.

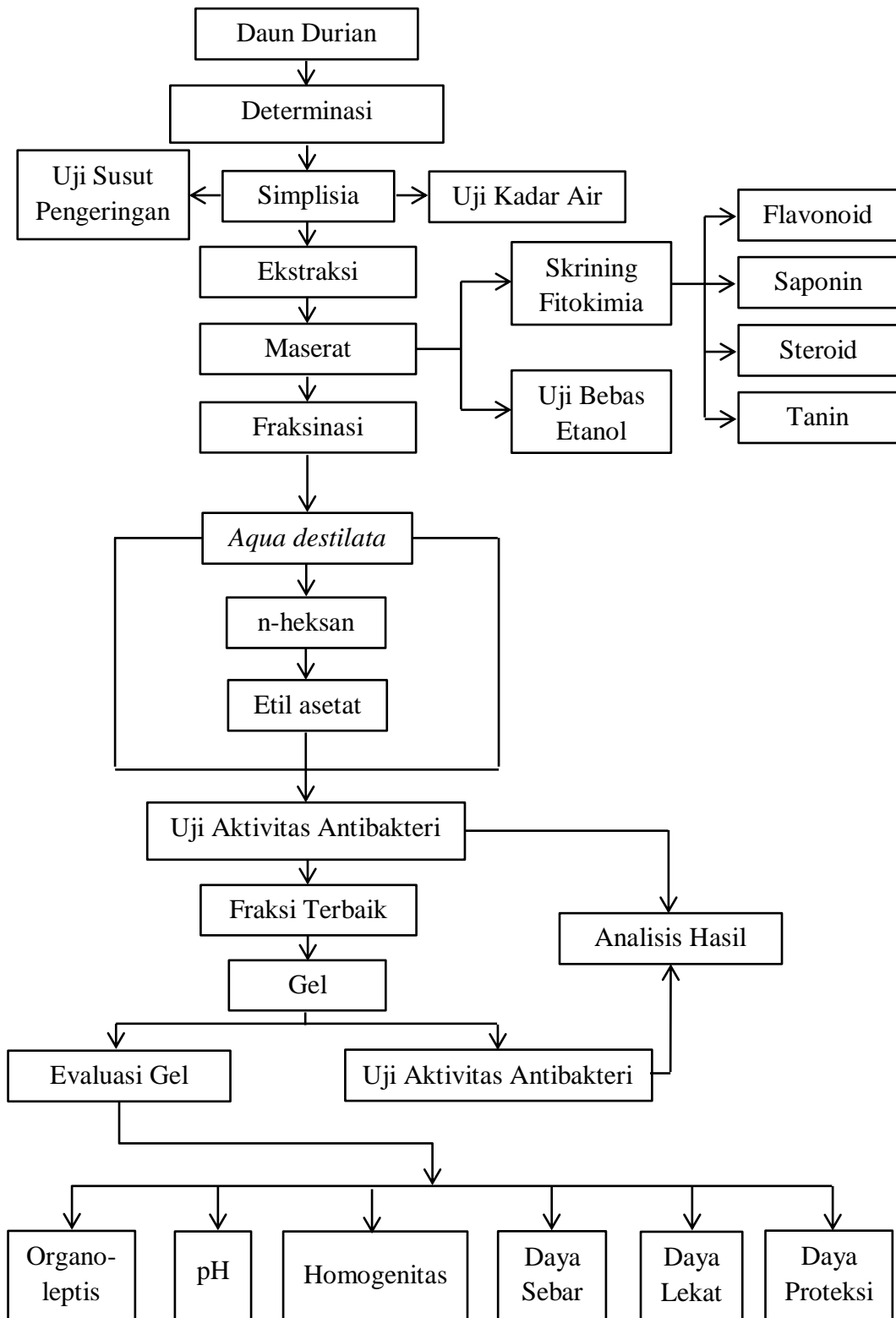
Penelitian ini dimulai dari determinasi tanaman durian yang dilakukan di *Materia Medica* Batu Malang. dan selanjutnya dilakukan pembuatan simplisia serbuk dari 5 kg daun durian segar. Simplisia tersebut dilakukan uji kadar air dan susut pengeringan. Tahap selanjutnya dilakukan ekstraksi, sebanyak 500 g simplisia serbuk diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70% sebanyak 2500 ml dan diperoleh maserat daun durian. Maserat daun durian kemudian dilakukan uji bebas etanol, skrining fitokimia (flavonoid, steroid, saponin dan tannin) serta fraksinasi. Fraksinasi dilakukan menggunakan pelarut n-heksana (non polar), etil asetat (semi polar) dan *aqua destilata* (polar). Fraksi tersebut dibuat seri konsentrasi sebesar 15%, 30%, dan 40% dan diuji aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* menggunakan metode difusi cakram dan diperoleh daya hambat. Fraksi dengan seri konsentrasi yang menghasilkan daya hambat terbaik selanjutnya akan dibuat dalam formulasi gel. Gel tersebut kemudian dilakukan evaluasi sediaan dan uji aktivitas antibakteri. Evaluasi sediaan yang dilakukan meliputi uji organoleptik (bentuk, bau dan warna), 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 tersebut kemudian akan dilakukan analisis hasil dengan menggunakan aplikasi SPSS 16.

3.8 Analisa Hasil

Data hasil penelitian aktivitas antibakteri fraksi daun durian pada *Escherichia coli* dianalisis menggunakan program SPSS 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 value *levene statistics* $< 0,05$ (Yamin & Kurniawan, 2014). Jika variasi sampel tidak sama, maka untuk melanjutkan analisis, salah satu caranya adalah mengubah (transform) jenis data dependen variabel ke bentuk logaritmik (Sujarweni, 2012).

3.9 Alur Penelitian



Gambar 3.7 Alur penelitian

BAB IV HASIL PENELITIAN

4.1 Data Mentah

4.1.1 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan di Materia Medica Batu Malang. Hasil determinasi menunjukkan bahwa sampel yang digunakan adalah tanaman durian (*Durio zibethinus* Murr) famili Bombacaceae, 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 seperti yang ditunjukkan pada Lampiran 1.

4.1.2 Uji Kadar Air Serbuk Simplisia

Tabel IV. 4 Hasil uji kadar air *Zibethinus folium*

Sampel	Hasil
<i>Zibethinus folium</i>	3,1%

Rumus (4.1)

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{\text{Bobot serbuk sebelum di oven} - \text{bobot serbuk setelah di oven}}{\text{Bobot serbuk setelah di oven}} \times 100\%$$

(Depkes RI, 2000)

4.1.3 Uji Susut Pengeringan

Tabel IV. 5 Hasil uji susut pengeringan *Zibethinus folium*

Sampel	Hasil
<i>Zibethinus folium</i>	45%

Rumus (4.2)

$$\% \text{ Susut pengeringan} = \frac{\text{Bobot daun kering}}{\text{Bobot daun basah}} \times 100\%$$

(Depkes RI, 1995)

4.1.4 Rendemen Maserat

Tabel IV. 6 Hasil persentase rendemen maserat *Zibethinus folium*

Sampel	Hasil
<i>Zibethinus folium</i>	4,75%

Rumus (4.3)

$$\% \text{ Rendemen Maserat} = \frac{\text{Bobot maserat}}{\text{Bobot serbuk}} \times 100\%$$

(Depkes RI, 2000)

4.1.5 Uji Bebas Etanol Maserat

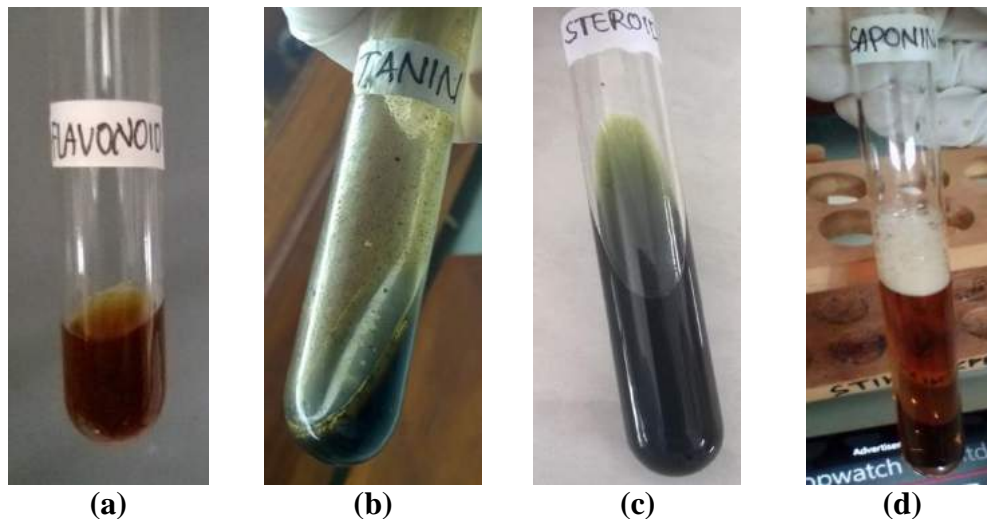
Tabel IV. 7 Hasil uji bebas etanol maserat *Zibethinus folium*

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

4.1.6 Skrining Fitokimia

Tabel IV. 8 Hasil skrining fitokimia maserat *Zibethinus folium*

Golongan Senyawa	Hasil	Keterangan
Flavonoid	+	Terbentuknya warna orange
Saponin	+	Terbentuknya busa yang stabil
Steroid	+	Terbentuknya warna hijau
Tanin	+	Terbentuknya warna hitam kebiruan



Gambar 4.8 Hasil skrining fitokimia maserat *Zibethinus folium*: (a) flavonoid, (b) tanin, (c) steroid, (d) saponin

4.1.7 Fraksinasi

Tabel IV. 9 Hasil persentase rendemen maserat *Zibethinus folium*

Sampel	Hasil
Fraksi <i>Aqua destilata</i>	67,3 %
Fraksi n-heksan	21 %
Fraksi Etil Asetat	13 %

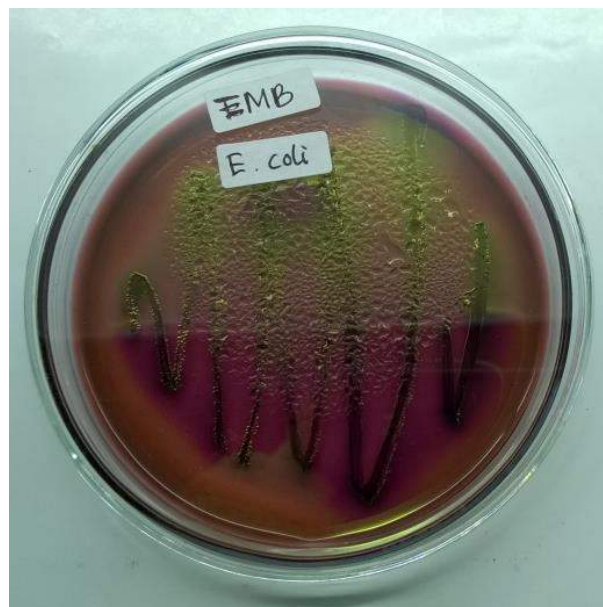
Rumus (4.4)

$$\% \text{ Rendemen Fraksi} = \frac{\text{Bobot fraksi}}{\text{Bobot maserat}} \times 100\%$$

4.1.8 Identifikasi *Escherichia coli*

Tabel IV. 10 Hasil identifikasi *Escherichia coli*

Sampel	Hasil	Keterangan
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	+	Menunjukkan kilap logam dan bintik biru kehijauan pada media EMBA



Gambar 4.9 Identifikasi *Escherichia coli* ATCC 25922

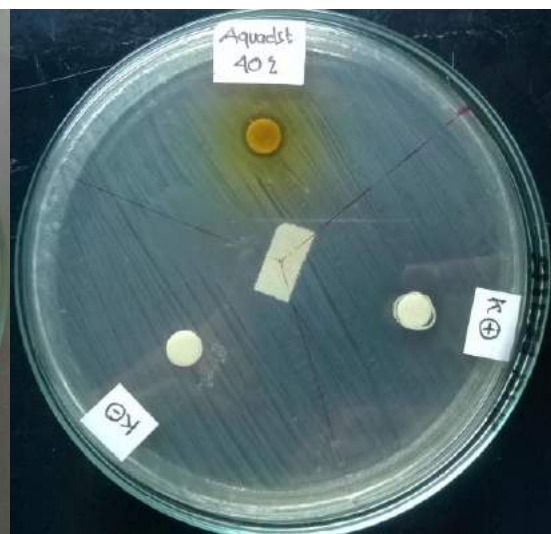
4.1.9 Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi *Zibethinus folium*

Tabel IV. 11 Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi *Zibethinus folium*

Sampel	Diameter Hambat (mm)			Rata-rata
	I	II	III	
Fraksi <i>Aqua destilata</i> 40%	9 mm	7,5 mm	8,5 mm	8,33 mm
Fraksi n-Heksan 40%	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
Fraksi Etil asetat 40%	7 mm	6 mm	7 mm	6,67 mm
Kontrol (+)	11 mm	11,5	10 mm	10,83 mm
Kontrol (-)	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm



Gambar 4.10 Diameter zona hambat fraksi *Zibethinus folium* terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922



Gambar 4.11 Diameter zona hambat fraksi *Aqua destilata* 40% terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922

4.1.10 Evaluasi Gel Fraksi *Aqua destilata* 5%

Tabel IV. 12 Hasil evaluasi gel fraksi *Aqua destilata* 5%

Evaluasi Gel	Hari Ke		
	0	14	28
Organoleptis			
a. Bentuk	Semi padat	Semi padat	Semi padat
b. Warna	Coklat	Coklat	Coklat
c. Bau	Berbau khas	Berbau khas	Berbau khas
pH	9	9	9
Homogenitas	Homogen	Homogen	Homogen
Daya Sebar	6,88 cm	6,28 cm	5,28 cm
Daya Lekat	1,10 detik	1,39 detik	2,21 detik
Daya Proteksi	Merah muda	Merah muda	Merah muda

4.1.11 Uji Aktivitas Antibakteri Gel Fraksi *Aqua destilata* 5%

Tabel IV. 13 Hasil uji aktivitas antibakteri gel fraksi *Aqua destilata* 5%

Sampel	Diameter Hambat (mm)			Rata-rata
	I	II	III	
Gel Fraksi <i>Aqua destilata</i> 40%	10,5 mm	9 mm	10 mm	9,83 mm
Kontrol (+)	10 mm	11	11 mm	10,67 mm
Kontrol (-)	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm



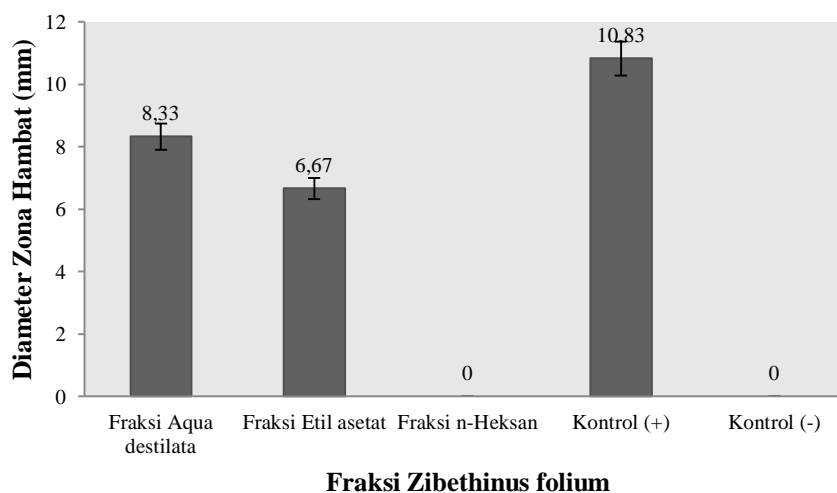
Gambar 4.12 Diameter zona hambat gel fraksi *Aqua destilata* 5% terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922

4.2 Data Olahan

4.2.1 Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi *Zibethinus folium*

Tabel IV. 14 Diameter zona hambat fraksi *Zibethinus folium* terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922

Sampel	Diameter Zona Hambat (mm) \pm SD
Fraksi <i>Aqua destilata</i> 40%	8,33 \pm 0,76
Fraksi n-Heksan 40%	0,00 \pm 0,00
Fraksi Etil asetat 40%	6,67 \pm 0,58
Kontrol (+)	10,83 \pm 0,76
Kontrol (-)	0,00 \pm 0,00



Gambar 4.13 Diameter zona hambat fraksi *Zibethinus folium* terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922

Tabel IV. 15 Analisis hasil uji aktivitas antibakteri fraksi *Zibethinus folium*

Analisa Data	Metode	Sig.
Uji Normalitas	<i>Kolmogorov-Smirnov Test</i>	0,875
Uji Homogenitas	<i>Levene Statistic</i>	0,025
Analisa Hasil	<i>One-Way ANOVA</i>	0,001

4.2.2 Evaluasi Gel Fraksi *Aqua destilata* 5%

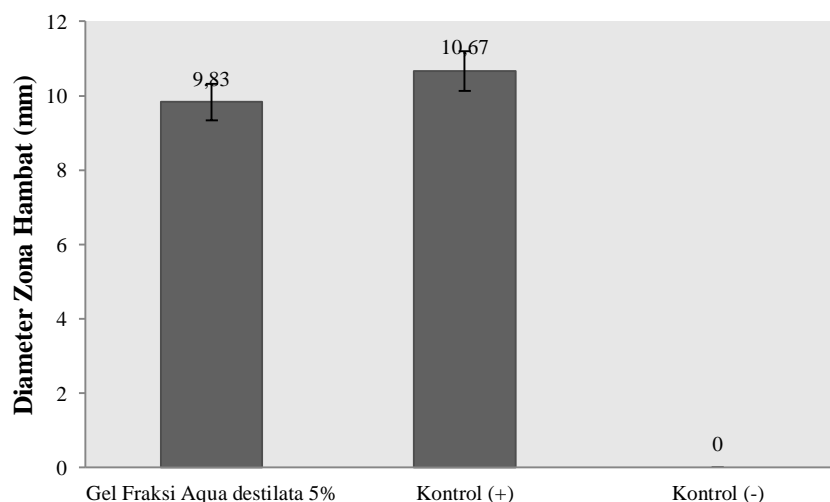
Tabel IV. 16 Hasil evaluasi gel Fraksi *Aqua destilata* 5%

Evaluasi Gel	Hasil	Standart
Organoleptis		
a. Bentuk	Semi padat	Semi padat (Ansel, 2005)
b. Warna	Coklat	Transparan (Ansel, 2005)
c. Bau	Berbau khas	-
Homogenitas	Homogen	Homogen (Ansel, 2005)
pH	9,00±0,00	4,5-6,5 (Manus <i>et al.</i> , 2016)
Daya Sebar	6,15±0,81	5-7 cm (Garg <i>et al.</i> , 2002)
Daya Lekat	1,53±0,58	>1 detik (Afianti & Murruckmihadi, 2015)
Daya Proteksi	Merah muda	Tidak Berwarna

4.2.3 Uji Aktivitas Antibakteri Gel Fraksi *Aqua destilata* 5%

Tabel IV. 17 Diameter zona hambat gel fraksi *aqua destilata* 5% terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922

Sampel	Diameter Zona Hambat (mm)±SD
Gel Fraksi <i>Aqua destilata</i> 5%	9,83±0,76
Kontrol (+)	10,67±0,58
Kontrol (-)	0,00±0,00

**Gambar 4.14 Diameter zona hambat gel fraksi *Aqua destilata* 5% terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922**

Tabel IV. 18 Analisis hasil uji aktivitas antibakteri gel fraksi *aqua destilata* 5%

Analisa Data	Metode	Sig.
Uji Normalitas	<i>Kolmogorov-Smirnov Test</i>	0,826
Uji Homogenitas	<i>Levene Statistic</i>	0,054
Analisa Hasil	<i>One-Way ANOVA</i>	0,000

BAB V

PEMBAHASAN

Daun durian diperoleh dari desa Sumberdadi Kecamatan Sumbergempol Kabupaten Tulungagung, Jawa Timur. Determinasi tanaman dilakukan di Materia Medica Batu dengan tujuan untuk mengetahui morfologi/kebenaran tanaman tersebut. Hasil determinasi menunjukkan bahwa bahan yang digunakan untuk penelitian adalah jenis daun durian dengan nama ilmiah *Durio zibethinus* Murr.

Penetapan kadar air di dalam simplisia dilakukan secara gravimetri. Tujuan penetapan kadar air adalah memberi batasan minimal atau rentang besarnya kandungan air di dalam bahan, terkait dengan kemurnian dan kontaminasi yang mungkin terjadi (Depkes RI, 2000). Hasil penelitian menunjukkan persentase kadar air *Zibethinus folium* sebesar 3,1%. Menurut BPOM RI (2014), kandungan air pada simplisia adalah tidak lebih dari 10%. Hal ini bertujuan untuk menghindari pertumbuhan jamur dalam simplisia karena reaksi enzimatik tidak berlangsung bila kadar air dalam simplisia kurang dari 10% (Depkes RI, 1985).

Uji susut pengeringan dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui jumlah senyawa yang hilang selama proses pengeringan (Depkes RI, 2000). Hasil penelitian menunjukkan persentase susut pengeringan *Zibethinus folium* sebesar 45%. Menurut Depkes RI (1995), dalam kasus khusus (jika bahan tidak mengandung minyak menguap/atsiri dan sisa pelarut organik menguap) identik dengan kadar air, yaitu kandungan air karena berada di lingkungan terbuka sehingga dipengaruhi oleh kelembaban lingkungan penyimpanan. Artinya selama proses pengeringan terjadi penguapan air menuju udara akibat adanya perbedaan antara kandungan uap air udara dengan daun (Utami *et al.*, 2015).

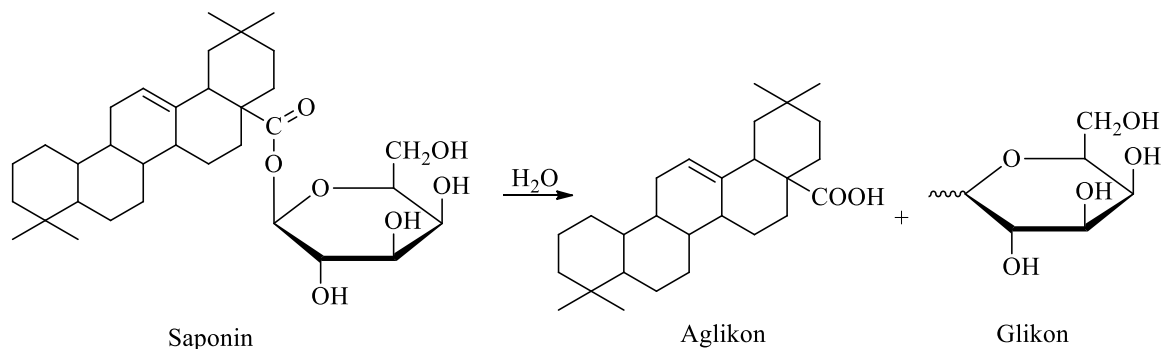
Rendemen merupakan perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal (Depkes RI, 2000). Hasil rendemen yang tinggi menunjukkan bahwa senyawa-senyawa kimia yang dapat tersari dalam ekstrak juga cukup besar. Hasil penelitian menunjukkan bahwa persentase rendemen maserat *Zibethinus*

folium sebesar 4,75%. Kecilnya nilai rendemen yang dihasilkan dipengaruhi oleh ukuran partikel, waktu ekstraksi, serta jenis dan jumlah pelarut (Maslukhah *et al.*, 2016). Menurut penelitian Sapri *et al.* (2014), rendemen maserat paling tinggi dihasilkan oleh serbuk sangat halus, yaitu serbuk yang mampu melewati ayakan dengan nomor mesh 80 dengan ukuran partikel 180 μm menghasilkan nilai rendemen 31,92%. Hal ini dikarenakan serbuk yang lebih halus akan lebih mudah diekstraksi karena permukaan serbuk simplisia yang bersentuhan dengan cairan penyari makin luas (Sapri *et al.*, 2014).

Uji bebas etanol maserat *Zibethinus folium* bertujuan untuk memastikan bahwa maserat yang dihasilkan bebas dari etanol karena pelarut tersebut dapat membunuh bakteri sehingga dikhawatirkan mempengaruhi aktivitas antibakteri (Sumiati, 2014). Hasil penelitian menunjukkan bahwa maserat *Zibethinus folium* negatif etanol yang ditunjukkan dengan tidak adanya bau ester (Depkes RI, 1995).

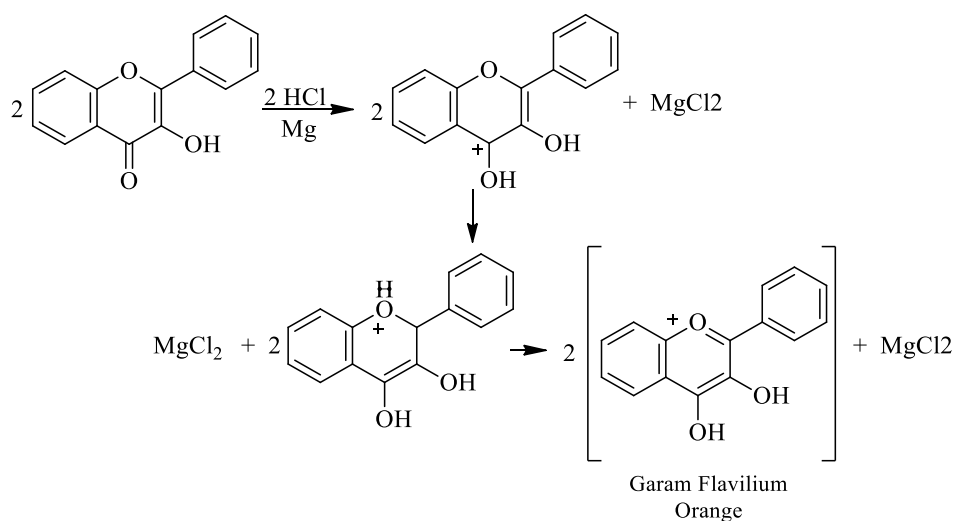
Skrining fitokimia maserat *Zibethinus folium* bertujuan untuk memastikan keberadaan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam daun durian (Harborne, 2006). Menurut penelitian Maradona (2013), daun durian mengandung senyawa saponin, tanin, dan steroid. Penelitian lain menyebutkan bahwa daun durian mengandung senyawa kimia flavanoid dan saponin (Kandoli *et al.*, 2016). Berdasarkan Gambar 4.8 dapat diketahui bahwa maserat *Zibethinus folium* positif mengandung saponin, flavonoid, steroid, dan tanin.

Maserat *Zibethinus folium* positif mengandung saponin dibuktikan dengan terbentuknya busa yang stabil (Harborne, 2006). Timbulnya busa pada identifikasi senyawa saponin menunjukkan adanya reaksi hidrolisis senyawa saponin menjadi aglikon dan glikonnya seperti pada Gambar 4.15.



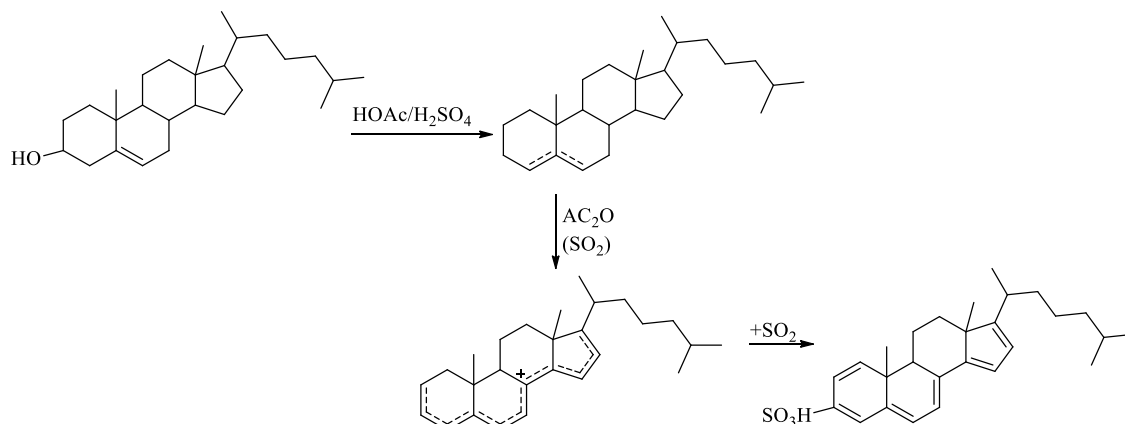
Gambar 4.15 Reaksi Hidrolisis Senyawa Saponin (Wardana & Tukiran, 2016)

Maserat *Zibethinus folium* positif mengandung flavonoid dibuktikan dengan terbentuknya warna orange (Tiwari *et al.*, 2011). Logam Mg dan HCl dalam identifikasi senyawa flavonoid berfungsi untuk mereduksi inti benzopiron yang terdapat dalam struktur flavonoid sehingga terbentuk garam flavilium berwarna merah atau jingga. Adapun reaksi yang terjadi antara senyawa flavonoid dengan HCl dan logam Mg ditunjukkan pada Gambar 4.16.



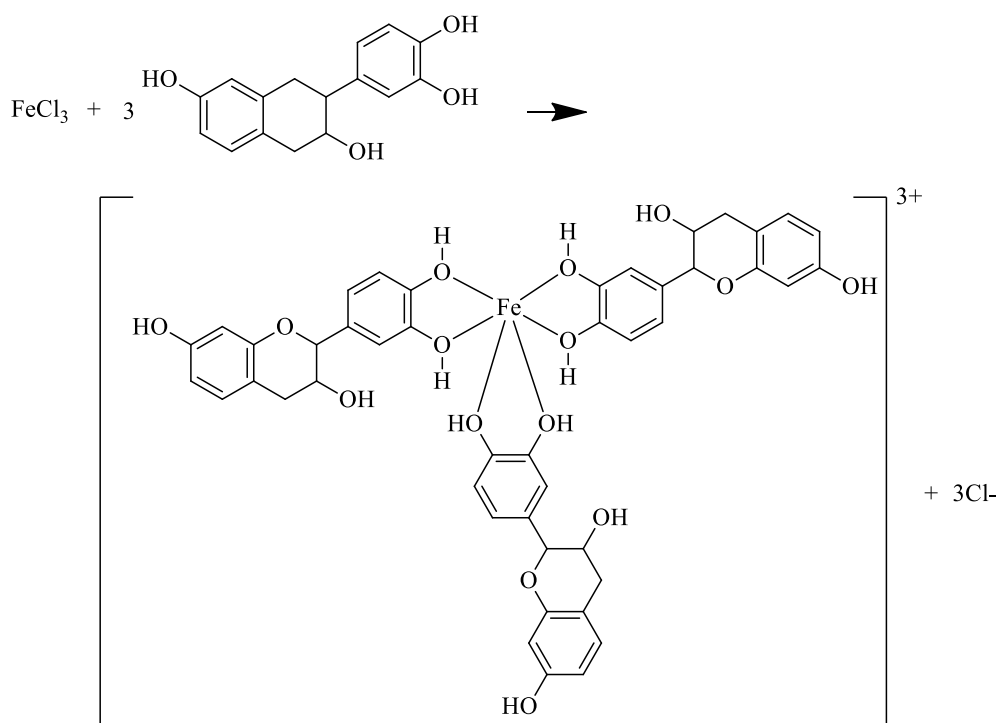
Gambar 4.16 Reaksi Flavonoid dengan Mg dan HCl (Ergina *et al.*, 2014)

Maserat *Zibethinus folium* positif mengandung steroid dibuktikan dengan terbentuknya warna hijau (Harborne, 2006). Perubahan warna dikarenakan terjadinya oksidasi pada senyawa steroid melalui pembentukan ikatan rangkap terkonjugasi seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4.17.



Gambar 4.17 Reaksi Uji Fitokimia Steroid (Wardana & Tukiran, 2016)

Maserat *Zibethinus folium* dan positif mengandung tanin dibuktikan dengan terbentuknya warna hitam kebiruan setelah ditambahkan dengan FeCl_3 (Harborne, 2006). Hal tersebut terjadi karena tanin mampu membentuk senyawa kompleks dengan ion Fe^{3+} , seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4.18.



Gambar 4.18 Reaksi Tanin dengan FeCl_3 (Ergina *et al.*, 2014)

Fraksinasi bertujuan untuk memisahkan golongan utama kandungan yang satu dari golongan utama yang lainnya (Harborne, 2006). Menurut Nwodo *et al.* (2011), fraksinasi dari maserat tumbuhan atau pemurnian zat aktif pada prinsipnya mampu mengoptimalkan potensi dan memperluas spektrum aktivitas maserat tumbuhan. Fraksinasi dilakukan dengan menggunakan pelarut *aqua destilata*, *n*-heksan, dan etil asetat. Persentase rendemen fraksi *aqua destilata*, fraksi *n*-heksan, dan fraksi etil asetat berturut-turut adalah 67,3 %, 21 %, dan 13 %.

Identifikasi *E. coli* dilakukan pada media diferensial *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA). Hasil penelitian pada Gambar 4.9 menunjukkan bahwa bakteri yang tumbuh merupakan *E. coli* yang ditandai dengan kilap logam dan bintik biru kehijauan pada media EMBA (Radji, 2013). Media EMBA memiliki kandungan

metilen biru dimana zat tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif sehingga yang tumbuh hanya bakteri Gram negatif saja. Selain itu, EMBA memiliki kondisi yang asam sehingga hal tersebut membuat kompleks presipitat dan menimbulkan warna hijau kilap logam pada *E. coli* (Putri, 2015).

5.1 Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi *Zibethinus folium* terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922

Uji aktivitas antibakteri fraksi *Zibethinus folium* terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 dilakukan untuk mengetahui efektivitas *Zibethinus folium* sebagai antibakteri yang dapat dijelaskan dengan *minimal inhibitory concentration* (MIC) (Bonev *et al.*, 2008). Hasil penelitian pada Gambar 4.10 menunjukkan bahwa fraksi n-heksan tidak mempunyai aktivitas antibakteri karena senyawa steroid yang tertarik pada fraksi n-heksan tidak membentuk zona bening disekitar cakram, yang artinya tidak ada respon hambatan (Pratiwi, 2008). Hal tersebut diduga karena sedikitnya kandungan senyawa non polar pada maserat *Zibethinus folium*, yaitu hanya terdapat senyawa steroid.

Fraksi *aqua destilata* dan fraksi etil asetat mempunyai aktivitas antibakteri yang ditandai dengan terbentuknya zona bening disekitar kertas cakram yang artinya terdapat hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antibakteri pada permukaan media agar (Pratiwi, 2008). Aktivitas antibakteri yang ditunjukkan oleh fraksi aqua destilata dan efraksi etil asetat ditimbulkan oleh kandungan metabolit sekunder yang bekerja secara sinergis, yaitu senyawa steroid, flavonoid, tanin, dan saponin (Harborne, 2006). Hal tersebut sudah dibuktikan oleh penelitian Chigurupati *et al.* (2017) bahwa *Zibethinus folium* mengandung senyawa flavonoid, saponin, tanin, dan steroid yang mempunyai aktivitas antibakteri.

Flavonoid sebagai antibakteri mampu membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler yang mengganggu integritas membran sel bakteri (Kumar & Pandey, 2013). Aktivitas antibakteri tanin berdasarkan kemampuannya mengerutkan dinding sel atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas sel bakteri. Terganggunya permeabilitas sel mengakibatkan sel tidak dapat

melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati. Selain itu tanin juga memiliki daya antibakteri dengan cara mempresipitasi protein, karena mempunyai efek yang sama dengan fenolik (Courtney *et al.*, 2016). Saponin sebagai antibakteri bekerja dengan menurunkan tegangan permukaan, akibatnya permeabilitas sel akan naik atau mengalami kebocoran dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar secara difusi melalui membran luar dan dinding sel yang rentan sehingga mengakibatkan kematian sel (Ngajow *et al.*, 2013). Steroid dilaporkan memiliki sifat antibakteri, korelasi antara membran lipid dan sensitivitas senyawa steroid menunjukkan mekanisme dimana steroid menyebabkan kebocoran liposom (Shihabudeen *et al.*, 2010).

Berdasarkan hasil orientasi pada Lampiran 9 dengan variasi konsentrasi 15%, 30%, dan 40%, fraksi dengan seri konsentrasi 40% menunjukkan respon hambatan yang paling baik. Fraksi *aqua destilata* 40% dari maserat *Zibethinus folium* memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 dengan rata-rata diameter zona hambatnya sebesar 8,33 mm, Sedangkan fraksi etil asetat 40% dari maserat *Zibethinus folium* mempunyai rata-rata diameter zona hambat sebesar 6,67 mm artinya respon hambatan dari fraksi *aqua destilata* dan fraksi etil asetat dari maserat *Zibethinus folium* termasuk kategori sedang karena diameter zona hambatnya masuk dalam rentang 5-10 (David & Stout, 1971). Menurut Jawetz *et al.* (2005), kinerja senyawa antibakteri dipengaruhi oleh struktur dinding sel bakteri. Pelczar dan Chan (2005) menyatakan struktur dinding sel bakteri Gram negatif relatif lebih kompleks, berlapis tiga, yaitu lapisan luar yang berupa lipoprotein, lapisan tengah yang berupa lipopolisakarida, dan lapisan dalam peptidoglikan sehingga *Escherichia coli* mempunyai ketahanan yang lebih baik terhadap senyawa antimikroba dibandingkan dengan bakteri Gram positif.

Klindamisin yang digunakan sebagai kontrol positif mempunyai rata-rata diameter zona hambat sebesar 10,83 mm artinya respon hambatan dari kontrol positif termasuk kategori kuat. Klindamisin digunakan sebagai kontrol positif karena aktivitas antibakteri klindamisin sama halnya yang ditunjukkan pada senyawa kimia yang terkandung dalam *Zibethinus folium*. Menurut Katzung *et al.* (2012), klindamisin bekerja dengan menghambat sintesis protein. DMSO 5% yang

digunakan sebagai kontrol negatif tidak menunjukkan respon hambatan terhadap *Escherichia coli*. Alasan DMSO digunakan sebagai kontrol negatif karena DMSO merupakan pelarut yang dapat melarutkan hampir semua senyawa polar maupun non polar (Assidqi *et al.*, 2012). Menurut Reynolds (1996), DMSO tidak bersifat bakterisidal sehingga dapat dipastikan aktivitas antibakteri murni dari fraksi *Zibethinus folium* tanpa pengaruh dari pelarutnya.

Menurut penelitian yang dilakukan Maradona (2013) maserat *Zibethinus folium* tidak mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli*. Penelitian lain menyebutkan bahwa ekstrak etanol *Zibethinus folium* 0,01% mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dengan diameter zona hambat 12 mm (Chigurupati *et al.*, 2017). Perbedaan hasil yang didapatkan diakibatkan karena perbedaan metode yang digunakan, yaitu Maradona (2013) menggunakan metode maserasi, Sedangkan Chigurupati *et al.* (2017) menggunakan metode perkolasi. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, fraksi *aqua destilata* dan fraksi etil asetat dari maserat *Zibethinus folium* mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922. Hal tersebut membuktikan bahwa fraksinasi dari maserat tumbuhan atau pemurnian zat aktif pada prinsipnya mampu mengoptimalkan potensi dan memperluas spektrum aktivitas maserat tumbuhan (Nwodo *et al.*, 2011).

Analisa hasil pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan *One-Way Anova* pada *software* SPSS 16 yang bertujuan untuk mengetahui kemaknaan perbedaan beberapa sampel. Pengolahan data dengan *One-Way Anova* dapat dilakukan setelah asumsi *One-Way Anova* terpenuhi, yaitu data harus terdistribusi normal dan homogen (Yamin & Kurniawan, 2014). Uji normalitas dilakukan dengan *Kolmogorov-Smirnov*, sedangkan uji homogenitas dilakukan dengan *levene statistics*. Hasil uji normalitas yang disajikan pada Tabel IV.16 menunjukkan bahwa Sig 0,875 > 0,05 artinya data berdistribusi normal, sehingga dapat dilanjutkan uji homogenitas (Sujarweni, 2012). Hasil uji homogenitas yang disajikan pada Tabel IV. 16 menunjukkan bahwa Sig 0,025 < 0,05 artinya variasi sampel yang diambil dari populasi yang sama tidak seragam (Ghazali, 2011). Menurut Sujarweni (2012), Jika variasi sampel tidak seragam, maka diperlukan

transformasi jenis data dependen variabel ke bentuk lagartmik untuk melanjutkan analisis. Hasil uji homogenitas dari data diameter zona hambat fraksi *Zibethinus folium* yang telah di transformasi kedalam bentuk logaritma adalah Sig 0,809 > 0,05 artinya variasi sampel yang diambil dari populasi yang sama adalah seragam (Ghazali, 2011). Berdasarkan hasil analisis tersebut, maka analisis hasil dapat dilanjutkan dengan *One-Way Anova* karena asumsi *One-Way Anova* terpenuhi (Yamin & Kurniawan, 2014). Hasil analisis dengan *One-Way Anova* yang disajikan pada Tabel IV. 16 menunjukkan bahwa Sig 0,001 < 0,05 maka H_0 ditolak, artinya ketiga fraksi dari maserat *Zibethinus folium*, kontrol positif, dan kontrol negatif menunjukkan adanya perbedaan pada diameter zona hambat yang dihasilkan. Berdasarkan analisis dengan *Post Hoc Test* diketahui bahwa antara fraksi *aqua destilata*, fraksi n-heksan, dan fraksi etil asetat dari maserat *Zibethinus folium*, serta kontrol positif dan kontrol negatif terdapat variabel yang sama yaitu fraksi n-heksan dengan kontrol negatif yang sama-sama tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922.

Analisis statistik yang dapat digunakan untuk menentukan fraksi yang paling efektif adalah *Two-Sample T-Test*. Analisis *Two-Sample T-Test* dilakukan dengan bantuan *softwere* Minitab. Berdasarkan analisis tersebut, diketahui bahwa antara fraksi *aqua destilata* dengan fraksi etil asetat menunjukkan bahwa p-Value 0,972 > 0,05 artinya fraksi fraksi *aqua destilata* lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri dibandingkan dengan fraksi etil asetat.

5.2 Evaluasi Gel

Uji organoleptik dilakukan untuk melihat tampilan fisik sediaan dengan cara melakukan pengamatan terhadap bentuk, warna dan bau dari sediaan yang telah dibuat (Mappa *et al.*, 2013). Hasil uji organoleptik yang disajikan pada Tabel IV. 13 menunjukkan bahwa gel fraksi *aqua destilata* 5% dari maserat *Zibethinus folium* berbentuk semi padat, berwarna coklat transparan dengan aroma khas ekstrak. Hal tersebut sesuai dengan parameter uji menurut Ansel (1989), gel biasanya transparan dengan konsistensi semi padat.

Uji pH bertujuan untuk mengetahui keamanan suatu sediaan, terutama sediaan topikal. Idealnya sediaan topikal mempunyai nilai pH yang sama dengan pH kulit agar tidak terjadi iritasi pada permukaan kulit (Afianti & Murrukmihadi, 2015). Hasil penelitian uji pH yang disajikan pada Tabel IV. 13 menunjukkan bahwa pH gel fraksi *aqua destilata* 5% dari maserat *Zibethinus folium* tidak memenuhi kriteria pH sediaan topikal yaitu rentang pH 4,5-6,5 (Manus *et al.*, 2016). Hal ini disebabkan karena karbopol sebagai *gelling agent* mempunyai keasaman yang tinggi, yaitu 2,5-4 (Rowe *et al.*, 2009). Menurut Samala & Sridevi (2016) viskositas karbopol akan meningkat jika pH dari karbopol ditingkatkan. Oleh karena itu, dalam formulasi diperlukan penambahan TEA sebagai agen pembasa. TEA mempunyai pH 10,5 sehingga dapat mempengaruhi pH sediaan (Rowe *et al.*, 2009).

Uji homogenitas bertujuan untuk mengetahui apakah sediaan yang telah dibuat homogen (Mappa *et al.*, 2013). Uji homogenitas dilakukan dengan melihat secara visual ada atau tidaknya butiran kasar (Depkes RI, 1979). Hasil penelitian yang disajikan pada Tabel IV. 13 menunjukkan bahwa gel fraksi *aqua destilata* 5% dari maserat *Zibethinus folium* mempunyai susunan yang homogen dan tidak terlihat adanya butiran kasar pada kaca (Dewantari & Sugihartini, 2015). Sediaan yang homogen akan memberikan hasil yang baik karena bahan obat terdispersi dalam basis secara merata, sehingga dalam setiap bagian sediaan mengandung bahan obat yang jumlahnya sama. Jika bahan obat tidak terdispersi merata dalam basis maka obat tersebut tidak akan mencapai efek terapi yang diinginkan (Ulaen *et al.*, 2012).

Uji daya sebar bertujuan untuk melihat kemampuan gel menyebar pada permukaan kulit, sediaan gel diharapkan mampu menyebar dengan mudah pada saat diaplikasikan pada telapak tangan (Manus *et al.*, 2016). Hasil penelitian yang disajikan pada Tabel IV. 13 menunjukkan bahwa rata-rata diameter sebar gel fraksi *aqua destilata* 5% dari maserat *Zibethinus folium* adalah 6,15 cm. Menurut Garg *et al.* (2002) daya sebar 5-7 cm menunjukkan konsistensi semipadat yang sangat nyaman dalam penggunaan.

Uji daya lekat bertujuan untuk mengetahui seberapa besar kemampuan gel melekat pada kulit dalam waktu tertentu sehingga dapat berfungsi secara maksimal pada penghantaran obatnya (Afianti & Murrukmihadi, 2015). Menurut Lieberman *et al.* (1996) daya lekat sediaan semipadat yang baik adalah lebih dari 1 detik, sedangkan menurut Sari *et al.* (2015) daya lekat yang baik adalah tidak kurang dari 4 detik. Hasil penelitian yang disajikan pada Tabel IV. 13 menunjukkan bahwa rata-rata daya lekat gel fraksi *aqua destilata* 5% dari maserat *Zibethinus folium* adalah 1,57 detik, artinya gel fraksi *aqua destilata* 5% dari maserat *Zibethinus folium* mempunyai daya lekat yang baik. Hal ini dikarenakan karbopol memiliki matriks gel yang saling berikatan erat satu sama lain (Fujiastuti & Sugihartini, 2015). Daya lekat yang baik memungkinkan obat tidak mudah lepas dan semakin lama melekat pada kulit, sehingga dapat menghasilkan efek yang diinginkan (Wibowo *et al.*, 2017).

Uji daya proteksi bertujuan untuk mengetahui kemampuan gel melindungi kulit dari pengaruh luar seperti debu, polusi, dan sinar matahari (Andasari *et al.*, 2018). Hasil penelitian yang disajikan pada Tabel IV. 13 menunjukkan bahwa gel fraksi *aqua destilata* 5% dari maserat *Zibethinus folium* menghasilkan noda merah pada kertas saring yang artinya sediaan gel tidak memberikan proteksi. Pengujian daya proteksi gel dilakukan dengan KOH 0,1 N. Pada pengujian daya proteksi menggunakan KOH 0,1 N yang bersifat basa kuat dimana KOH 0,1 N mewakili zat yang dapat mempengaruhi efektivitas kerja gel terhadap kulit KOH 0,1 N akan bereaksi dengan phenoftalein yang akan membentuk warna merah muda, yang berarti gel tidak mampu memberikan proteksi terhadap pengaruh luar, sediaan gel yang baik seharusnya mampu memberikan proteksi terhadap semua pengaruh luar yang ditandai dengan tidak munculnya noda merah pada kertas saring yang ditetesi dengan KOH 0,1 N dapat mempengaruhi efektifitas gel tersebut terhadap kulit.

5.3 Uji Aktivitas Antibakteri Gel Fraksi *Aqua destilata* 5% terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922

Gel Fraksi *Zibethinus folium* dibuat dari fraksi *aqua destilata* 40% karena berdasarkan hasil penelitian yang tertera pada Tabel IV. 15 menunjukkan bahwa fraksi *aqua destilata* 40% dari maserat *Zibethinus folium* merupakan fraksi yang paling optimum dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922. Berdasarkan hasil orientasi pada Lampiran 10 dengan variasi konsentrasi 0,1%; 0,5%; 1%; dan 5%, hanya gel dengan seri konsentrasi 5% yang menunjukkan respon hambatan. Gel fraksi *aqua destilata* 5% dari maserat *Zibethinus folium* memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar 9,83 mm artinya respon hambatan dari gel fraksi *aqua destilata* 5% dari maserat *Zibethinus folium* termasuk kategori sedang (David & Stout, 1971). Menurut Jawetz *et al.* (2005), kinerja senyawa antibakteri dipengaruhi oleh struktur dinding sel bakteri. Pelczar dan Chan (2005) menyatakan struktur dinding sel bakteri Gram negatif relatif lebih kompleks sehingga *Escherichia coli* mempunyai ketahanan yang lebih baik terhadap senyawa antimikroba dibandingkan dengan bakteri Gram positif. Klindamisin yang digunakan sebagai kontrol positif mempunyai rata-rata diameter zona hambat sebesar 10,67 mm, Sedangkan kontrol negatif tidak menunjukkan respon hambatan terhadap *Escherichia coli*, sehingga dapat dipastikan aktivitas antibakteri murni dari gel fraksi *aqua destilata* 5%.

Gel fraksi *aqua destilata* 5% dari maserat *Zibethinus folium* diformulasikan dengan basis karbopol. Menurut Najmudin *et al.* (2010) sediaan topikal atau gel yang menggunakan basis karbopol memiliki konsistensi dan pelepasan zat aktif yang lebih baik dibandingkan *gelling agent* lainnya. Berdasarkan hasil penelitian pada Gambar 4.12 menunjukkan bahwa gel fraksi *aqua destilata* 5% dari maserat *Zibethinus folium* mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 dengan rata-rata diameter zona hambat lebih besar dibandingkan dengan rata-rata diameter zona hambat fraksi *aqua destilata* 40%. Menurut Rowe *et al.* (2009) karbopol merupakan basis gel yang bersifat hidrofil sehingga mudah terdispersi dalam air, sedangkan menurut

Harborne (2006) flavonoid, tanin, dan saponin yang terkandung dalam fraksi *aqua destilata* memiliki sifat polar sehingga ketika diformulasikan kedalam sediaan gel maka karbopol mampu meningkatkan kelarutan senyawa aktif. Jika kelarutan bahan obat meningkat, maka bahan obat akan lebih mudah lepas dari basis yang selanjutnya akan berpengaruh pada efektifitasnya (Barry, 1983).

Analisa hasil pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan *One-Way Anova*. Hasil uji normalitas yang disajikan pada Tabel IV. 18 menunjukkan bahwa Sig 0,826 > 0,05 artinya data berdistribusi normal, sehingga dapat dilanjutkan uji homogenitas (Sujarweni, 2012). Hasil uji homogenitas yang disajikan pada Tabel IV. 18 menunjukkan bahwa Sig 0,054 > 0,05 artinya variasi sampel yang diambil dari populasi yang sama adalah seragam (Ghazali, 2011). Berdasarkan hasil analisis tersebut, maka analisis hasil dapat dilanjutkan dengan *One-Way Anova* karena asumsi *One-Way Anova* terpenuhi (Yamin & Kurniawan, 2014). Hasil analisis dengan *One-Way Anova* yang disajikan pada Tabel IV. 18 menunjukkan bahwa Sig 0,000 < 0,05 maka H_0 ditolak, artinya gel fraksi *aqua destilata* 5% dari maserat *Zibethinus folium*, kontrol positif, dan kontrol negatif menunjukkan adanya perbedaan pada diameter zona hambat yang dihasilkan. Berdasarkan analisis dengan *Post Hoc Test* diketahui bahwa gel fraksi *aqua destilata* 5% dari maserat *Zibethinus folium* dengan kontrol positif mempunyai kesamaan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

1. Fraksi *aqua destilata* 40% dan fraksi etil asetat 40% dari maserat *Zibethinus folium* mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922, Sedangkan fraksi n-heksan dari maserat *Zibethinus folium* tidak mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 secara *in vitro*.
2. Fraksi *aqua destilata* 40% menunjukkan respon hambatan paling optimum dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar 8,33 mm terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 secara *in vitro*.
3. Gel fraksi *aqua destilata* 5% dari maserat *Zibethinus folium* mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922, namun tidak stabil selama penyimpanan karena tidak memenuhi syarat uji pH dan uji daya proteksi.

6.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan metode isolasi yang berbeda.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan jenis bakteri yang berbeda agar diketahui aktivitas antibakteri *Zibethinus folium* secara luas.

DAFTAR PUSTAKA

- Afianti, H.P. & Murrukmihadi, M., 2015. Pengaruh Variasi Kadar *Gelling Agent* HPMC terhadap Sifat Fisik dan Aktivitas Antibakteri Sediaan Gel Ekstrak Etanolik Daun Kemangi (*Ocimum basilicum L. forma citratum* Back.). *Majalah Farmaseutik*, 11(2), pp.307-15.
- Amin, L.Z., 2014. Pemilihan Antibiotik yang Rasional. *Medicinus*, 27(3), pp.40-45.
- Amir, F. & Saleh, C., 2014. Antioxidant Activity Test of Ethanol Extract From *Durio zibethinus* Murr Seeds by DPPH Method. *Jurnal Kimia Mulawarman*, 11(2), pp.84-87.
- Andasari, S.D., Sutaryono & HartantI, I.N., 2018. Pengaruh Variasi Konsentrasi Ekstrak Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) pada Sediaan Gel terhadap Stabilitas Fisik. *MOTORIK*, 13(26), pp.71-79.
- Ansel, 2005. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. 4th Ed. Jakarta: UI Press.
- Aparna, P. *et al.*, 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.
- Arlofa, N., 2015. Uji Kandungan Senyawa Fitokimia Kulit Durian sebagai Bahan Aktif Pembuatan Sabun. *Jurnal Chemtech*, 1(1), pp.18-22.
- Assidqi, K., Tjahjaningsih, W. & Sigit, S., 2012. Potensi Ekstrak Daun Patikan Kebo (*Euphorbia hirta*) sebagai Antibakteri Terhadap *Aeromonas hydrophila*. *Journal of Marine and Coastal Science*, 1(2), pp.113-24.
- Atlas, R.M., 2010. *Handbook of Microbiological Media*. 4th Ed. Washington, D.C.: CRC Press. Hal: 636, 1301, 1313.
- Balouiri, M., Sadiki, M. & Ibnsouda, S.K., 2016. Methods for In Vitro Evaluating Antimicrobial Activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6, pp.71-79.
- Barel, A.O., Paye, M. & Maibach, H.I., 2009. *Handbook of Cosmetic Science and Technology*. USA: Informa Healthcare. Hal: 91.
- Barry W., 1983. *Dermatological Formulations, Percutaneous Absorption*. Marcel Dekker Inc. New York. 300-304.
- Bhalekar, Madgulkar & Kadam, 2015. Evaluation of Gelling Agents For Clindamycin Phosphate Gel. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4(7), pp.1-12.
- Bonev, B., Hooper, J. & Parisot, J.I., 2008. Principles of Assessing Bacterial Susceptibility to Antibiotics Using The Agar Diffusion Method. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 61, pp.1295-301.
- BPOM , 2005. *Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor:HK.00.05.41.1384 Tahun 2005 Tentang Kriteria dan Tata Laksana Pendaftaran Obat Tradisional, Obat Herbal Terstandar dan*

- Fitofarmaka*. Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia.
- Cania E. & Setyaningrum E., 2013. Uji Efektivitas Larvasida Ekstrak Daun Legundi (*Vitex trifolia*) terhadap Larva *Aedes aegypti*. *Medical Journal of Lampung University*, 2(4), pp.52-60.
- Chigurupati, S. *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.
- Courtney, R., Sirdarta, J., Matthews, B. & Cock, I.E., 2016. Tannin Components and Inhibitory Activity of Kakadu Plum Leaf Extracts Against Microbial Triggers of Autoimmune Inflammatory Diseases. *Pharmacognosy Journal*, 7(1), pp.18-31.
- David, W.W. and Stout, T.R. 1971. Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay. *Microbiology*. 22(4): 659-665.
- Depkes RI, 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Depkes RI, 1995. *Farmakope Indonesia IV*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Depkes RI, 1995. *Materia Medika Indonesia*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Depkes RI, 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Direktorat Jendral POM-Depkes RI.
- Depkes RI, 2007. *Kebijakan Obat Tradisional Tahun 2007*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Depkes RI, 2008. *Farmakope Herbal Indonesia*. 1st Ed. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- 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.
- 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.
- Emilan *et al.*, 2011. Konsep Herbal Indonesia Pemastian Mutu Produk Herbal. *Skripsi*. Depok: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.
- 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.
- Firizki, F., 2013. Pattern Sensitivity of *Escherichia coli* and *Klebsiella* sp. to Antibiotic Sefalosporin Period of Year 2008-2013 in Bandar Lampung. pp.64-73.
- FK UI, 1994. *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*. Tangerang: Binatura Aksara Publisher. Hal: 185.

- 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.
- Fujiastuti, T. & Sugihartini, N., 2015. Physical Properties and Irritation Degree of Ethanolic Extract Gel of *Centella asiatica* L. with Variation of Type of Gelling Agent. *PHARMACY*, 12(01), pp.11-20.
- Garg, A., Aggarwal, D., Garg, S. & Singla, A.K., 2002. Spreading of Semisolid Formulations An Update. *Pharmaceutical Technology*, pp.84-105.
- Ghazali, I., 2011. *Aplikasi Analisis Multivariate dengan Program SPSS19*. Semarang: BP Universitas Diponegoro. Hal: 74.
- Gunawan, D. & Mulyani, S., 2010. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi)*. Jakarta: Penebar Swadaya. Hal: 9-14.
- Gunawan, S.G., 2012. *Farmakologi dan Terapi*. Jakarta: UI Press. Hal: 727.
- Harborne, J.B., 2006. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung : Penerbit ITB. Hal: 7-8, 69-71, 102-104, 155.
- Indartiyah, N. *et al.*, 2011. *Pedoman Teknologi Penanganan Pascapanen Tanaman Obat*. Jakarta: Direktorat Budidaya dan Pascapanen Sayuran dan Tanaman Obat. Hal: 8.
- 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.
- Jawetz, Melnick & Adelberg's, 2013. *Medical Microbiology*. 26th Ed. United States: The McGraw-Hill Companies. Hal: 43.
- Jawetz, Melnick & Adelberg's, 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta : Salemba Medika. Hal: 233, 235.
- Jayaprakash, S.B. & Nagarajan, N., 2016. Studies on The Bioactive Compounds and Antimicrobial Activities of Medicinal Plant *Centella asiatica* (Linn). *Journal of Medicinal Plants Studies*, 4(5), pp.181-85.
- Kandoli, F., Abijulu, J. & Leman, M., 2016. Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Durian (*Durio zybethinus*) terhadap Pertumbuhan *Candida albicans* secara *In Vitro*. *PHARMACON Jurnal Ilmiah Farmasi*, 5(1), pp.46-52.
- Katzung, B.G., Masters, S.B. & Trevor, A.J., 2012. *Basic & Clinical Pharmacology*. 12th Ed. United States: McGraw-Hill Companies.
- Kaur & Guleri, 2013. Topical Gel: A Recent Approach for Novel Drug Delivery. *Asian Journal of Biomedical & Pharmaceutical Sciences*, 3(17), pp.1-5.
- Khanbabaee, K. & Ree, T.v., 2001. Tannins: Classification and Definition. *Nat. Prod. Rep.*, 18, pp.641-49.

- Kristanti, A.N., Aminah, N.S., Tanjung, M. & Kurniadi, B., 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya: Airlangga University Press. Hal: 10, 19, 48, 54.
- Kumar, S. & Pandey, A.K., 2013. Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. *The ScientificWorld Journal*, 29, pp.1-16.
- Kusmana, C. & Hikmat, A., 2015. Keanekaragaman Hayati Flora di Indonesia. *Jurnal Pengelolaan Sumberdaya Alam dan Lingkungan*, 5(2), pp.187-98.
- Leyden, J.J. & Rawlings, A.V., 2002. *Skin Moisturization*. New York: Marcel Dekker Inc.
- Madigan, M.T. *et al.*, 2015. *Brock Microbiology of Microorganisms*. USA: Pearson.
- Manus, N., YamLean, P.V.Y. & Kojong, N.S., 2016. Formulasi Sediaan Gel Minyak Atsiri Daun Sereh (*Cymbopogon citratus*) sebagai Antiseptik Tangan. *PHARMACON*, 5(3), pp.86-93.
- Mappa, T., Edy, H.J. & Kojong, N., 2013. Formulasi Gel Ekstrak Daun Sasaladahan (*Peperomia pellucida* (L.) H.B.K) dan Uji Efektivitasnya Terhadap Luka Bakar pada Kelinci (*Oryctolagus Cuniculus*). *PHARMACON Jurnal Ilmiah Farmasi*, 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*. Jakarta: Fakultas Kedokteran UIN Syarif Hidayatullah.
- Masluhah, Y.L. *et al.*, 2016. Faktor Pengaruh Ekstraksi Cincau Hitam (*Mesona palustris* BL) Skala Pilot Plant: Kajian Pustaka. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 4(1), pp.245-52.
- 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, W.E. & Sugandi, D., 2017. Analisis Keragaman Plasma Nutfah Durian di Provinsi Bengkulu Berdasarkan Karakter Morfologi. *Buletin Plasma Nutfah*, 23(1), pp.59–68.
- Mukhriani, 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*, VII(2), pp.361-67.
- Muliani, 2008. Keanekaragaman Plasma Nutfah Durian (*Durio zibethinus* Murr.) di Kabupaten Kampar, Riau. *Skripsi*. Pekanbaru: Fakultas Pertanian Universitas Riau.
- Najmuddin, M., Mohsin, A.A., Khan, T., Patel, V., Shelar, S., 2010. Formulation and Evaluation of Solid Dispersion Incorporated Gel Ketoconazole. *RJPBCS*. 1 (2). 406-412.

- Ngajow, M., Abidjulu, J. & Kamu, V.S., 2013. Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara *In vitro*. *Jurnal MIPA UNSTRAT*, 2(2), pp.128-32.
- Noviana, H., 2004. Pola Kepekaan Antibiotika *Escherichia coli* yang Diisolasi dari Berbagai Spesimen Klinis. *J Kedokteran Trisakti*, 23(4), pp.122-26.
- 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.
- Nwodo, U.U. *et al.*, 2011. Effects of Fractionation and Combinatorial Evaluation of Tamarindus indica Fractions for Antibacterial Activity. *Molecules*, 16, pp.4818-27.
- Pangkalan Ide, 2011. *Health Secret of Durian*. Jakarta: Kompas Gramedia. Hal: 7-8, 32-36.
- Patel, J. *et al.*, 2011. Formulation and Evaluation of Topical Aceclofenac Gel Using Different Gelling Agent. *International Journal of Drug Development & Research*, 3(1), pp.156-64.
- Pelczar MJ, Chan ECS. 2005. *Dasar-Dasar Mikrobiologi 1*. Jakarta: UI Press. Hal: 711-712 dan 867-868.
- Pelczar, M.J. & Chan, E.C.S., 2008. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta : UI Press.
- Poovarodom, S. *et al.*, 2010. Comparative Characterisation of Durian, Mango and Avocado. *International Journal of Food Science and Technology*, 45, pp.921-29.
- Prastianto, B.A., 2016. Optimasi *Gelling Agent* Carbopol 940 dan Humektan Sorbitol dalam Formulasi Sediaan Gel Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). *Skripsi*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma.
- Pratiwi, L., Fudholi, A., Martien, R. & Pramono, S., 2016. Ethanol Extract, Ethyl Acetate Extract, Ethyl Acetate Fraction, and n-Heksan Fraction Mangosteen Peels (*Garcinia mangostana* L.) As Source of Bioactive Substance Free-Radical Scavengers. *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 01, pp.71-82.
- Pratiwi, S.T., 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Penerbit Erlangga. Hal: 188-191, 135-137.
- Premjeet, S. *et al.*, 2012. Additives in Topical Dosage Forms. *International Journal of Pharmaceutical, Chemical and Biological Science*, 2(1), pp.78-96
- 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.

- Rachmawaty, D.U., 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol, Etil Asetat dan Petroleum Eter Rambut Jagung Manis (*Zea mays ssaccharata* Sturt) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Skripsi*. Malang: Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Radji, M., 2013. *Buku Ajar Mikrobiologi*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. Hal: 125.
- Raymon, M., Taebe, B., Ali, A. & Khairuddin, 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Buah Sawo Manila (*Achras zapota* L.) dengan Berbagai Cairan Penyari Terhadap *Salmonella typhimurium*. *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences*, 1(1), pp.6-11.
- Reynolds, J. E. F. 1996. Martindale, The Extra Pharmacopeia 31th Edition. The Royal Pharmaceutical Society Press. London. p : 114 – 117.
- Robinson, T. 1995. Kandungan Senyawa Organik Tumbuhan Tinggi. Terjemahan oleh Kosasih Padmawinata. Bandung: Penerbit ITB.
- Rowe, R.C., Sheskey, P.J. & Quinn, M.E., 2009. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. 6th ed. UK: Pharmaceutical Press. Hal: 110, 441, 592, 596.
- Rukmana, Rahmat. 2001. Durian Budidaya dan Pascapanen. Yogyakarta: Kanisius.
- 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.
- Samala, M.I. & Sridevi, G., 2016. Role of Polymers as Gelling Agents in the Formulation of Emulgels. *iMedPub Journals*, 2(1), pp.1-8.
- Sapri, Fitriani, A. & Narulita, R., 2014. Pengaruh Ukuran Serbuk Simplisia terhadap Rendemen Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Dengan Metode Maserasi. In *Prosiding Seminar Nasional Kimia*. Kalimantan Timur, 2014. Akademi Farmasi Samarinda.
- Sari, D.K., Sugihartini, N. & Yuwono, T., 2015. Irritation Test and Physical Properties Evaluation of Essential Oils Clove (*Syzigium aromaticum*) In Emulgel. *Pharmaçiana*, 5(2), pp.115-20.
- Sayuti, N.A., 2015. Formulasi dan Uji Stabilitas Fisik Sediaan Gel Ekstrak Daun Ketepeng Cina (*Cassia alata* L.). *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 5(2), pp.74-82.
- Shihabudeen, M.S., H, H.P.D. & Thirumurugan, K., 2010. Antimicrobial Activity and Phytochemical Analysis of Selected Indian Folk Medicinal Plants. *International Journal of Pharma Sciences and Research*, 1(10), pp.430-34.

- 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. 2012. Metode Penelitian Kuantitatif Kualitatif dan R&D. Bandung: Alfabeta. Hal: 60-64.
- Suhartini, 2009. Peran Konservasi Keanekaragaman Hayati dalam Menunjang Pembangunan yang Berkelanjutan. *Prosiding Seminar Nasional Penelitian*. Yogyakarta, 2009. Jurusan Pendidikan Biologi FMIPA Universitas Negeri Yogyakarta.
- Sujarweni, V.W., 2012. *SPSS untuk Paramedis*. Yogyakarta: Gava Medika. Hal: 16-17, 31-35, 141-146.
- Sumiati, E., 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kloroform dan Ekstrak Etanol Biji Bidara Laut (*Strychnos ligustrina* Bl) Terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Salmonella thypi*. *Jurnal Ilmiah Biologi*, 2(1), pp.1-10.
- Syamsuni, H.A., 2007. *Ilmu Resep*. Jakarta: EGC. Hal: 243-249.
- Tiwari, P. *et al.*, 2011. Phytochemical Screening and Extraction: A Review. *Internationale Pharmaceutica Scientia*, 1(1), pp.98-106.
- Ulaen, S.P.J., Banne, Y. & Sutan, R.A., 2012. Pembuatan Salep Anti Jerawat dari Ekstrak Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.). *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 3(2), pp.45-49.
- Utami, Hastuti, B. & Hastuti, D., 2015. Kualitas Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) pada Suhu Pengeringan Berbeda. *Jurnal Biologi*, 4(2), pp.51-59.
- Voight, R., 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi, Diterjemahkan oleh Soewandhi, S.N., dan Widiyanto, M.B.* Yogyakarta: Gadjah Mada University Press. Hal: 320, 566.
- Wahyuni, R., Guswandi & Rivai, H., 2014. Pengaruh Cara Pengeringan dengan Oven, Kering Angin dan Cahaya Matahari Langsung terhadap Mutu Simplisia Herba Sambiloto. *Jurnal Farmasi Higea*, 6(2), pp.126-33.
- Wardana, A.P. & Tukiran, 2016. Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kloroform Tumbuhan Gowok (*Syzygium polycephalum*). In *Prosiding Seminar Nasional Kimia dan Pembelajarannya*. Surabaya, 2016. Jurusan Kimia FMIPA Universitas Negeri Surabaya.
- WHO, 2017. *Diarrhoeal Disease*. Diakses tanggal 1 Agustus 2017. In <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs330/en/>.
- Wibowo, S.A., Budiman, A. & Hartant, D., 2017. Formulation and Antifungal Activity of O/W Cream Of Ethanolic Extract of Fruit of *Solanum torvum* Against *Candida albicans*. *Jurnal Riset Sains dan Teknologi*, 1(1), pp.15-21.

- Widjaja, E.A. *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.
- Widyawati, A.T. & Nurbani, 2017. Mini Review: Teknologi Inovasi Budidaya Durian di Kalimantan Timur. *PROS SEM NAS MASY BIODIV INDON*. Kalimantan Timur, 2017.
- Wiryanta, 2008. *Sukses Bertanam Durian*. Jakarta: Agrommedia Pustaka. Hal: 11.
- Wulandari, P., 2015. Formulasi dan Evaluasi Sifat Fisik Sediaan Gel Ekstrak Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) dengan *Gelling Agent* Karpobol 940 dan Humektan Propilen Glikol. *Skripsi*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma.
- Yamin, S. & Kurniawan, H., 2014. *SPSS Complete Teknik Analisis Terlengkap dengan Software SPSS*. Jakarta: Salemba Infotek.
- Yanhendri & Yenny, S.W., 2012. Berbagai Bentuk Sediaan Topikal dalam Dermatologi. *CKD*, 39(6), pp.423-30.

Lampiran 1. Hasil Determinasi *Zibethinus folium*

**PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR**
DINAS KESEHATAN
UPT MATERIA MEDICA BATU
Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396
KOTA BATU 65313

Nomor : 074/ 37D/ 102.7/ 2018
Sifat : Biasa
Perihal : **Determinasi Tanaman Durian**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : DEVRI WINDI SARI
NIM : 1413206013
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 : *Durio*
Spesies : *Durio zibethinus* 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 : *Durio zibethini* Folium / Daun Durian.
4. Kandungan kimia : Daun dan akar mengandung saponin. Daunnya juga mengandung flavonoida dan polifenol.
5. Penggunaan : Penelitian
6. Daftar Pustaka

- Anonim. <http://www.warintek.ristek.go.id/durian>, diakses tanggal 12 Desember 2010.
- Syamsuhidayat, Sri Sugati dan Johny Ria Hutapea. 1991. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia I*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- Van Steenis, CGGJ. 2008. *FLORA: untuk Sekolah di Indonesia*. Pradnya Paramita, Jakarta.

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

Batu, 30 Januari 2018
Kepala UPT Materia Medica Batu


Dr. Husin R.M., Drs., Apt., M.Kes.
NIP.196114021991031003



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 perferingens*
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)

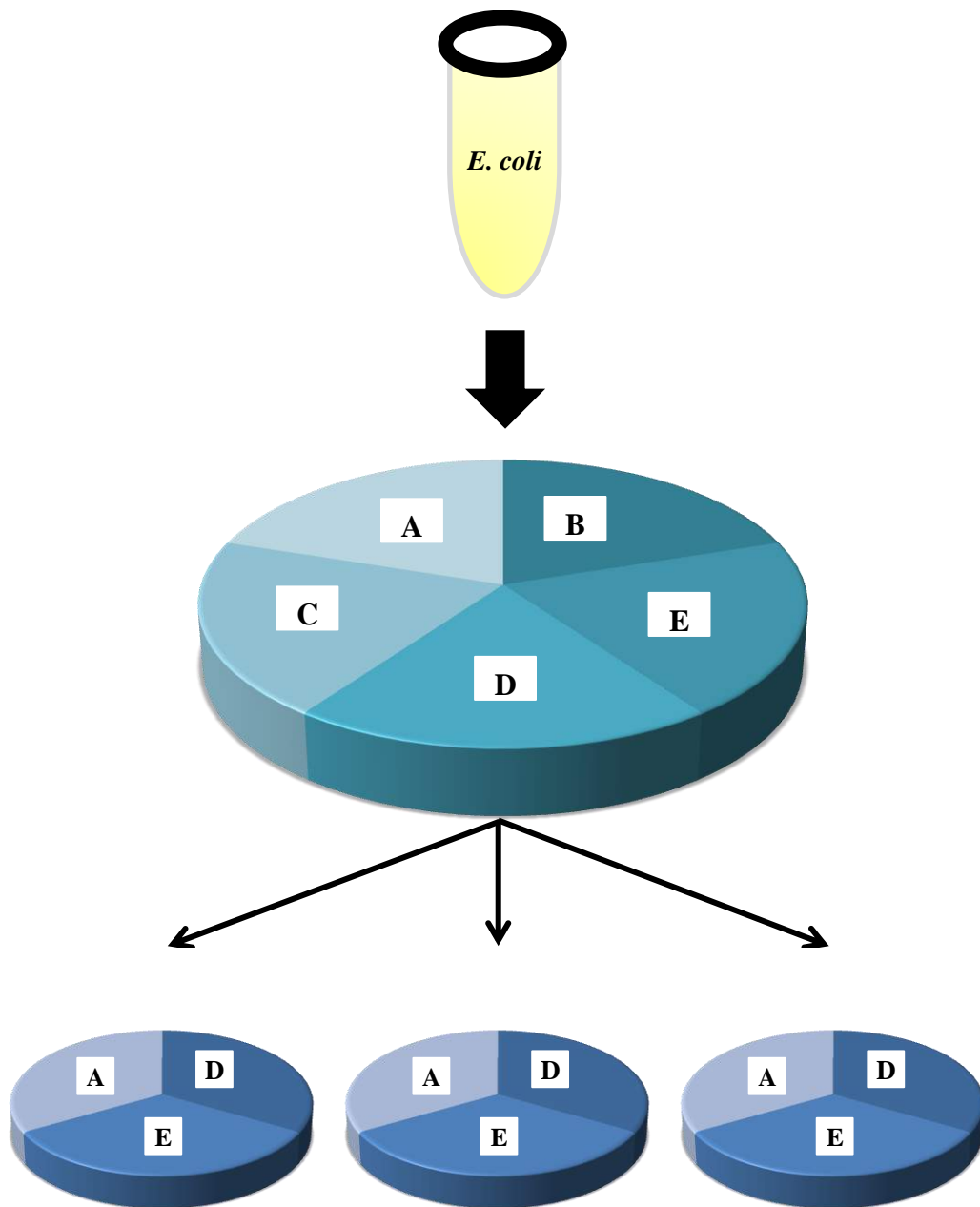

SAKSI
To Anita Sari, S Farm, APT

Ket :

^{*)} Coret yang tidak perlu

Surat pernyataan harus dibubuhi dengan stempel resmi institusi

Lampiran 3. Perlakuan Fraksi *Zibethinus folium*



Keterangan:

A : Fraksi *Aqua destilata* 40%

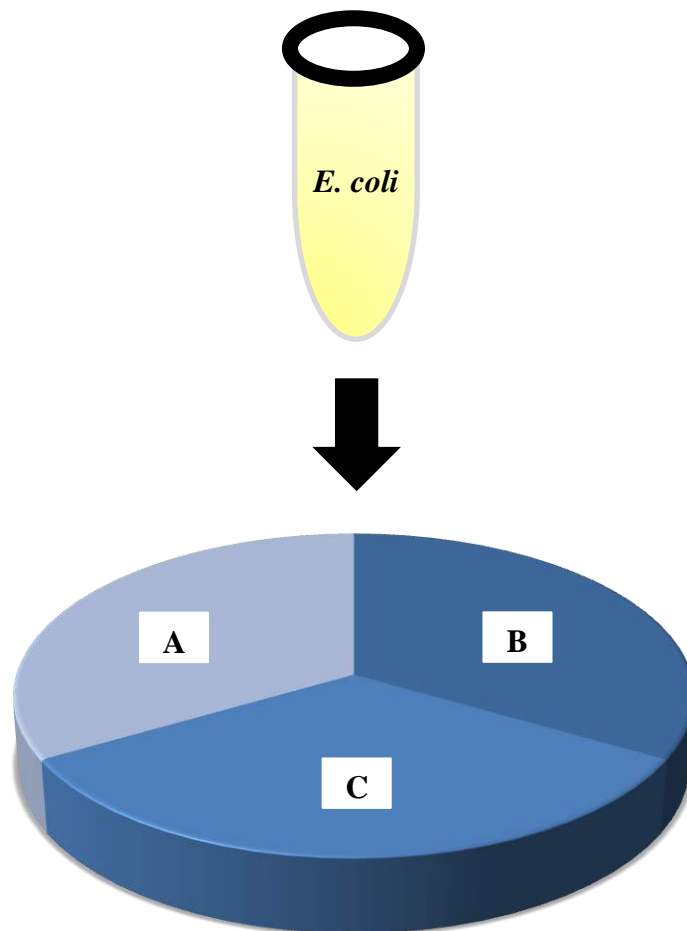
B : Fraksi n-Heksan 40%

C : Fraksi Etil Asetat 40%

D : Kontrol Positif

E : Kontrol Negatif

Lampiran 4. Perlakuan Gel Fraksi *Aqua destilata* 5%



Keterangan:

A : Gel Fraksi *Aqua destilata* 5%

B : Kontrol Positif

C : Kontrol Negatif

Lampiran 5. Dokumentasi Penelitian

1. *Zibethinus folium*



***Daun Durio zibethinus* Murr.**



***Pohon Durio zibethinus* Murr.**

2. Pembuatan Simplisia *Zibethinus folium*

	
<p>Pengambilan <i>Zibethinus folium</i></p>	<p>Pencucian <i>Zibethinus folium</i> dengan air mengalir</p>
	
<p>Pengeringan</p>	<p>Sortasi kering</p>
	
<p>Pengecilan ukuran pertikel</p>	<p>Simplisia <i>Zibethinus folium</i></p>

3. Pembuatan Maserat *Zibethinus folium*



Perendaman maserat *Zibethinus folium*



Penyaringan maserat *Zibethinus folium*



Penguapan maserat *Zibethinus folium*



Maserat *Zibethinus folium*

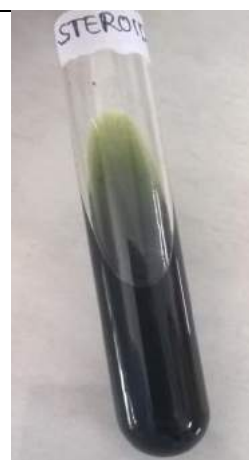
4. Skrining Fitokimia Maserat *Zibethinus folium*



Flavonoid



Saponin









Steroid

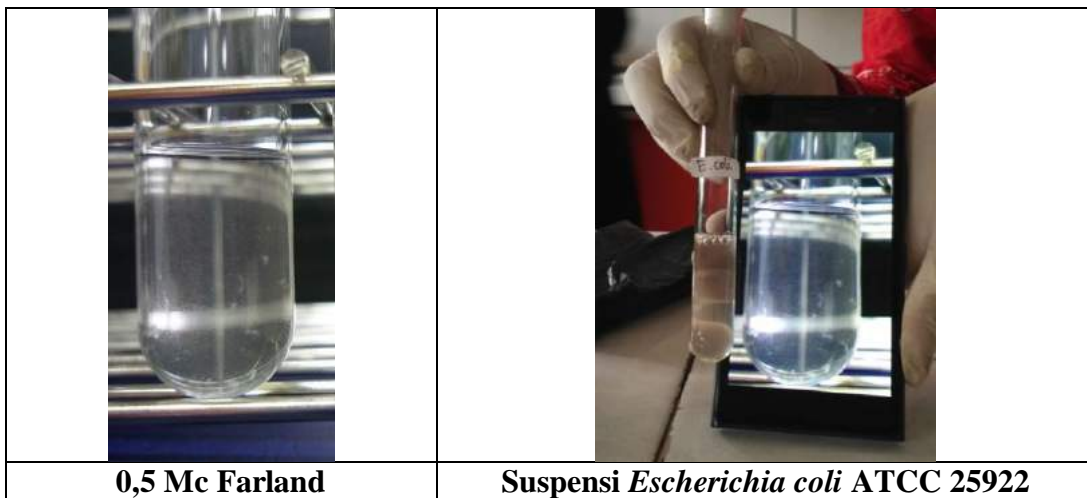


Tanin

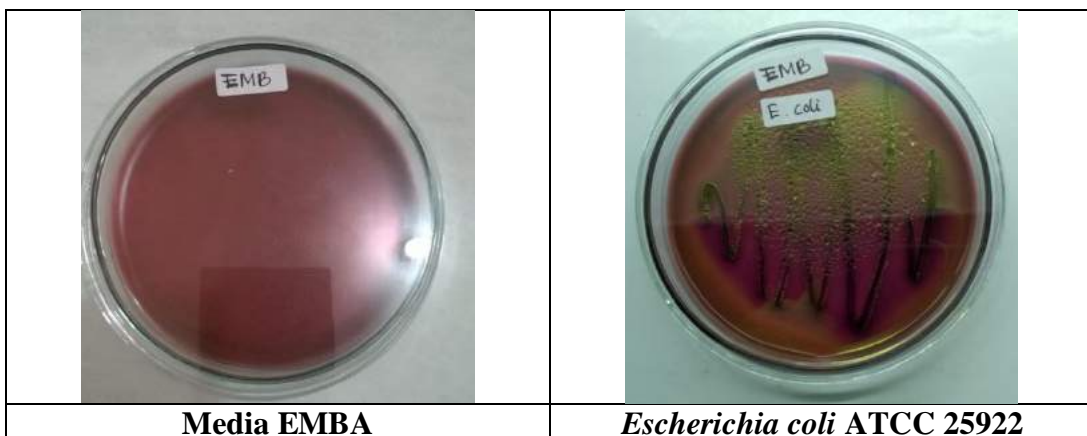
5. Fraksinasi

	
Fraksi <i>aqua destilata</i>	Pemisahan fraksi <i>aqua destilata</i> dengan fraksi n-heksan
	
Pemisahan fraksi n-heksan dengan fraksi etil asetat	Fraksi <i>aqua destilata</i>
	
Fraksi n-heksan	Fraksi etil asetat

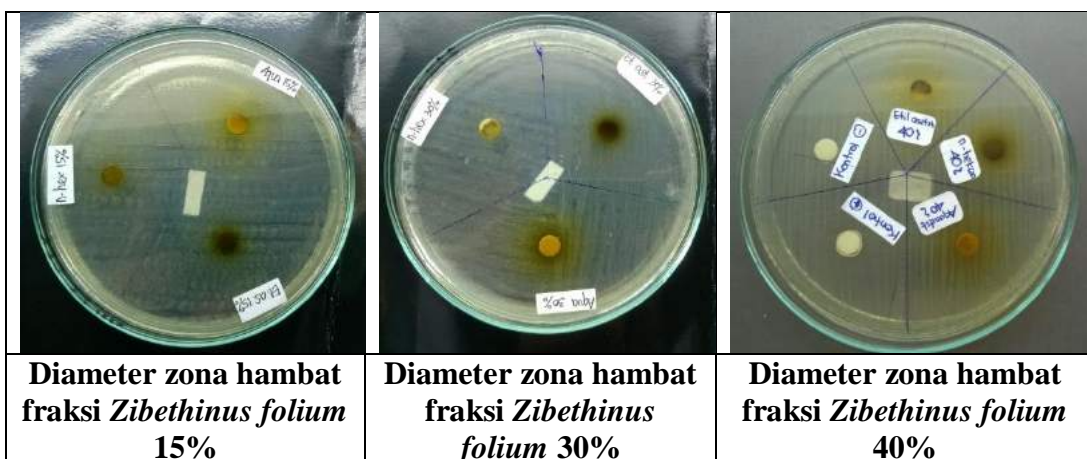
6. Pembuatan Suspensi Bakteri



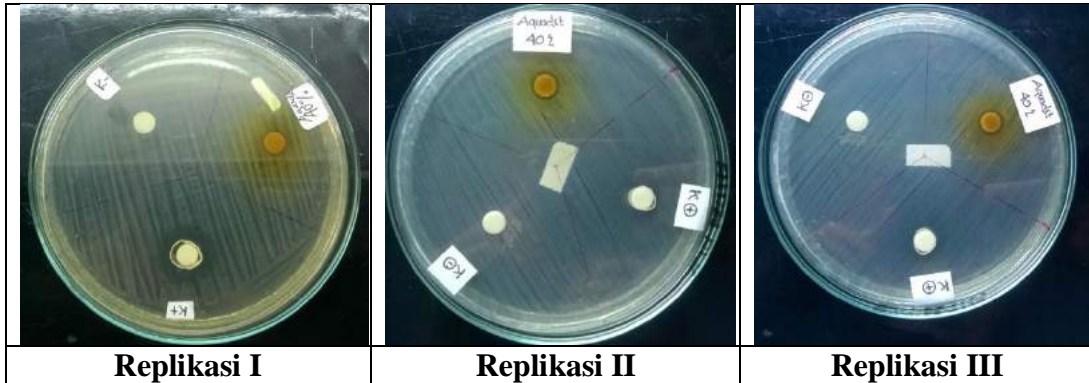
7. Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922



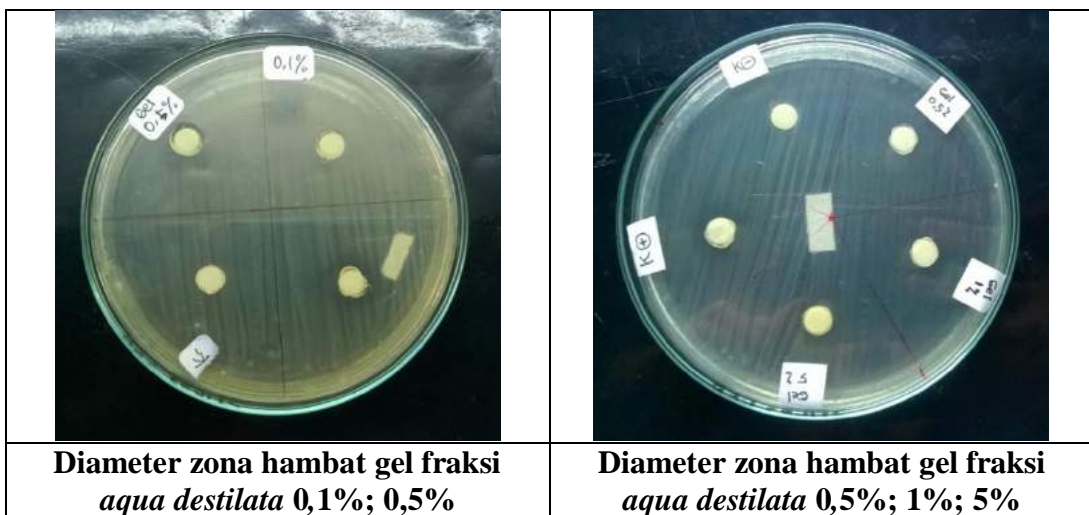
8. Orientasi Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi *Zibethinus folium* terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922



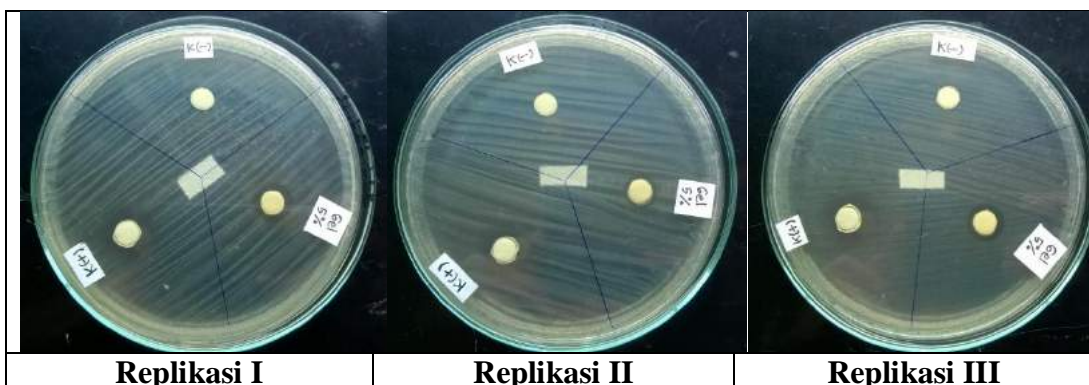
9. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi *aqua destilata* 40% terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922



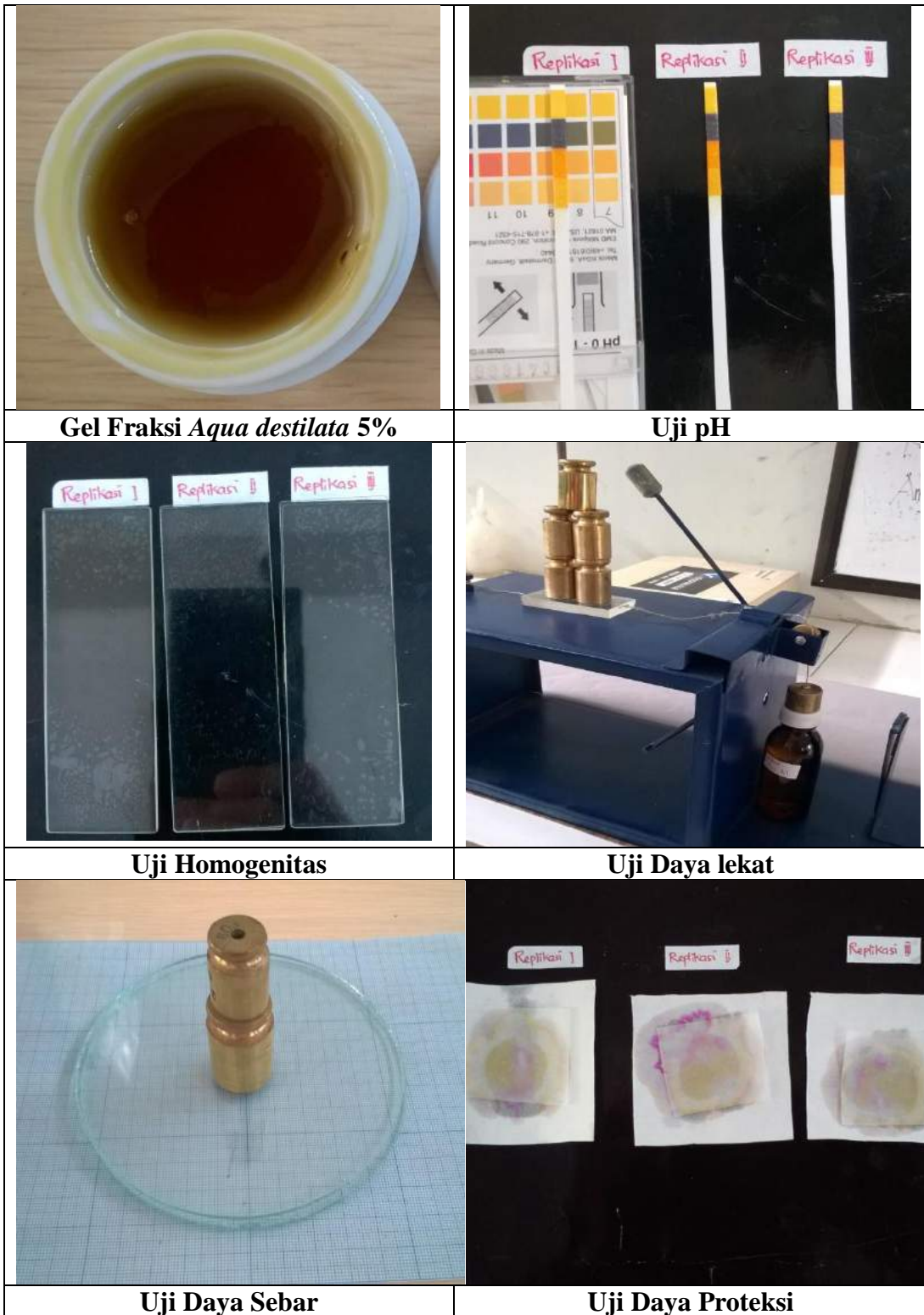
10. Orientasi Uji Aktivitas Antibakteri Gel Fraksi *Zibethinus folium* terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922



11. Uji Aktivitas Antibakteri Gel Fraksi *aqua destilata* 5% terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922



12. Evaluasi Gel Fraksi *Aqua destilata* 5%



Lampiran 6. Uji Kadar Air Simplisia *Zibethinus folium*

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

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{\text{Bobot serbuk sebelum di oven} - \text{bobot serbuk setelah di oven}}{\text{Bobot serbuk setelah di oven}} \times 100\%$$

a. Bobot serbuk 0 = 10 g

Kadar air (%) = -

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

= 9,69 g

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{10 \text{ g} - 9,69 \text{ g}}{10 \text{ g}} \times 100\%$$

= 3,1 %

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

= 9,59 g

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{9,69 \text{ g} - 9,59 \text{ g}}{9,69 \text{ g}} \times 100\%$$

= 1,03 %

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

= 9,51 g

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{9,59 \text{ g} - 9,51 \text{ g}}{9,59 \text{ g}} \times 100\%$$

= 0,8 %

Lampiran 7. Susut Pengeringan *Zibethinus folium*

Sampel	Bobot <i>Zibethinus folium</i>	
	Basah	Kering
<i>Zibethinus folium</i>	5 kg	2,25 kg

$$\% \text{ Susut pengeringan} = \frac{\text{Bobot daun kering}}{\text{Bobot daun basah}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \% \text{ Susut pengeringan} &= \frac{2,25 \text{ Kg}}{5 \text{ Kg}} \times 100\% \\ &= 45\% \end{aligned}$$

Lampiran 8. Rendemen *Zibethinus folium*

1. Rendemen Maserat *Zibethinus folium*

Sampel	Bobot <i>Zibethinus folium</i>	
	Serbuk	Maserat
<i>Zibethinus folium</i>	500 g	23,74 g

$$\begin{aligned}\% \text{ Rendemen Maserat} &= \frac{\text{Bobot maserat}}{\text{Bobot serbuk}} \times 100\% \\ &= \frac{23,74 \text{ g}}{500 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 4,75 \%\end{aligned}$$

2. Rendemen Fraksi *Zibethinus folium*

a. Fraksi *aqua destilata*

$$\begin{aligned}\% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{Bobot Fraksi}}{\text{Bobot Maserat}} \times 100\% \\ &= \frac{13,46 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 67,3 \%\end{aligned}$$

b. Fraksi n-heksan

$$\begin{aligned}\% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{Bobot Fraksi}}{\text{Bobot Maserat}} \times 100\% \\ &= \frac{4,2 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 21 \%\end{aligned}$$

c. Fraksi etil asetat

$$\begin{aligned}\% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{Bobot Fraksi}}{\text{Bobot Maserat}} \times 100\% \\ &= \frac{2,6 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 13 \%\end{aligned}$$

Lampiran 9. Pembuatan Larutan Uji

1. Pembuatan Larutan Fraksi *Aqua destilata* 40%

$$\begin{aligned}\text{Fraksi } \textit{Aqua destilata} \text{ 40\%} &= \frac{40}{100} \times 10 \text{ ml} \\ &= 4 \text{ g}\end{aligned}$$

2. Pembuatan Larutan Fraksi n-Heksan 40%

$$\begin{aligned}\text{Fraksi n-Heksan 40\%} &= \frac{40}{100} \times 1 \text{ ml} \\ &= 0,4 \text{ g}\end{aligned}$$

3. Pembuatan Larutan Fraksi Etil Asetat 40%

$$\begin{aligned}\text{Fraksi Etil Asetat 40\%} &= \frac{40}{100} \times 1 \text{ ml} \\ &= 0,4 \text{ g}\end{aligned}$$

4. *Dimethylsulfoxide* (DMSO) 5%

$$\begin{aligned}\text{DMSO 5\%} &= \frac{5}{100} \times 10 \text{ ml} \\ &= 0,5 \text{ g}\end{aligned}$$

Lampiran 10. Pembuatan Media

1. Pembuatan Media NB

$$\text{Gram} = \frac{\text{Mr}}{1000} \times \text{Volume}$$

$$\text{g} = \frac{8}{1000} \times 10 \text{ ml}$$

$$\text{g} = 0,08 \text{ g}$$

2. Pembuatan Media EMBA

$$\text{Gram} = \frac{\text{Mr}}{1000} \times \text{Volume}$$

$$\text{g} = \frac{36}{1000} \times 10 \text{ ml}$$

$$\text{g} = 0,36 \text{ g}$$

3. Pembuatan Media NA

$$\text{Gram} = \frac{\text{Mr}}{1000} \times \text{Volume}$$

$$\text{g} = \frac{20}{1000} \times 10 \text{ ml}$$

$$\text{g} = 0,2 \text{ g}$$

Lampiran 11. Formulasi Gel Fraksi *Aqua destilata* 5%

1. Ekstrak *Zibethinus folium*

$$\begin{aligned}\text{Ekstrak 5\%} &= \frac{5}{100} \times 20 \text{ g} \\ &= 1 \text{ g}\end{aligned}$$

2. Karbopol

$$\begin{aligned}\text{Karbopol 1\%} &= \frac{1}{100} \times 20 \text{ g} \\ &= 0,2 \text{ g}\end{aligned}$$

3. Propilen Glikol

$$\begin{aligned}\text{Propilen glikol 2\%} &= \frac{2}{100} \times 20 \text{ g} \\ &= 0,4 \text{ g}\end{aligned}$$

4. Etanol

$$\begin{aligned}\text{Etanol 0,1\%} &= \frac{0,1}{100} \times 20 \text{ g} \\ &= 0,02 \text{ g}\end{aligned}$$

5. EDTA

$$\begin{aligned}\text{EDTA 0,05\%} &= \frac{0,05}{100} \times 20 \text{ g} \\ &= 0,01 \text{ g}\end{aligned}$$

6. Metil paraben

$$\begin{aligned}\text{Metil paraben 0,18\%} &= \frac{0,18}{100} \times 20 \text{ g} \\ &= 0,036 \text{ g}\end{aligned}$$

7. Propil Paraben

$$\begin{aligned}\text{Propil paraben 0,02\%} &= \frac{0,02}{100} \times 20 \text{ g} \\ &= 0,004 \text{ g}\end{aligned}$$

8. Aquadest

$$\begin{aligned}\text{Aquadest} &= 20 - (1 + 0,4 + 0,02 + 0,01 + 0,036 + 0,04) \\ &= 20 - 1,506 \\ &= 18,494 \text{ ml}\end{aligned}$$

9. TEA

$$\text{TEA} = \text{qs.}$$

Lampiran 12. Hasil Orientasi Fraksi *Zibethinus folium*

1. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi *Aqua destilata* terhadap *Escherichia coli*

ATCC 25922

Sampel	Diameter Zona Hambat (mm)
Fraksi <i>Aqua destilata</i> 15%	6,00 mm
Fraksi <i>Aqua destilata</i> 30%	6,50 mm
Fraksi <i>Aqua destilata</i> 40%	8,50 mm
Kontrol (+)	11,00 mm
Kontrol (-)	0,00 mm

2. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi n-Heksan terhadap *Escherichia coli*

ATCC 25922

Sampel	Diameter Zona Hambat (mm)
Fraksi n-heksan 15%	0,00
Fraksi n-heksan 30%	0,00
Fraksi n-heksan 40%	0,00

3. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat terhadap *Escherichia coli*

ATCC 25922

Sampel	Diameter Zona Hambat (mm)
Fraksi etil asetat 15%	6,00 mm
Fraksi etil asetat 30%	6,00 mm
Fraksi etil asetat 40%	7,00 mm

Lampiran 13. Hasil Orientasi Gel Fraksi *Aqua destilata*

1. Uji Aktivitas Antibakteri Gel Fraksi *Aqua destilata* terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922

Sampel	Diameter Zona Hambat (mm)
Gel Fraksi <i>Aqua destilata</i> 0,1%	0,00 mm
Gel Fraksi <i>Aqua destilata</i> 0,5%	0,00 mm
Gel Fraksi <i>Aqua destilata</i> 1%	0,00 mm
Gel Fraksi <i>Aqua destilata</i> 5%	9,00 mm
Kontrol (+)	12,00 mm
Kontrol (-)	0,00 mm

2. Evaluasi Gel Fraksi *Aqua destilata* 5%

No	Evaluasi	Hari Ke		
		0	14	28
1	Organoleptis			
	a. Bentuk	Semipadat	Semipadat	Semipadat
	b. Bau	Khas	Khas	Khas
	c. Warna	Coklat	Coklat	Coklat
2	pH			
	Replikasi 1	9	9	9
	Replikasi 2	9	9	9
	Replikasi 3	9	9	9
	Rata-rata	9	9	9
3	Homogenitas	Homogen	Homogen	Homogen
4	Daya sebar			
	Plat	5,5 cm	4,8 cm	4,7 cm
	Bobot 50 g	6,4 cm	5,9 cm	5 cm
	Bobot 100 g	7 cm	6,4 cm	5,1 cm
	Bobot 150 g	7,5 cm	6,9 cm	5,7 cm
	Bobot 200 g	8 cm	7,4 cm	5,9 cm
	Rata-rata	6,88 cm	6,28 cm	5,28 cm
5	Daya lekat			
	Replikasi 1	1 detik	0,81 detik	2,04 detik
	Replikasi 2	0,31 detik	1,56 detik	3 detik
	Replikasi 3	0,99 detik	1,80 detik	1,58 detik
	Rata-rata	1,10 detik	1,39 detik	2,21 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

**Lampiran 14. Analisis Statistik *One-Way Anova Uji Aktivitas Antibakteri*
Fraksi *Zibethinus folium***

1. Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Fraksi <i>Zibethinus folium</i>
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.

2. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Diameter Zona Hambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.467	4	10	.025

3. Uji Homogenitas dengan Data Transformasi Logaritmik

a. Data Transformasi

*TRANSFORM_AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI Zibethinus folium.sav [DataSet1] - SPSS Data Editor

File Edit View Data Transform Analyze Graphs Utilities Add-ons Window Help

1 : FraksiZibethinusfolium 1

	FraksiZibethinusfolium	DiameterZonaHambat	Transform_DiameterZonaHambat	var	vs
1	1	9.00		0.95	
2	1	7.50		0.88	
3	1	8.50		0.93	
4	2	0.00		.	
5	2	0.00		.	
6	2	0.00		.	
7	3	7.00		0.85	
8	3	6.00		0.78	
9	3	7.00		0.85	
10	4	11.00		1.04	
11	4	11.50		1.06	
12	4	10.00		1.00	
13	5	0.00		.	
14	5	0.00		.	
15	5	0.00		.	
16					

b. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Transform_DiameterZonaHambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.220	2	6	.809

4. One-Way Anova

ANOVA

Transform_DiameterZonaHambat

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.067	2	.034	24.572	.001
Within Groups	.008	6	.001		
Total	.075	8			

5. Post Hoc Tests

AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *Zibethinus folium*.spv [Document1] - SPSS Viewer

File Edit View Data Transform Insert Format Analyze Graphs Utilities Add-ons Window Help

Output

- Log
- NPar Tests
 - Title
 - Notes
 - Active Dataset
 - Descriptive Statistics
 - One-Sample Kolmogor
- Log
- Oneway
 - Title
 - Notes
 - Active Dataset
 - Descriptives
 - Test of Homogeneity of
 - ANOVA
 - Post Hoc Tests
 - Title
 - Multiple Compari...

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Diameter Zona Hambat
LSD

(I) Fraksi <i>Zibethinus folium</i>	(J) Fraksi <i>Zibethinus folium</i>	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Fraksi Aqua destilata	Fraksi n-heksan	8.33333 ^a	.44721	.000	7.3369	9.3298
	Fraksi Etil Asetat	1.66667 ^a	.44721	.004	.6702	2.6631
	Kontrol Positif	-2.50000 ^a	.44721	.000	-3.4965	-1.5035
	Kontrol Negatif	8.33333 ^a	.44721	.000	7.3369	9.3298
Fraksi n-heksan	Fraksi Aqua destilata	-8.33333 ^a	.44721	.000	-9.3298	-7.3369
	Fraksi Etil Asetat	-6.66667 ^a	.44721	.000	-7.6631	-5.6702
	Kontrol Positif	-10.83333 ^a	.44721	.000	-11.8298	-9.8369
	Kontrol Negatif	.00000	.44721	1.000	-.9965	.9965
Fraksi Etil Asetat	Fraksi Aqua destilata	-1.66667 ^a	.44721	.004	-2.6631	-.6702
	Fraksi n-heksan	6.66667 ^a	.44721	.000	5.6702	7.6631
	Kontrol Positif	-4.16667 ^a	.44721	.000	-5.1631	-3.1702
	Kontrol Negatif	6.66667 ^a	.44721	.000	5.6702	7.6631
Kontrol Positif	Fraksi Aqua destilata	2.50000 ^a	.44721	.000	1.5035	3.4965
	Fraksi n-heksan	10.83333 ^a	.44721	.000	9.8369	11.8298
	Fraksi Etil Asetat	4.16667 ^a	.44721	.000	3.1702	5.1631
	Kontrol Negatif	10.83333 ^a	.44721	.000	9.8369	11.8298
Kontrol Negatif	Fraksi Aqua destilata	-8.33333 ^a	.44721	.000	-9.3298	-7.3369
	Fraksi n-heksan	.00000	.44721	1.000	-.9965	.9965
	Fraksi Etil Asetat	-6.66667 ^a	.44721	.000	-7.6631	-5.6702
	Kontrol Positif	-10.83333 ^a	.44721	.000	-11.8298	-9.8369

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

Lampiran 2. Analisis Statistik *Two-Sample T-Test* Uji Aktivitas Antibakteri

Fraksi *Zibethinus folium*

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	8,333	0,764	0,44
Fraksi Etil Asetat	3	6,667	0,577	0,33

Difference = mu (Fraksi Aqua destilata) - mu (Fraksi Etil Asetat)
 Estimate for difference: 1,667
 95% upper bound for difference: 2,968
 T-Test of difference = 0 (vs <): T-Value = 3,02 P-Value = 0,972 DF = 3

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	8,333	0,764	0,44
Fraksi Etil Asetat	3	6,667	0,577	0,33

Difference = mu (Fraksi Aqua destilata) - mu (Fraksi Etil Asetat)
 Estimate for difference: 1,667
 95% lower bound for difference: 0,366
 T-Test of difference = 0 (vs >): T-Value = 3,02 P-Value = 0,028 DF = 3

Worksheet 1 ***					
↓	C1	C2	C3	C4	C5
	Fraksi Aqua destilata	Fraksi n-Heksan	Fraksi Etil Asetat		
1	9,0	0	7		
2	7,5	0	6		
3	8,5	0	7		

**Lampiran 3. Analisis Statistik *One-Way Anova* Uji Aktivitas Antibakteri Gel
Fraksi Aqua destilata 5%**

1. Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Gel Fraksi Aqua destilata 40%
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.

2. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Diameter Zona Hambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.941	2	6	.054

3. One-Way Anova

ANOVA

Diameter Zona Hambat

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	211.167	2	105.583	345.545	.000
Within Groups	1.833	6	.306		
Total	213.000	8			

4. Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Diameter Zona Hambat

LSD

(I) Gel Fraksi Aqua destilata 40%	(J) Gel Fraksi Aqua destilata 40%	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Gel Fraksi Aqua 5%	Kontrol Positif	-.83333	.45134	.114	-1.9377	.2710
	Kontrol Negatif	9.83333*	.45134	.000	8.7290	10.9377
Kontrol Positif	Gel Fraksi Aqua 5%	.83333	.45134	.114	-.2710	1.9377
	Kontrol Negatif	10.66667*	.45134	.000	9.5623	11.7710
Kontrol Negatif	Gel Fraksi Aqua 5%	-9.83333*	.45134	.000	-10.9377	-8.7290
	Kontrol Positif	-10.66667*	.45134	.000	-11.7710	-9.5623

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

Lampiran 17. Pembuatan Reagen

1. Pembuatan Larutan FeCl₃ 1% 10 ml

$$\begin{aligned}\text{FeCl}_3 \text{ 1\%} &= \frac{1}{100} \times 10 \text{ ml} \\ &= 0,1 \text{ g}\end{aligned}$$

2. Pembuatan Larutan KOH 0,1 N 100 ml

Diketahui:

$$\text{Mr KOH} = 56,11 \frac{\text{g}}{\text{mol}}$$

$$\text{Valensi} = 1$$

$$N = \frac{\text{g}}{\text{Mr}} \times \frac{\text{valensi}}{\text{volume (l)}}$$

$$0,1 \text{ N} = \frac{\text{g}}{56,11} \times \frac{1}{0,1}$$

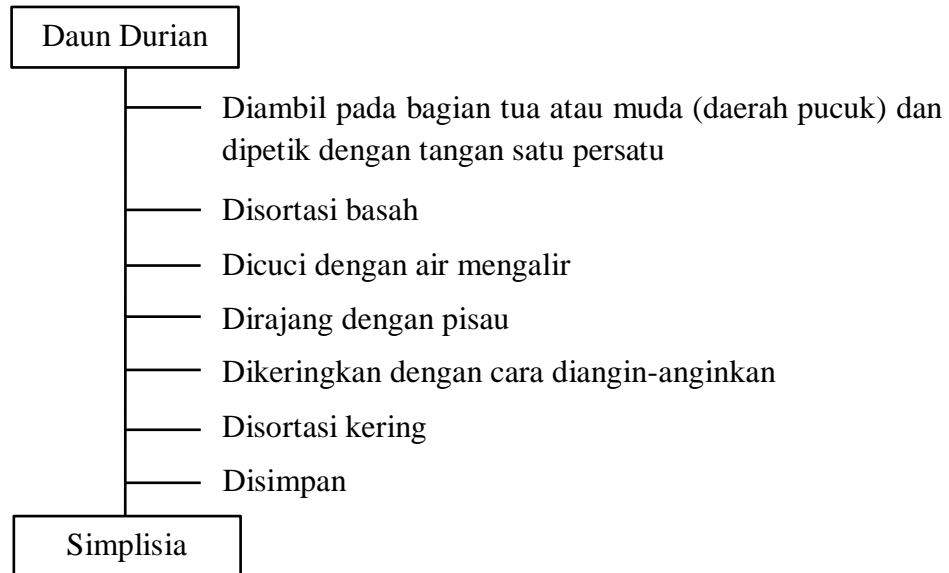
$$0,1 \text{ N} = \frac{\text{g}}{5,611}$$

$$\text{g} = 0,1 \times 5,611$$

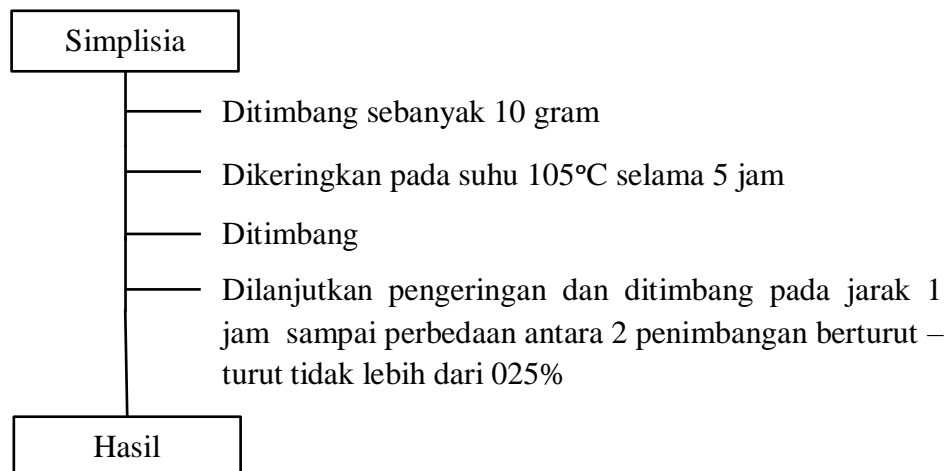
$$\text{g} = 0,5611 \text{ g}$$

Metode Penelitian

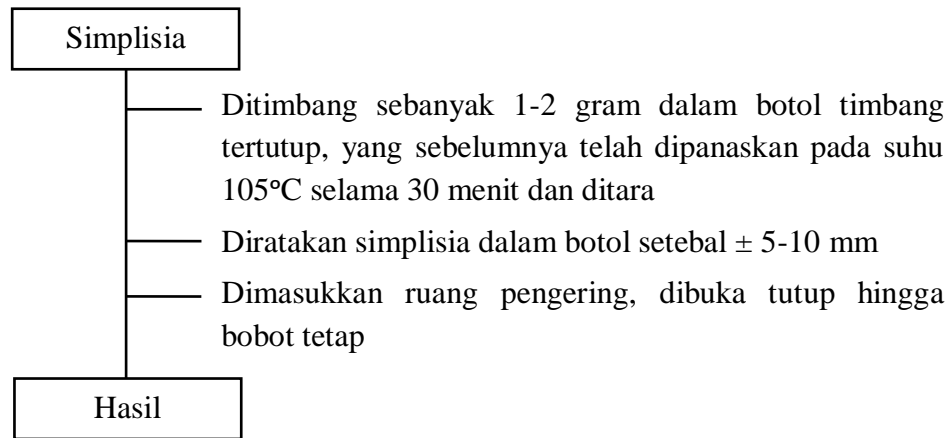
1. Pembuatan Simplisia (Depkes RI, 1985)



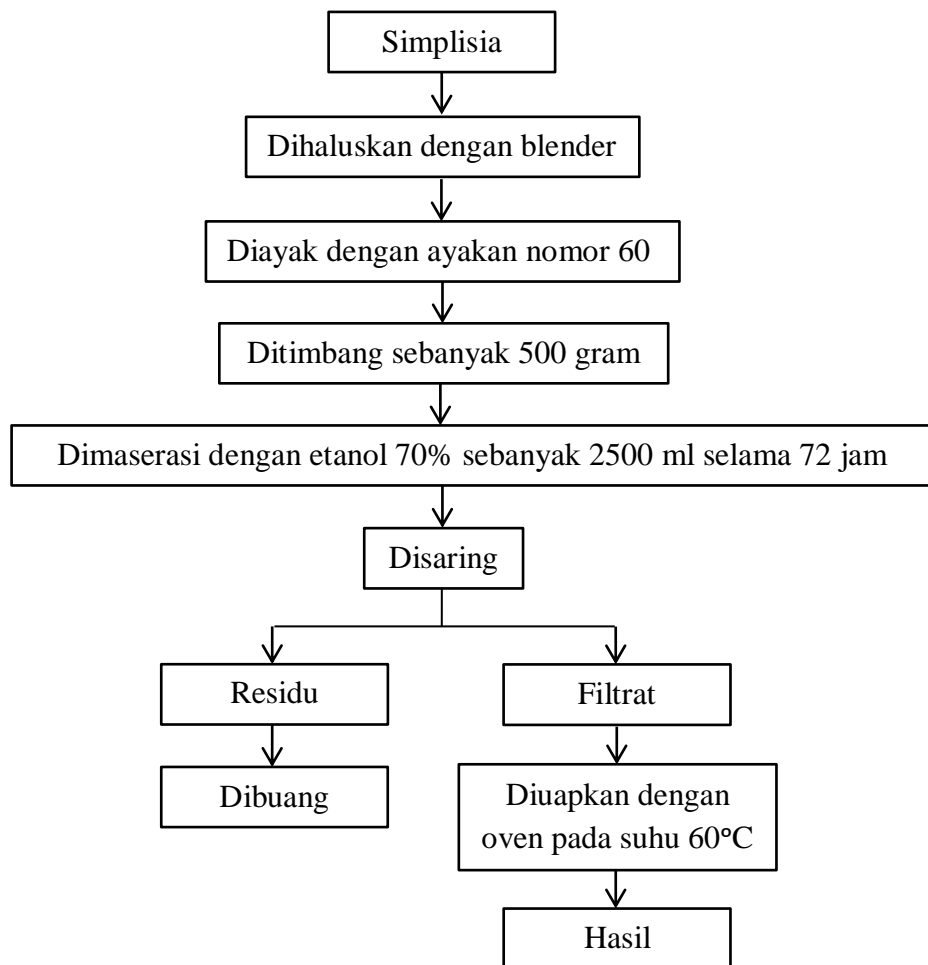
2. Uji Kadar Air Serbuk Simplisia (Depkes RI, 2000)



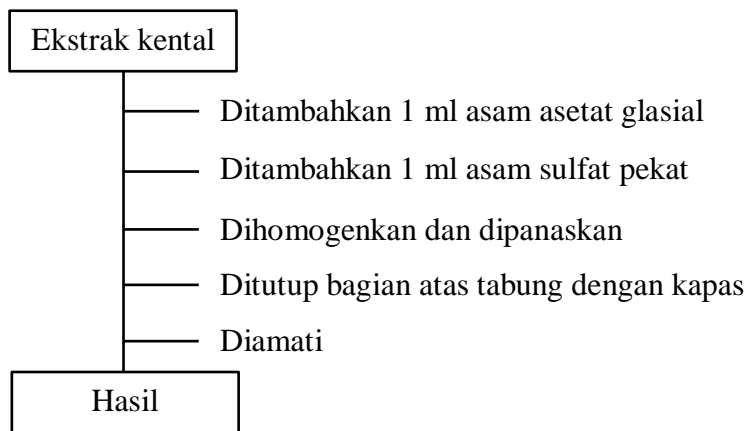
3. Uji Susut Pengeringan Simplisia (Depkes RI, 2000)



4. Pembuatan Maserat (Kandoli *et al.*, 2016)



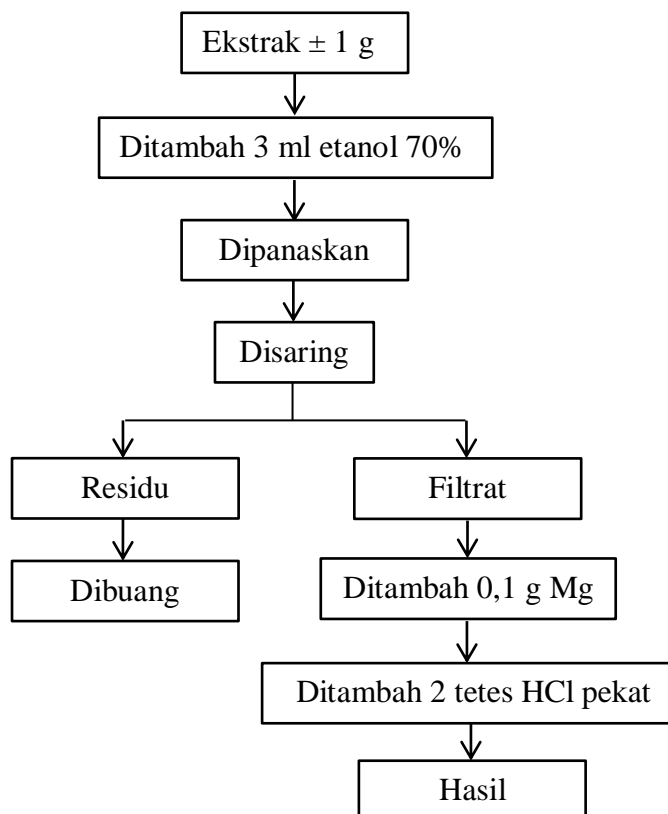
5. Uji Kadar Etanol Ekstrak (Depkes RI, 1995)



Keterangan: Jika tidak tercium bau ester maka positif bebas etanol

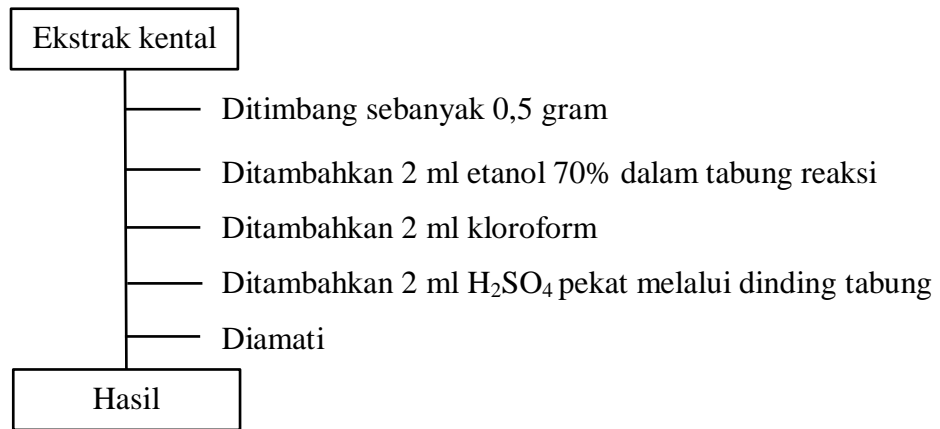
6. Skrining Fitokimia

a. Flavonoid (Harborne, 2006)



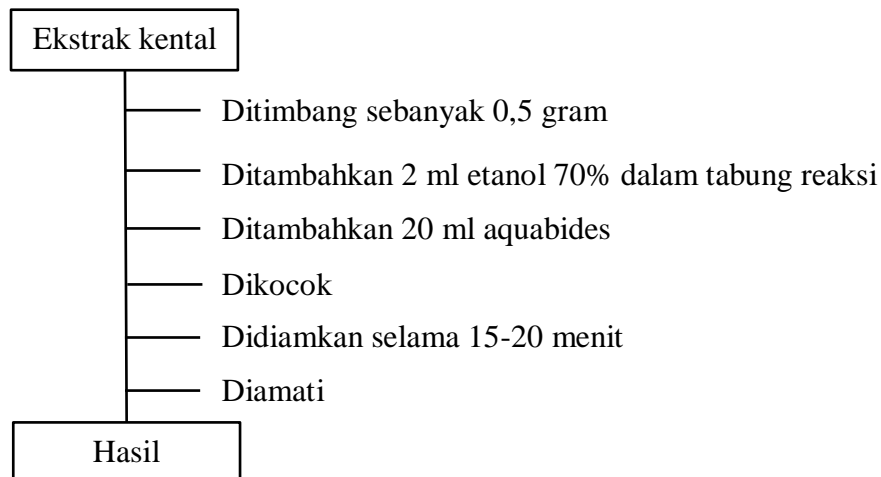
Keterangan: Adanya flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna jingga.

b. Steroid (Harborne, 2006)



Keterangan: Adanya steroid ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau.

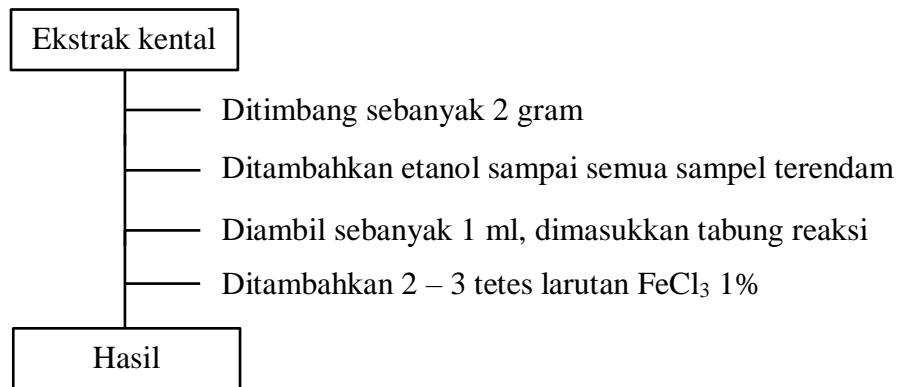
c. Saponin (Harborne, 2006)



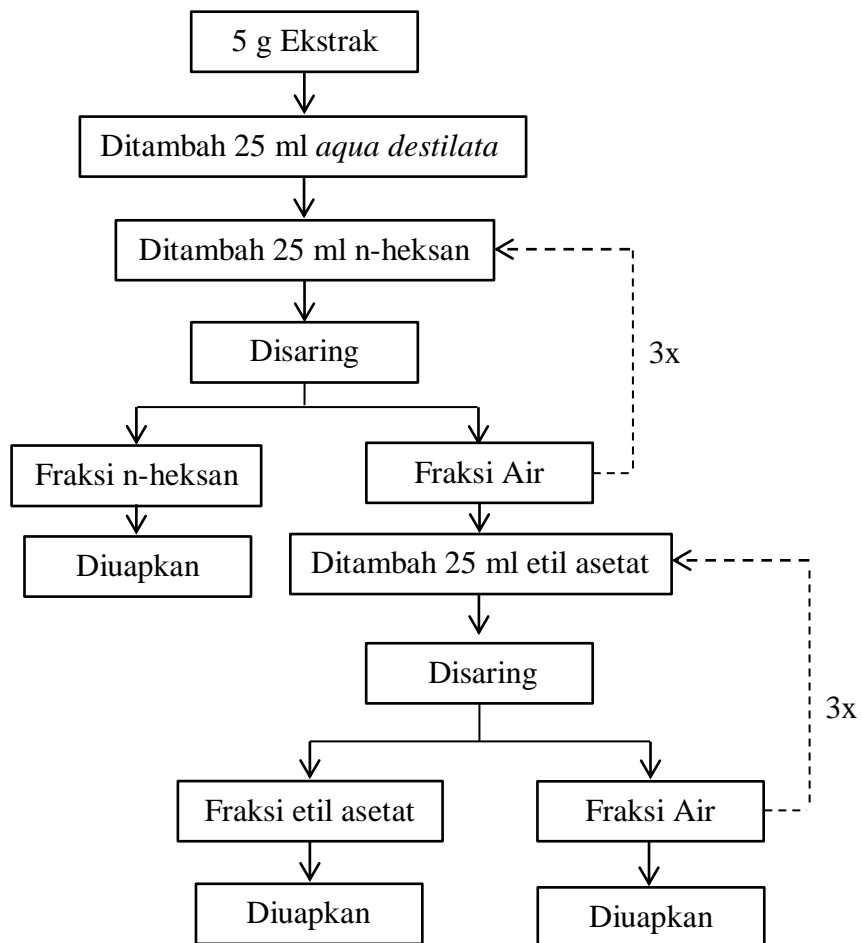
Keterangan: Positif mengandung saonin jika terbentuk busa yang stabil.

d. Tanin (Ngajow *et al.*, 2013)

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

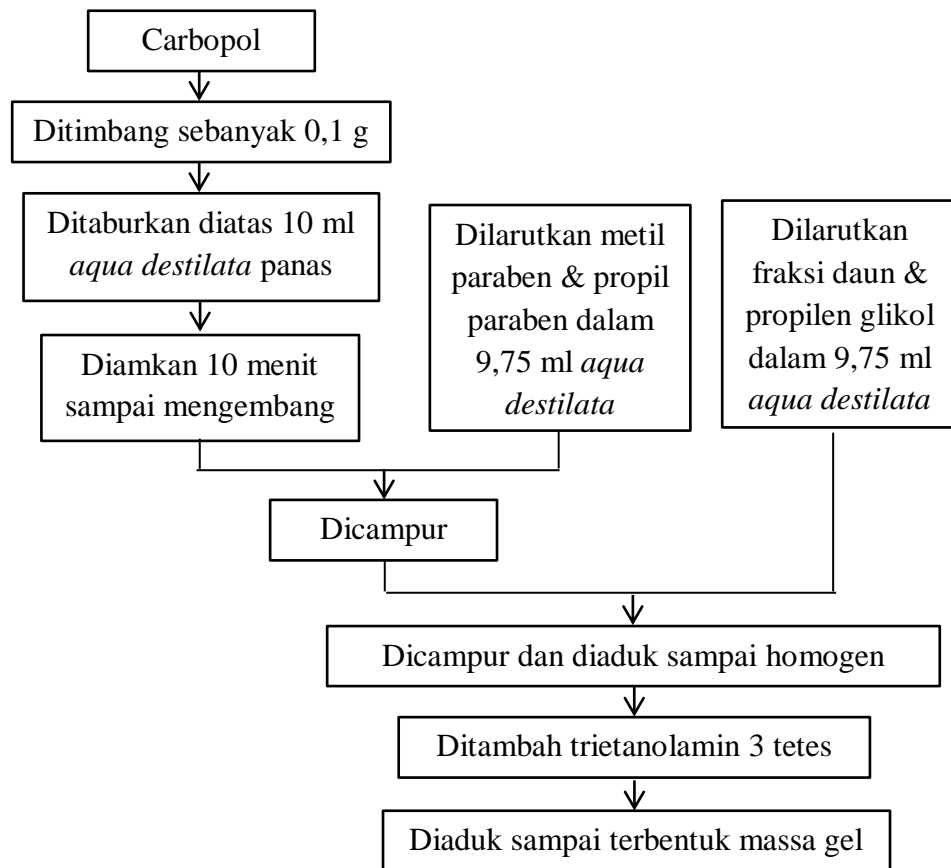


7. Fraksinasi (Isnawati *et al.*, 2006)

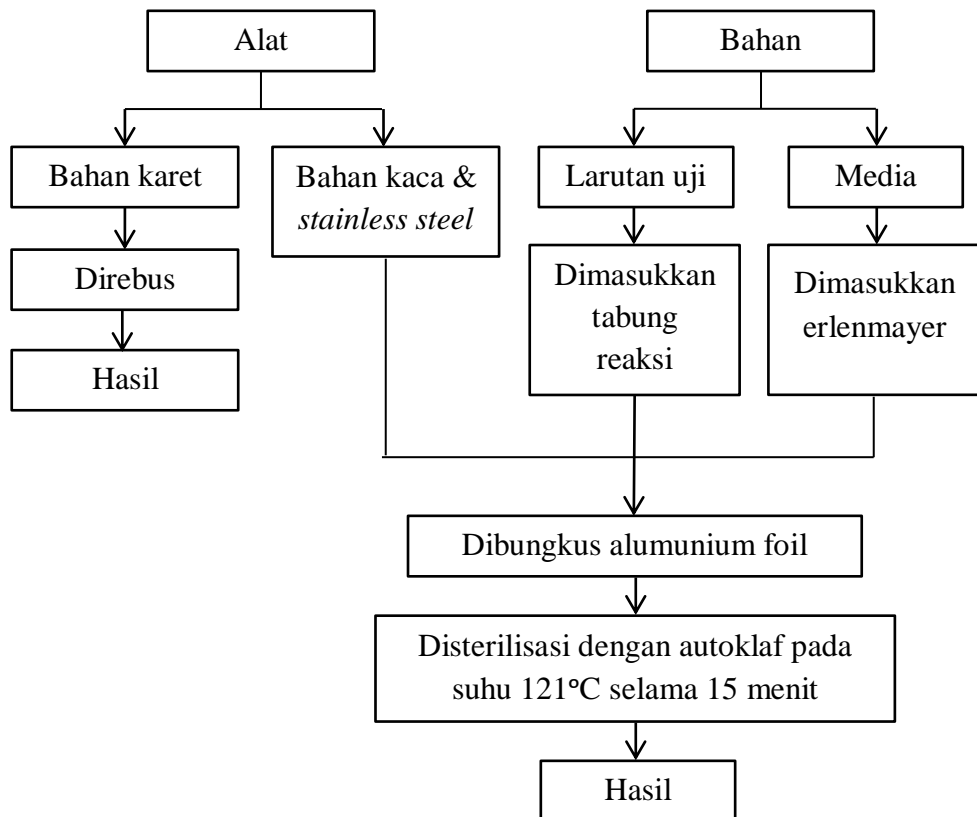


Keterangan: Tiap filtrat disari 4 kali dengan masing – masing pelarut pada tiap fraksi sampai didapat lebih kurang 100 ml pada tiap fraksi.

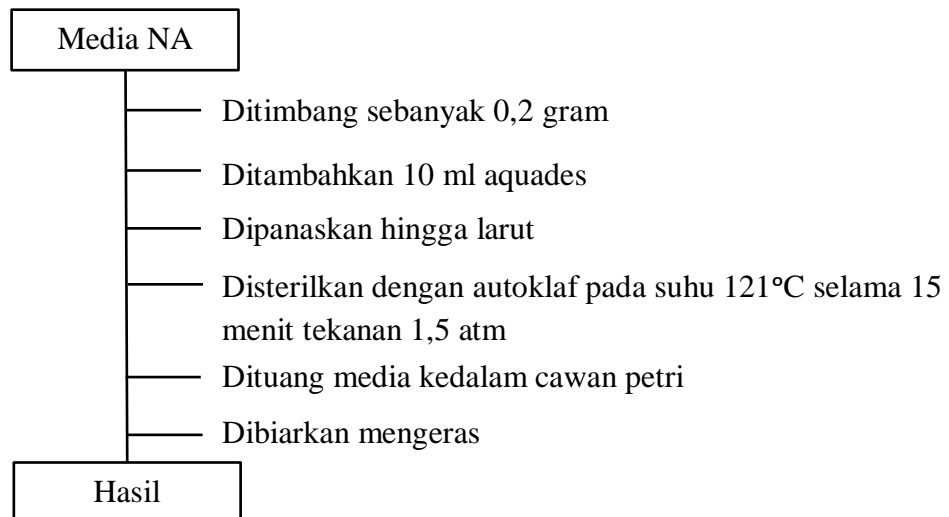
8. Pembuatan Gel



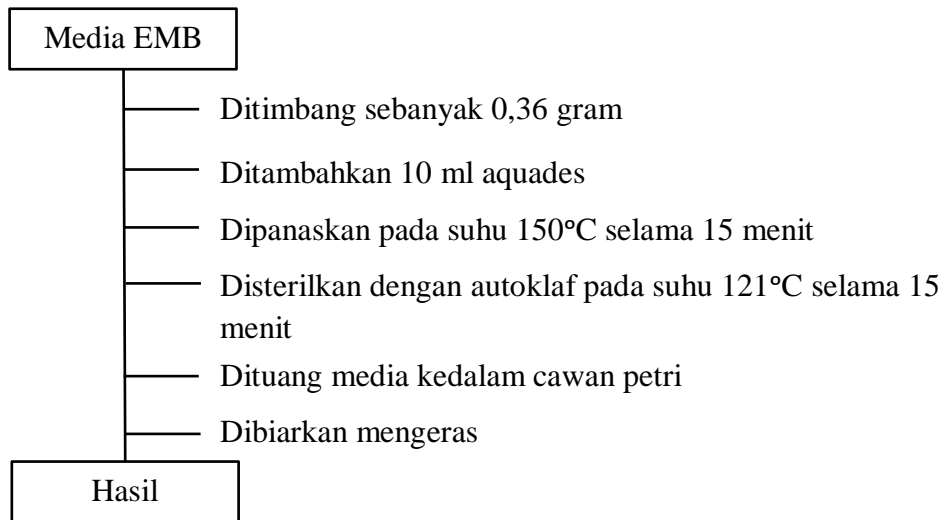
9. Sterilisasi Alat dan Bahan (Maradona, 2013)



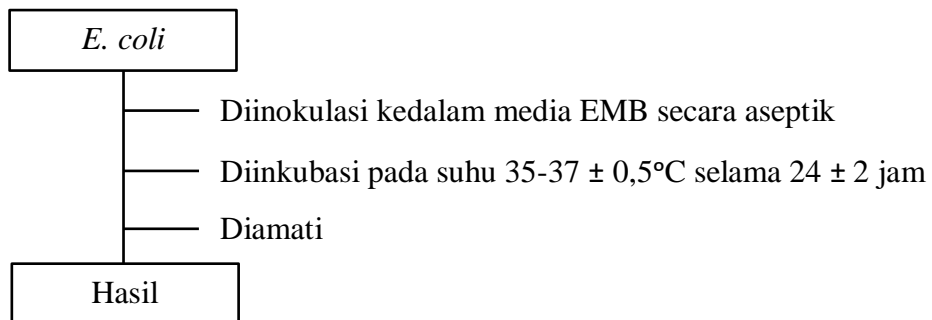
10. Pembuatan Media Pertumbuhan Bakteri (Maradona, 2013)



11. Pembuatan Media Identifikasi *Escherichia coli* (Putri, 2016)

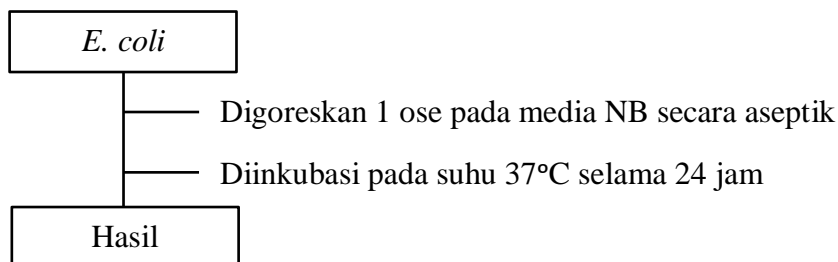


12. Uji Identifikasi *Escherichia coli* (Putri, 2015)

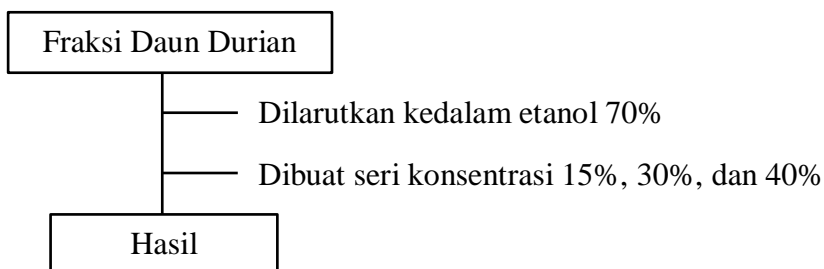


Keterangan: uji positif jika terdapat koloni kehijauan dengan kilap logam

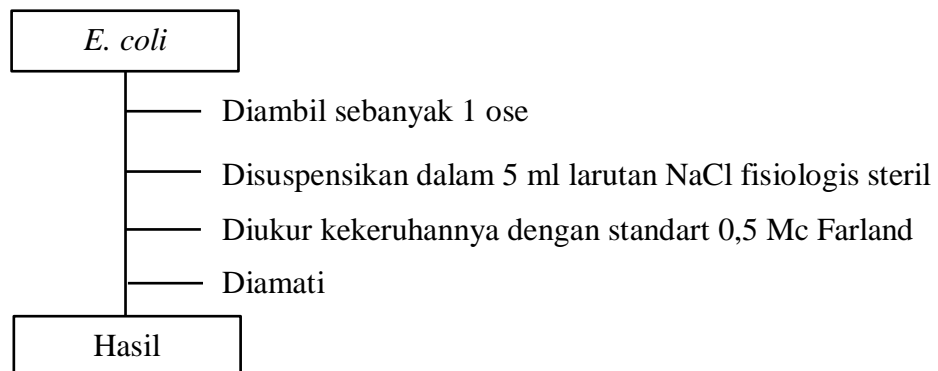
13. Peremajaan Bakteri Uji (Maradona, 2013)



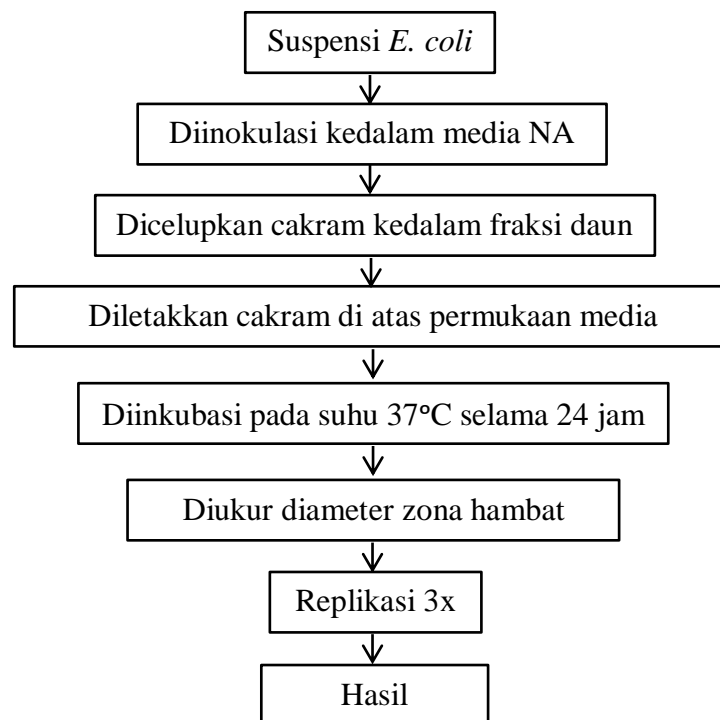
14. Pembuatan Larutan Uji (Maradona, 2013)



15. Pembuatan Suspensi Bakteri (Maradona, 2013)

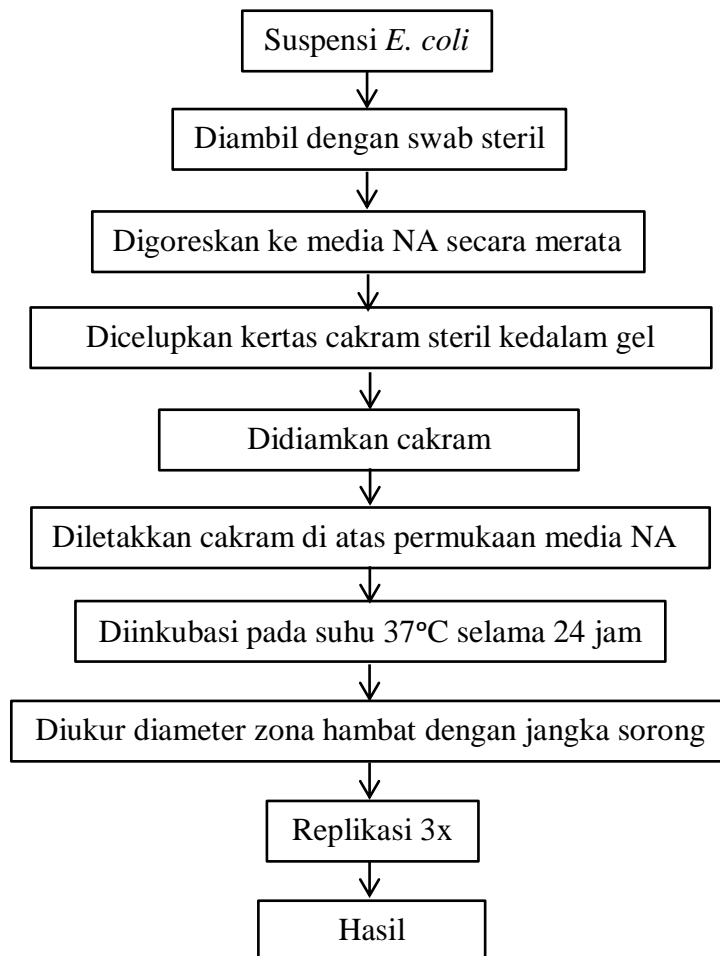


16. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Durian (Maradona, 2013)

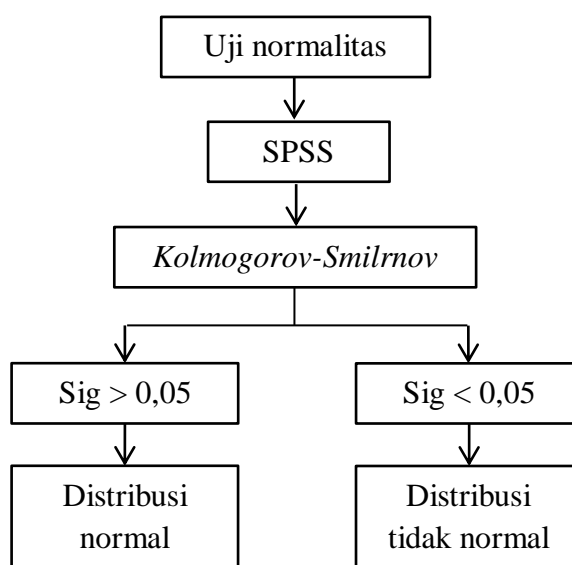


Keterangan: DMSO 5% sebagai kontrol negatif dan klindamisin sebagai kontrol positif.

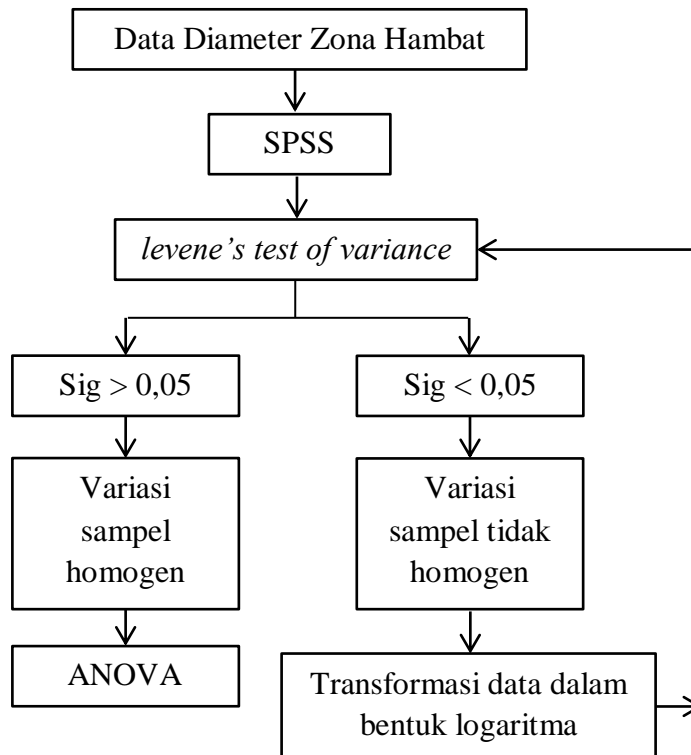
17. Uji Aktivitas Antibakteri Gel (Maradona, 2013)



18. Uji Normalitas (Afrilyanti, 2015)



19. Uji Homogenitas (Sujarweni, 2012)



20. One-Way Anova (Sujarweni, 2012)

