

SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI SEDIAAN GEL EKSTRAK
DAUN MELINJO (*Gnetii gnemonii Folium*) TERHADAP
BAKTERI *Staphylococcus aureus* SECARA *IN VITRO***



**TRI KURNIA ASTUTIK
1413206037**

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
STIKES KARYA PUTRA BANGSA
TULUNGAGUNG
2018**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI SEDIAAN GEL EKSTRAK
DAUN MELINJO (*Gnetii gnemonii Folium*) TERHADAP
BAKTERI *Staphylococcus aureus* SECARA *IN VITRO***

TRI KURNIA ASTUTIK

NIM : 1413206037

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
STIKES KARYA PUTRA BANGSA
TULUNGAGUNG
2018**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI SEDIAAN GEL EKSTRAK
DAUN MELINJO (*Gnetii gnemonii Folium*) TERHADAP
BAKTERI *Staphylococcus aureus* SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

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

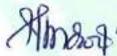
Oleh:

TRI KURNIA ASTUTIK

NIM: 1413206037

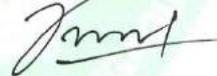
**Skripsi ini telah disetujui
Tanggal 19 Juli 2018 oleh:**

Pembimbing Utama,



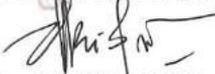
**Sri Rahayu Dwi P., S.si., M.Kes, Apt
NIDN. 0715047201**

Pembimbing Serta,



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

**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**

HALAMAN PERNYATAAN

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi saya yang berjudul “**Uji Aktivitas Antibakteri Sediaan Gel Ekstrak Daun Melinjo (*Gnetti gnemonii Folium*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara *In Vitro***” belum pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan disuatu perguruan tinggi dan tidak memuat karya maupun bagian karya orang lain, terkecuali yang telah disebutkan dalam kutipan dan daftar pustaka. Jika apabila dikemudian hari ditemukan indikasi plagiarisme dalam naskah ini, maka saya dengan penuh bersedia menanggung segala sanksi yang sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku.

Tulungagung, 6 Juni 2018

METERAI
TEMPEL
9BCF1AEF028702092
6000
EKSPERBUKUPAH

Penulis

TRI KURNIA ASTUTIK

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Tuhan Yang Maha Esa atas berkat, bimbingan dan kasih karuniaNya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian serta penyusunan skripsi ini. Shalawat serta salam semoga tetap tercurahkan kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW yang telah menuntun umatnya dari lembah kegelapan menuju jalan yang terang benderang.

Skripsi yang berjudul **“Uji Aktivitas Antibakteri Sediaan Gel Ekstrak Daun Melinjo (*Gnetii gnemonii Folium*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara *In Vitro*”** disusun sebagai salah satu syarat tugas akhir menyelesaikan program pendidikan tingkat Strata 1 (S1) Sarjana Farmasi pada Program Studi Farmasi, Stikes Karya Putra Bangsa. Penulis menyadari dalam pembuatan skripsi ini tidak terlepas dari dukungan dan bantuan dari berbagai pihak, oleh karena itu penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Ibu Dr.Denok Sri Utami M.H., selaku Ketua Yayasan Stikes Karya Putra Bangsa, Tulungagung.
2. Ibu Tri Anita Sari S.Farm.,Apt., selaku Ketua Program Studi Farmasi, Stikes Karya Putra Bangsa Tulungagung.
3. Ibu Sri Rahayu Dwi Purnaningtyas, M.Kes.,Apt dan Bapak Yanu Andhiarto, M.Farm.,Apt sebagai pembimbing skripsi, yang dengan sabar membimbing, memberikan arahan, evaluasi dan saran dalam pembuatan dan penyelesaian skripsi.
4. Seluruh Staf Laboratorium Stikes Karya Putra Bangsa Tulungagung yang telah membantu selama penulis melakukan penelitian di Laboratorium Kimia, Mikrobiologi, dan Teknologi Sediaan.
5. Dosen-dosen, Staf dan Karyawan Program Studi Farmasi Stikes Karya Putra Bangsa Tulungagung, yang telah banyak memberi ilmu, bimbingan dan arahan bagi penulis selama masa kuliah.
6. Kepada keluarga besar, terutama ayah, ibu, kakak dan adik yang selalu memberikan doa, dukungan, semangat, dan perhatian yang besar sehingga penulis dapat menyelesaikan studi ini.

7. Teman-teman seperjuangan Zia dan Depi. Teman-teman kos tercinta Alfi, Devri, Arum, Zia, Depi, Dyah, Yane, dan teman-teman Farmasi angkatan 2014 atas semua kebersamaan kita dan semoga persahabatan yang sudah terjalin tidak akan pernah berakhir.
8. Dan semua pihak yang telah membantu baik secara langsung maupun tidak langsung yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu.

Penulis menyadari masih banyak terdapat kekurangan dalam penelitian ini, penulis mengharapkan kritik serta saran yang bersifat membangun. Penulis berharap, skripsi ini dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan khususnya dibidang farmasi.

Tulungaagung, 6 juni 2018

RINGKASAN

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI SEDIAAN GEL EKSTRAK DAUN MELINJO (*gnetii gnemonii Folium*) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* SECARA IN VITRO

Melinjo merupakan tanaman yang mempunyai aktivitas antibakteri. Ekstrak daun melinjo mengandung senyawa flavonoid, tanin, alkaloid, saponin dan terpenoid yang dapat berperan sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* dari ekstrak daun melinjo, serta memformulasi gel dari ekstrak daun melinjo.

Metode penelitian yang digunakan yaitu eksperimental. Ekstrak daun melinjo dibuat dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode difusi cakram *Kirby-Bauer* terhadap *Staphylococcus aureus*. Konsentrasi ekstrak etanol daun melinjo yang digunakan terdiri dari konsentrasi 50%, 60%, 70% dan 80%. Ekstrak dengan konsentrasi optimum diformulasikan dalam bentuk gel dan dilakukan evaluasi mutu fisik sediaan gel meliputi organoleptis, uji homogenitas, uji pH, uji daya lekat dan uji daya sebar selama satu bulan.

Hasil uji menunjukkan ekstrak daun melinjo memberikan efek antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*. Ekstrak konsentrasi 80% mempunyai diameter zona hambat dalam kategori kuat yaitu 13,08 mm dibandingkan dengan konsentrasi 50% (11,5 mm), 60% (12 mm), dan 70% (12,3 mm). Gel dari ekstrak daun melinjo 80% memberikan efek antibakteri dengan kategori kuat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan diameter zona hambat sebesar 16,91 mm. Kontrol positif Clindamycin gel memiliki diameter daya hambat 28 mm dimana memiliki daya hambat kategori sangat kuat. Hasil evaluasi mutu fisik sediaan gel memiliki stabilitas yang stabil sedangkan pada pengujian daya lekat belum memenuhi parameter yang ditentukan.

ABSTRACT

THE IN VITRO ANTIBACTERY ACTIVITY OF GEL FROM MELINJO LEAF EXTRACT (*Gnetii gnemonii Folium*) AGAINST BACTERIA *Staphylococcus aureus*

Melinjo plant (*Gnetii gnemon Folium*) is one of the plants found in Indonesia whose utilization has not been maximally explored. Information on antimicrobial activity of melinjo leaves is not known. The objective of this study was to investigate the antibacterial activity of *Staphylococcus aureus* from melinjo leaf extract, and to formulate gel from melinjo leaf extract as antibacterial that fulfill the requirements of physical stability. The research is experimental method. Melinjo leaf was extracted by maceration method using 70% ethanol as solvent. The antibacterial activity test was performed by using Kirby-Bauer disc diffusion method against *Staphylococcus aureus*. We applied various concentration of melinjo leaf extract such as 50%, 60%, 70% and 80%. The results showed that 80% melinjo leaf extract generated antibacterial activity with inhibition diameter of 13.08 mm in strong category. Besides, other concentrations of melinjo leaf extract for 50%, 60%, and 70% exhibited inhibition zone diameter of 11.5 mm, 12 mm, 12,3 mm respectively. Gel containing 80% melinjo leaf extract showed antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* in strong category with inhibition zone diameter of 16.91 mm. While, positif control clindamycin gave inhibition zone diameter of 28 mm which is stronger antibacterial activity relative to gel of melinjo extract. The evaluation of gel from melinjo extract was stable while the adhesion test did not meet the specified parameter.

Keyword: Melinjo leaf, maceration method, antibacterial, *Staphylococcus aureus*

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR.....	V
RINGKASAN	VII
ABSTRAK	VIII
DAFTAR ISI.....	IX
DAFTAR GAMBAR.....	XIII
DAFTAR TABEL	XIV
DAFTAR LAMPIRAN	XV
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Hipotesis	4
1.5 Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Obat Tradisional	6
2.2 Tanaman Melinjo	6
2.2.1 Klasifikasi Daun Melinjo	6
2.2.2 Morfologi Tanaman.....	7
2.2.3 Kandungan Senyawa Aktif Daun Melinjo	7
2.2.4 Khasiat Melinjo	8
2.3 Simplisia.....	9
2.3.1 Syarat Simplisia	9
2.3.2 Penyiapan Simplisia	10

2.4 Ekstraksi	13
2.4.1 Macam-Macam Cairan Penarik.....	16
2.5 Sediaan Gel	18
2.5.1 Komposisi Gel.....	19
2.6 Pengertian Bakteri	22
2.6.1 Penggolongan Bakteri	22
2.7 <i>Staphylococcus aureus</i>	23
2.7.1 Klasifikasi <i>Staphylococcus aureus</i>	23
2.7.2 Morfologi <i>Staphylococcus aureus</i>	24
2.8 Antibakteri	25
2.8.1 Mekanisme Kerja Zat Antibakteri	26
2.9 Uji Aktivitas Bakteri.....	27
2.9.1 Metode Difusi.....	27
2.9.2 Metode Dilusi	28
2.10 Antibiotik Pembanding	29
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	31
3.1 Bahan Penelitian	31
3.2 Alat Penelitian	31
3.3 Populasi Penelitian	31
3.4 Sampel Penelitian	32
3.5 Variabel Penelitian	32
3.5.1 Variabel Bebas.....	32
3.5.2 Variabel Terikat.....	32
3.5.3 Variabel Kontrol.....	32
3.6 Metode Penelitian	32

3.6.1	Determinasi Daun Melinjo	33
3.6.2	Penyiapan Simplisia	33
3.6.3	Uji Susut Pengerinan	33
3.6.3	Uji Kadar Air.....	34
3.6.3	Pembuatan Ekstrak Metode Maserasi	34
3.6.4	Uji Bebas Etanol Ekstrak Daun Melinjo	34
3.6.5	Skrining Fitokimia.....	35
3.6.6	Sterilisasi Alat	36
3.6.7	Pembuatan Media Nutrient Broth (NB)	36
3.6.8	Pembuatan Media Nutrient Agar (NA)	36
3.6.9	Pembuatan Suspensi Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	36
3.6.10	Pembuatan Larutan Uji.....	37
3.6.11	Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Melinjo	37
3.6.12	Formulasi Sediaan Gel.....	38
3.6.13	Evaluasi Sediaan Gel	39
3.6	Rancangan Penelitian.....	41
3.7	Analisa Hasil.....	42
3.8	Jadwal Penelitian	43
BAB IV HASIL PENELITIAN.....		44
4.1	Data Mentah.....	44
4.1.1	Determinasi Tanaman	44
4.1.2	Uji Susut Pengerinan.....	44
4.1.3	Uji Kadar Air Serbuk Simplisia	44
4.1.4	Rendemen Maserat	44
4.1.5	Skrining Fitokimia.....	45

4.1.6 Uji Bebas Etanol.....	45
4.1.7 Uji Aktivitas Ekstrak Daun Melinjo	45
4.1.7 Evaluasi Sediaan Gel Ekstrak Daun Melinjo	46
4.1.8 Aktivitas Antibakteri Gel Ekstrak Daun Melinjo.....	46
4.2 Data Olahan Menggunakan <i>One Way Anova</i>	47
4.2.1 Analisis Hasil Ekstrak Daun Melinjo.....	47
4.2.2 Hasil Stabilitas Gel Ekstrak Daun Melinjo	47
4.2.3 Hasil Aktivitas Antibakteri Gek Ekstrak daun Melinjo	47
BAB V PEMBAHASAN	48
5.1 Determinasi Daun Melinjo	49
5.2 Persiapan Sampel.....	49
5.3 Uji Susut Pengerinan	50
5.4 Uji Kadar Air Serbuk Simplisia.....	51
5.5 Ekstraksi Daun Melinjo	51
5.6 Uji Skrining Fitokimia Senyawa Aktif dalam Daun Melinjo.....	52
5.7 Uji Bebas Etanol	57
5.8 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Melinjo.....	58
5.9 Uji Sifat Fisik dan Stabilitas Gel	64
5.10 Uji Aktivitas Antibakteri Gel Ekstrak Daun Melinjo.....	67
5.11 Analisis Data.....	69
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	73
6.1 Kesimpulan	73
6.2 Saran	73
DAFTAR PUSTAKA	75
LAMPIRAN.....	83

DAFTAR GAMBAR

Gambar	hal
2.1 Daun Melinjo	7
2.2 Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	24
5.1 Uji Kadar Air	51
5.2 Serbuk Simplisia Daun Melinjo	49
5.3 Uji Alkaloid dengan Reagen Dragendroff	54
5.4 Uji Tanin	55
5.5 Uji Saponin	56
5.6 Uji Flavonoid	56
5.7 Uji Terpenoid	57
5.8 Uji Bebas Etanol	58
5.9 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Melinjo	63
5.10 Uji Aktivitas Antibakteri Gel Daun Melinjo	69

DAFTAR TABEL

Tabel	hal
II.1 Respon Hambatan Pertumbuhan Bakteri.....	29
III.1 Formula Standar Gel Basis CMC Na	38
III.2 Formula Modifikasi Gel Ekstrak Daun Melinjo.....	39
IV.1 Hasil Uji Kadar Air Daun Melinjo	43
IV.2 Rendemen Maserat Daun Melinjo.....	44
IV.3 Hasil Skrining Fitokimia Daun Melinjo	44
IV.4 Hasil Uji Bebas Etanol	45
IV.5 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Melinjo	45
IV.7 Evaluasi Sediaan Gel Ekstrak Daun Melinjo	46
IV.8 Aktivitas Antibakteri Gel Ekstrak Daun Melinjo.....	46
IV.9 Analisis Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Melinjo	47
IV.10 Analisis Uji Stabilitas Gel Ekstrak Daun Melinjo.....	47
IV.11 Analisis Uji Aktivitas Antibakteri Gel Ekstrak Daun Melinjo.....	48

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	hal
1. Surat Determinasi.....	83
2. Surat Pembelian Isolat Bakteri.....	84
3. Perhitungan Kadar Air, Susut Pengeringan, Rendemen Ekstrak	85
4. Maserasi, Skrining Fitokimia, dan Uji Aktivitas Antibakteri	87
5. Uji Evaluasi Gel	90
6. Data Statistik Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Melinjo.....	92
7. Data Uji Sifat Fisik dan Stabilitas Gel Ekstrak Daun Melinjo	97
8. Data Statistik Gel Ekstrak Daun Melinjo.....	99

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia dikenal sebagai salah satu negara terbesar dalam pemanfaatan tumbuhan obat bersama negara lain di Asia, seperti Cina dan India. Pemanfaatan tanaman sebagai obat-obatan berlangsung ribuan tahun yang lalu tetapi penggunaannya belum terdokumentasi dengan baik (Widjaja *et al.*, 2014). Tumbuhan obat di Indonesia terdapat lebih dari 20.000 jenis tanaman yang tersebar dan telah terdata sekitar 1000 jenis tanaman. Tanaman yang dimanfaatkan sebagai pengobatan tradisional baru sekitar 300 jenis tanaman (Akbar, 2010). Kehidupan nenek moyang yang menyatu dengan alam menumbuhkan kesadaran bahwa alam adalah penyedia obat bagi dirinya dan masyarakat. Obat tradisional dari sini mulai dikenal masyarakat dan berkembang dengan pesat. Departemen Kesehatan Republik Indonesia (2007) menyatakan bahwa, obat tradisional merupakan produk yang terbuat dari bahan alam yang jenis dan sifat kandungannya sangat beragam dan secara turun temurun telah digunakan untuk pengobatan berdasarkan pengalaman. Penggunaan tanaman sebagai bahan obat tradisional memerlukan penelitian ilmiah untuk mengetahui khasiatnya agar dapat digunakan untuk sintesis senyawa obat baru. Tanaman yang berpotensi untuk dikembangkan sebagai agen antibakteri adalah daun melinjo (*Gnetii gnemonii Folium*).

Melinjo merupakan salah satu tanaman family *Gnetaceae* yang berasal dari daerah tropis, masyarakat pada umumnya mengkonsumsi daunnya yang masih muda sebagai sayuran untuk makanan sehari-hari dan bijinya sebagai bahan pengolahan emping melinjo. Kining (2015) menyatakan, daun melinjo memiliki kandungan senyawa aktif seperti alkaloid, saponin, steroid dan tanin. Senyawa tersebut mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* sedangkan menurut penelitian Taroreh *et al.*, (2016) daun melinjo memiliki kandungan senyawa aktif seperti alkaloid, flavonoid, steroid dan tanin yang mampu menghambat bakteri penyebab timbulnya karies yaitu *Streptococcus mutans*.

Metode yang digunakan untuk penemuan obat tradisional salah satunya dengan metode ekstraksi. Ekstraksi merupakan kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut pada pelarut cair sehingga terpisah dari kandungan kimia yang tidak dapat larut dengan pelarut cair (Agoes, 2007). Pemilihan metode ekstraksi tergantung pada sifat bahan dan senyawa yang akan diisolasi. Maserasi adalah teknik yang digunakan untuk menarik atau mengambil senyawa yang diinginkan dari suatu larutan atau padatan dengan teknik perendaman terhadap bahan yang akan diekstraksi. Sampel yang telah dihaluskan direndam dalam suatu pelarut organik selama beberapa waktu (Ibrahim dan Marham, 2013). Koirewoa (2012) menyatakan, proses ini menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam karena selain murah dan mudah dilakukan, dengan perendaman sampel tumbuhan akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara didalam dan diluar sel, sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik dan ekstraksi senyawa akan sempurna karena dapat diatur lama perendaman yang dilakukan. Pelarut yang mengalir ke dalam sel dapat menyebabkan protoplasma membengkak dan bahan kandungan sel akan larut sesuai dengan kelarutannya.

Aktivitas antibakteri yang dimiliki daun melinjo perlu dikembangkan dalam suatu sediaan farmasi untuk mempermudah penggunaannya salah satunya bentuk gel. Gel merupakan sediaan setengah padat yang terdiri dari suspensi yang dibuat dari partikel anorganik kecil atau molekul organik yang besar, terpenetrasi oleh suatu cairan (Widodo, 2013). Salah satu keuntungan gel adalah mudah mengering, membentuk lapisan film yang mudah dicuci dan memberikan rasa dingin di kulit (Panjaitan, 2012). *Carboksimetilselulosa natrium* (CMC Na) merupakan basis gel dan banyak dipilih sebagai basis sediaan topikal karena nilai pH yang lebih tinggi dibandingkan basis karbopol yang bersifat asam, nilai daya sebar basis CMC-Na lebih tinggi, dan apabila gel dengan basis CMC-Na diberi ekstrak hasilnya tidak mempengaruhi daya sebar, berbeda dengan gel basis karbopol apabila diberi penambahan ekstrak mengakibatkan penurunan nilai daya sebar (Maulina & Sugihartini, 2015).

Penyakit infeksi merupakan penyebab kesakitan dan kematian yang tinggi diseluruh dunia, khususnya di negara sedang berkembang seperti Indonesia

(Guntur, 2007). Guntur (2007) menyatakan, bahwa faktor penyebab infeksi banyak disebabkan oleh beberapa bakteri gram positif dan negatif, salah satu penyebab infeksi terbesar dari bakteri gram positif diantaranya dari genus *Staphylococcus*. *Staphylococcus aureus* merupakan patogen penting pada manusia yang dapat menimbulkan berbagai kasus penyakit salah satunya infeksi kulit. *Staphylococcus aureus* dapat ditemukan dilingkungan masyarakat seperti udara, debu, kotoran, air, susu, makanan, tempat makan, manusia dan hewan. Manusia dan hewan merupakan tempat berkumpulnya bakteri tersebut dan dapat ditemukan pada individu yang sehat dalam saluran pernafasan, rambut dan kulit (Salisia dan Sugiyono, 2009).

Kemampuan tanaman daun melinjo sebagai antibakteri ditentukan dengan mengukur kepekaan suatu bakteri patogen terhadap aktivitas antibakteri. Pengukuran aktivitas antibakteri salah satunya dilakukan dengan menggunakan metode difusi (Brooks *et al*, 2012). Metode difusi merupakan metode yang umum digunakan untuk uji kepekaan antimikroba. Metode difusi dapat dilakukan dengan metode kertas cakram antibakteri yaitu meletakkan cakram kertas yang telah direndam larutan uji di atas media padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Pertumbuhan bakteri diamati pada daerah hambatan di sekeliling cakram (Harmita dan Radji, 2008).

Berdasarkan uraian diatas, maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian mengenai pengaruh konsentrasi gel ekstrak daun melinjo terhadap aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus*. Gel akan diuji dengan metode *disc diffusion* yang kemudian dilanjutkan dengan uji stabilitas.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimanakah aktivitas antibakteri ekstrak daun melinjo dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*?
2. Berapakah konsentrasi ekstrak daun melinjo yang efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*?
3. Bagaimanakah aktivitas antibakteri sediaan gel ekstrak daun melinjo dengan konsentrasi ekstrak paling optimum terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan stabilitas sediaan gel ekstrak daun melinjo?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak daun melinjo dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.
2. Mengetahui konsentrasi ekstrak daun melinjo yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.
3. Mengetahui aktivitas antibakteri sediaan gel ekstrak daun melinjo dengan konsentrasi ekstrak paling optimum terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan stabilitas sediaan gel ekstrak daun melinjo

1.4 Hipotesis

1. Ekstrak daun melinjo mempunyai aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.
2. Ekstrak daun melinjo konsentrasi optimum memberikan diameter zona hambat paling efektif terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.
3. Sediaan gel ekstrak daun melinjo dengan konsentrasi ekstrak paling optimum memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan sediaan gel ekstrak daun melinjo stabil dalam penyimpanan.

1.5 Manfaat Penelitian

1. Bagi Masyarakat

Hasil penelitian dapat memberi informasi kepada masyarakat tentang khasiat ekstrak daun melinjo dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*.

2. Bagi Ilmu Pengetahuan

Hasil penelitian nantinya diharapkan dapat menambah ilmu pengetahuan dalam bidang kesehatan khususnya tentang penggunaan bahan alami untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Obat Tradisional

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, dan dapat diterapkan sesuai dengan norma yang berlaku dimasyarakat (Permenkes RI, 2012).

2.2 Tanaman Melinjo (*Gnetum gnemon*)

Melinjo (*Gnetum gnemon*) merupakan tanaman *Gnetaceae* asli Indo-Malaya (Kato, 2009 dan Kato, 2011). Area distribusi dari tumbuhan ini antara lain di Asia Tenggara dan Melanesia, Assam, Timur Laut India (Manner dan Elevitch, 2006). Daerah distribusi tanaman ini meliputi di Andaman, Sumatera dan Pulau Jawa (Manner dan Elevitch, 2006). Melinjo memiliki nama daerah sebagai berikut, yaitu ki tangkil, mlinjo, sake, tangkil (Sunda), bagu, eso malinjo, trangkil, witgrintul (Jawa), Mulieng (Aceh), manenjo, maninjo (Belitung), bagu, poko sumba (Makasar) (Hariana, 2008).

2.2.1 Klasifikasi Daun Melinjo

Tjitrosoepomo (2004) menyatakan, tanaman melinjo dalam sistematika (taksanomi) tumbuhan dapat di klasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta (Tumbuhan berbiji)
Sub Divisi	: Gymnospermae (Berbiji terbuka)
Kelas	: Gnetopsida
Ordo	: Gnetales
Famili	: Gnetaceae
Genus	: <i>Gnetum</i>
Spesies	: <i>Gnetum gnemon</i> L.



Gambar 2.1 Daun Melinjo (Purmosidhiet *al.*, 2007)

2.2.2 Morfologi Tanaman

Melinjo (*Gnetum Gnemon*) merupakan tumbuhan yang termasuk dalam divisi *Spermatophyta* yang dapat ditemukan di pulau jawa. Pohon melinjo berbatang lurus, tingginya dapat mencapai 10 m. Daun berhadapan, berbentuk jorong, panjang 7,5-20 cm dan lebar 2-10 cm, urat daun sekunder saling bersambungan, bewarna hijau gelap, mengkilap, halus, tajam pada kedua ujungnya. Perbungaan majemuk soliter dan aksiler, melingkar di tiap ruas, panjang bunga 3-6 cm, berbentuk jorong, panjang 1-3 cm, bagian ujungnya runcing pendek, ketika masak bewarna hijau, dan akan berubah dari kuning, merah, hingga keunguan saat masak. Biji dalam buah melinjo hanya satu, di tutupi oleh lapisan keras, bagian dalamnya putih. Kulit batang bewarna abu-abu dan memiliki akar tunggang yang kuat (Hidayat, 2015).

2.2.3 Kandungan Senyawa Aktif Daun Melinjo

Senyawa bioaktif yang terdapat pada melinjo seperti flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, dan terpenoid (Kato *et al.*, 2011 dan Santosoet *al.*, 2010). Senyawa ini memiliki potensi pemanfaatan sebagai obat atau antibodi, antimikroba, pigmen atau bahkan agen anti-inflamasi (Khan *et al.*, 2003; Rauha *et al.*, 2000; Uboh *et al.*, 2010). Saponin memiliki aktifitas antibakteri, bersifat lyobipolar sehingga senyawa ini dapat berinteraksi dengan membran sel dan dapat menurunkan tegangan dipermukaan. Senyawa ini dihasilkan terutama pada tanaman (Thakur *et al.*, 2011). Saponin bekerja dengan mengganggu stabilitas membran sel bakteri dan

menyebabkan sel bakteri mengalami lisis (Cheeke, 2004). Menurut Gunawan *et al.*,(2008), senyawa terpenoid mempunyai kemampuan dalam menghambat bakteri. Mekanisme penghambatan senyawa terpenoid sebagai antibakteri adalah bereaksi dengan porin pada membran luar dinding sel bakteri dan membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin mengakibatkan masuknya senyawa yang akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri sehingga sel bakteri akan kekurangan nutrisi dan pertumbuhan bakteri terhambat atau mati. Alkaloid juga dapat menyebabkan sel bakteri mudah mengalami lisis, yang diduga memiliki mekanisme kerja dengan cara mengganggu komponen penyusun lapisan dinding sel sehingga dinding sel tidak terbentuk secara utuh. Tanin diduga dapat mengkerutkan dinding sel bakteri (Retnowati *et al.*, 2011).

2.2.4 Khasiat Melinjo

Tanaman melinjo memiliki banyak manfaat bagi keberlangsungan hidup manusia seperti daun muda, bunga, kulit biji yang tua, dapat digunakan sebagai bahan makanan yang cukup populer di masyarakat. Bahan makanan yang berasal dari tanaman melinjo memiliki kandungan gizi yang cukup tinggi, selain karbohidrat juga mengandung lemak, protein, mineral, dan vitamin-vitamin (Sunanta, 1994). Daun muda, buah yang masih muda, dan bunga dimanfaatkan sebagai bahan sayuran oleh masyarakat. Daun melinjo yang masih muda sangat baik untuk kesehatan mata karena memiliki kandungan vitamin A yang sangat tinggi yakni 10.000 S.I tiap 100 g bahan (Haryoto 1998). Tanaman melinjo bertahun-tahun telah dibudidayakan dan dikembangkan secara tradisional oleh masyarakat sebagai bahan alternatif untuk mengobati berbagai macam penyakit seperti pada kulit buah, buah, biji dan daun melinjo diketahui berkhasiat untuk meluruhkan air seni, menyembuhkan penyakit pada mata, anemia, dan busung lapar (Winarto, 2004).

2.3 Simplisia

Simplisia bentuk jamak dari kata *simpleks* yang berasal dari kata *simple*, berarti satu atau sederhana. Istilah simplisia dipakai untuk menyebut bahan obat

alam yang masih berada dalam wujud aslinya atau belum mengalami perubahan bentuk. Simplisia adalah bahan alami yang digunakan untuk obat dan belum mengalami perubahan proses apapun, dan kecuali dinyatakan lain umumnya berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia dibagi menjadi tiga golongan yaitu simplisia nabati, simplisia hewani, simplisia pelikan atau mineral. Simplisia nabati merupakan simplisia yang dapat berupa tanaman utuh, bagian tanaman, eksudat tanaman, atau gabungan antara ketiganya misalnya, *Datura Folium* dan *Piperis nigri Fructus*. Eksudat tanaman adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau dengan cara tertentu sengaja dikeluarkan dari selnya. Eksudat tanaman dapat berupa zat-zat atau bahan-bahan nabati lainnya yang dengan cara tertentu dipisahkan atau diisolasi dari tanamannya. Simplisia hewani merupakan simplisia berupa hewan utuh atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa bahan kimia murni contohnya minyak ikan (*Oleum iecoris asseli*) dan madu (*Mel depuratum*). Simplisia pelikan atau mineral merupakan simplisia berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa bahan kimia murni contohnya serbuk seng dan serbuk tembaga (Gunawan, 2010).

2.3.1 Syarat Simplisia

Simplisia sebagai bahan baku (awal) dan produk siap dikonsumsi langsung dapat mempertimbangkan tiga konsep untuk menyusun parameter standar umum. Simplisia sebagai bahan kefarmasian seharusnya memenuhi tiga 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) serta 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, 2000).

2.3.2 Penyiapan Simplisia

Tahap pertama, pengumpulan bahan baku. Tahapan pengumpulan bahan baku sangat menentukan kualitas bahan baku. Faktor yang paling berperan dalam tahapan ini adalah masa panen. Pedoman panen didasarkan pada garis besar pengambilan bahan baku tanaman. Pengambilan biji dapat dilakukan pada saat mulai mengeringnya buah atau sebelum semuanya pecah, pengambilan buah tergantung tujuan dan pemanfaatan kandungan aktifnya. Panen buah bisa dilakukan saat menjelang masak misalnya *Piper nigrum*, setelah benar-benar masak misalnya adas atau dengan cara melihat perubahan warna atau bentuk dari buah yang bersangkutan misalnya minyak jeruk, asam, dan pepaya, pemanenan bunga tergantung dari tujuan pemanfaatan kandungan aktifnya. Panen dapat dilakukan pada saat menjelang penyerbukan, saat bunga masih kuncup seperti pada melati (*Jasminum sambac*) atau saat bunga sudah mulai mekar seperti mawar (*Rosa sinensis*), panen daun atau herba dilakukan pada saat proses fotosintesis berlangsung maksimal, yaitu di tandai dengan saat-saat tanaman mulai berbunga atau saat buah mulai masak. Pengambilan pucuk daun, dianjurkan dipungut pada saat warna pucuk daun berubah menjadi daun tua, pemanenan kulit batang hanya dilakukan pada tanaman yang sudah cukup umur. Panen yang paling baik adalah awal musim kemarau, panen umbi dilakukan pada saat awal musim kemarau, panen rimpang dilakukan pada saat awal musim kemarau, panen akar dilakukan saat proses pertumbuhan berhenti atau tanaman sudah cukup umur. Panen yang dilakukan terhadap akar umumnya akan mematikan tanaman yang bersangkutan (Gunawan, 2010).

Tahap kedua, sortasi basah. Sortasi basah adalah pemilahan hasil panen ketika tanaman masih segar. Sortasi basah bertujuan untuk memisahkan kotoran atau bahan asing serta bagian tanaman lain yang tidak diinginkan dari bahan simplisia. Kotoran tersebut dapat berupa tanah, kerikil, rumput atau gulma, tanaman lain yang mirip, bahan yang telah rusak atau busuk, serta bagian tanaman lain yang memang harus dipisahkan dan dibuang. Pemisahan bahan simplisia dari kotoran ini bertujuan untuk menjaga kemurnian dan mengurangi kontaminasi awal yang dapat mengganggu proses selanjutnya, mengurangi cemaran mikroba, serta

memperoleh simplisia dengan jenis dan ukuran seragam. Sortasi basah harus dilakukan secara teliti dan cermat. Kotoran ringan yang berukuran kecil dapat dipisahkan menggunakan nyiru dengan arah gerakan keatas dan kebawah serta memutar. Kotoran akan berterbangan dan memisah dari bahan simplisia. Kegiatan sortasi basah dapat juga dilakukan secara bersamaan dengan waktu pencucian, bahan dibolak-balik untuk memisahkan kotoran yang menempel atau terikut dalam bahan (Depkes, 2000).

Tahap ketiga, pencucian. Pencucian simplisia dilakukan untuk membersihkan kotoran yang melekat, terutama bahan-bahan yang berasal dari dalam tanah dan juga bahan-bahan yang tercemar pestisida. Pencucian bisa dilakukan dengan menggunakan air yang berasal dari beberapa sumber sebagai berikut pencucian yang dilakukan dengan menggunakan air yang berasal dari mata air harus memperhatikan kemungkinan pencemaran yang diakibatkan oleh adanya mikroba dan pestisida, pencucian menggunakan air sumur perlu memperhatikan pencemar yang mungkin timbul akibat mikroba dan air limbah buangan rumah tangga, pencucian menggunakan fasilitas air PAM (ledeng) sering tercemar oleh kapur khlor. Bakteri pencemar air yang penting diketahui antara lain *Pseudomonas*, *Proteus*, *Micrococcus*, *Streptococcus*, *Bacillus*, *Enterobacter*, dan *Escherichia*. Sebelum pencucian kadang-kadang perlu dilakukan proses pengupasan kulit luar, terutama untuk simplisia-simplisia yang berasal dari kulit batang, kayu, buah, biji, rimpang dan bulbus (Gunawan, 2010).

Tahap keempat, perubahan bentuk. Perubahan bentuk simplisia pada dasarnya untuk memperluas permukaan bahan baku. Permukaan bahan baku semakin luas akan semakin cepat kering. Proses perubahan bentuk ini meliputi beberapa perlakuan berikut perajangan (rim pang, daun dan herba), pengupasan (buah, kayu, kulit kayu dan biji-bijian yang ukurannya besar), pemiprilan (jagung, yaitu biji dipisahkan dari bonggolnya), pemotongan (akar, batang, kayu, kulit kayu dan ranting), penyerutan (kayu) (Gunawan, 2010).

Tahap kelima, proses pengeringan simplisia. Pengeringan simplisia bertujuan menurunkan kadar air sehingga bahan tersebut tidak mudah ditumbuhi kapang dan bakteri, menghilangkan aktivitas enzim yang bisa menguraikan lebih

lanjut kandungan zat aktif, memudahkan dalam hal pengelolaan proses selanjutnya (ringkas, mudah disimpan, tahan lama, dan sebagainya. Faktor yang mempengaruhi pengeringan yaitu waktu pengeringan, suhu pengeringan, kelembapan udara disekitarnya dan kelembapan bahan atau kandungan air dari bahan, ketebalan bahan yang di keringkan, sirkulasi udara, luas permukaan bahan (Gunawan, 2010).

Tahap keenam, sortasi kering. Sortasi kering adalah pemilihan bahan setelah mengalami proses pengeringan. Tujuan sortasi adalah untuk memisahkan benda-benda asing seperti bagian-bagian tanaman yang tidak diinginkan dan pengotoran-pengotoran lainnya yang masih ada dan tertinggal pada simplisia kering. Pemilihan dilakukan terhadap bahan-bahan yang terlalu gosong, bahan rusak akibat terlindas roda kendaraan (misalnya dikeringkan ditepi jalan raya), atau dibersihkan dari kotoran hewan, jumlah akar yang melekat pada rimpang terlalu besar sehingga harus dibuang, adanya partikel-partikel pasir, besi, dan benda-benda tanah lain yang tertinggal harus dibuang sebelum simplisia dibungkus (Depkes, 2000).

Tahap ketujuh, pengepakan dan penyimpanan. Simplisia perlu ditempatkan dalam suatu wadah tersendiri agar tidak saling bercampur antara simplisia satu dengan yang lainnya. Wadah-wadah yang berisi simplisia disimpan dalam rak pada gudang penyimpanan. Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi pengepakan dan penyimpanan simplisia yaitu cahaya, oksigen atau sirkulasi udara, reaksi kimia yang terjadi antara kandungan aktif tanaman dengan wadah, penyerapan air, kemungkinan terjadinya proses dehidrasi, pengotoran dan pencemaran baik yang diakibatkan oleh serangga, kapang, bulu-bulu tikus atau binatang lain. Persyaratan wadah yang digunakan sebagai pembungkus simplisia harus inert (tidak mudah bereaksi dengan bahan lain), tidak beracun bagi bahan yang diwadahnya maupun bagi manusia yang menanganinya, mampu melindungi bahan simplisia dari cemaran mikroba dan kotoran serta serangga, mampu melindungi bahan simplisia dari penguapan kandungan aktif, mampu melindungi bahan simplisia dari pengaruh cahaya, oksigen, dan uap air (Gunawan, 2010).

Penyimpanan simplisia kering harus memperhatikan beberapa hal seperti, suhu penyimpanan simplisia yang terbaik tergantung dari sifat simplisia, kelembapan diatur serendah mungkin, penyimpanan dilakukan disuatu ruang atau gudang yang terpisah dari kegiatan prosesing lain, situasi gudang atau ruang penyimpanan harus bersih didalam ruang penyimpanan maupun lingkungannya, sirkulasi udara harus lancar tetapi tidak boleh terlalu terbuka (harus dicegah masuknya angin langsung yang terlalu kencang dan dicegah masuknya cahaya dan atau sinar matahari langsung yang berlebihan serta dicegah masuknya serangga atau heawan-hewan pengganggu lainnya), prinsip penyimpanan dianjurkan menggunakan *first in-first out* (yang masuk awal harus di keluarkan lebih dahulu dibandingkan dengan yang masuk belakangan), ada label wadah, penyimpanan simplisia seyogyanya tidak terlalu lama dan dalam jangka waktu tertentu harus dilakukan pengecekan dan pengujian mutu, untuk simplisia yang rusak atau tercemar harus dikeluarkan dan dimusnahakan dan untuk simplisia yang beracun (mengandung bahan aktif keras) harus disimpan terpisah, dikunci dan diberi label (Gunawan, 2010).

2.4 Ekstraksi

Ekstraksi berasal dari perkataan "*extrahere*", "*to draw out*", menarik sari, yaitu suatu cara untuk menarik satu atau lebih zat dari bahan asal. Zat berkhasiat tersebut umumnya dapat ditarik, namun khasiatnya tidak berubah (Syamsuni, 2007). Hasil dari ekstraksi disebut ekstrak. Ekstrak adalah sediaan yang di peroleh dengan cara ekstraksi tanaman obat dengan ukuran partikel tertentu dan menggunakan medium pengestraksi (menstrum) tertentu. Pengertian ekstrak yang tercantum dalam buku Farmakope Indonesia Edisi IV adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan. Ekstrak yang diperoleh sesudah pemisahan disebut "*micella*". *Micella* dapat diubah menjadi bentuk obat

siap pakai, seperti ekstrak cair dan tincture atau sebagai produk bahan yang selanjutnya dapat diproses menjadi ekstrak kering (Agoes, 2007).

Proses ekstraksi bertujuan untuk memisahkan bagian yang mempunyai sifat aktif dan mengeliminasi bagian yang inert (Handa, 2008). Metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut dibedakan menjadi dua yaitu, maserasi dan perkolasi, sedangkan cara panas terbagi menjadi empat jenis yaitu refluks, sokhlet, digesti, infus, dan dekok (Depkes RI, 2000).

Maserasi salah satu teknik yang digunakan untuk menarik atau mengambil senyawa yang diinginkan dari suatu larutan atau padatan dengan teknik perendaman terhadap bahan yang akan diekstraksi. Sampel yang telah dihaluskan direndam dalam suatu pelarut organik selama beberapa waktu (Ibrahim dan Marham, 2013). Rendaman disimpan agar terlindung dari sinar matahari langsung hal ini bertujuan untuk mencegah reaksi yang dihidrolisis oleh cahaya atau perubahan warna. Waktu perendaman berbeda-beda biasanya berkisar antara 4-10 hari. Hasil ekstraksi juga dipengaruhi oleh perbandingan sampel dengan pelarut. Semakin besar perbandingan antara sampel dengan pelarut semakin besar hasil yang diperoleh (Khopkar, 2003).

Koirewoa (2012) menyatakan, proses ini sangat menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam karena selain murah dan mudah dilakukan, dengan perendaman sampel tumbuhan akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara didalam dan diluar sel, sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik dan ekstraksi senyawa akan sempurna karena dapat diatur lama perendaman yang dilakukan. Pelarut yang mengalir ke dalam sel dapat menyebabkan protoplasma membengkak dan bahan kandungan sel akanlarut sesuai dengan kelarutannya. Pemilihan pelarut untuk proses maserasi akan memberikan efektivitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam dalam pelarut tersebut. Sedangkan, kerugiannya yakni cara pengerjaannya lama, membutuhkan pelarut yang banyak dan penyarian kurang sempurna. Serbuk halus atau kasar dari tumbuhan obat yang kontak dengan pelarut disimpan dalam wadah tertutup untuk periode tertentu dengan pengadukan yang sering, sampai zat tertentu dapat terlarut.

Metode ini cocok digunakan untuk senyawa yang termolabil (Tiwari *et al.*, 2011). Kekurangan ekstraksi maserasi ini adalah waktu pengerjaan yang lama dan ekstraksi kurang sempurna (Ahmad, 2006).

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai terjadi penyarian sempurna yang umumnya dilakukan pada temperature kamar. Prinsip perkolasi adalah dengan menempatkan serbuk simplisia pada suatu bejana silinder, yang bagian bawahnya diberi sekat berpori. Proses perkolasi terdiri dari tahap pengembangan bahan, tahap perendaman, tahap perkolasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penampungan ekstrak) secara terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat). Penentuan akhir dapat dilakukan pemeriksaan zat secara kualitatif pada perkolat akhir. Prosedur tersebut paling sering digunakan untuk mengekstrak bahan aktif dalam penyusunan *tincture* dan ekstrak cairan (Tiwari *et al.*, 2011).

Sokhletasi adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru, dengan menggunakan alat sokhlet sehingga terjadi ekstraksi kontinyu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Biomasa ditempatkan dalam wadah soklet yang dibuat dengan kertas saring, melalui alat ini pelarut akan terus direfluks. Alat sokhlet akan mengkosongkan isinya ke dalam labu dasar bulat setelah pelarut mencapai kadar tertentu. Ekstraksi berlangsung sangat efisien dan senyawa dari biomasa secara efektif ditarik ke dalam pelarut karena konsentrasi awalnya rendah dalam pelarut (Ditjen POM, 2000).

Refluks adalah ekstraksi dengan menggunakan pelarut pada temperature titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relative konstan dengan adanya pendingin balik. Pengulangan proses umumnya dilakukan pada residu pertama sampai 3-5 kali sehingga dapat termasuk proses ekstraksi sempurna (Ditjen POM, 2000). Infusa adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperature 90°C selama 15 menit. Bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperature yang di gunakan (96-98°C) selama waktu tertentu (15-20 menit) (Ditjen POM, 2000).

Dekok adalah infus menggunakan waktu yang lebih lama dan temperature sampai titik didih air (Ditjen POM, 2000). Dekok dilakukan dengan ekstraksi

menggunakan pelarut air pada temperature 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). Digesti adalah maserasi kinetik pada temperture lebih tinggi dari temperture suhu kamar, yaitu secara umum dilakukan pada temperature 40-50°C (Ditjen POM, 2000). Digesti adalah maserasi dengan pengadukan kontinyu pada temperature lebih tinggi dari temperatur ruang (umunya 25-30°C) (Tiwari *et al.*, 2011).

2.4.1 Macam-Macam Cairan Penarik

Pelarut merupakan zat yang digunakan sebagai media untuk melarutkan zat lain. Kesuksesan penentuan senyawa biologis aktif dari bahan tumbuhan sangat tergnatung 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. Pemilihan pelarut tergantung pada senyawa yang ditargetkan. Faktor yang mempengaruhi pemilihan pelarut adalah jumlah senyawa yang akan diekstraksi, laju ekstraksi, keragaman senyawa yang akan diekstraksi, kemudahan dalam penggunaan ekstrak untuk perlakuan berikutnya, toksisitas pelarut, potensial bahaya kesehatan dari pelarut (Tiwari *et al.*, 2011).

Air termasuk pelarut yang murah dan mudah digunakan dengan pemakaian yang luas. Air dengan suhu kamar adalah pelarut yang baik untuk berbagai zat, misalnya garam alkaloid, glukosida, sakarida, asam tumbuh-tumbuhan, zat warna, dan garam-garam mineral. Air hangat atau mendidih mempercepat dan memperbanyak kelarutan zat, kecuali condurangin, kalsium hidrat, dan garam-glauber, karena kemungkinan zat-zat yang tertarik akan mengendap (sebagian) jika cairan itu sudah mendingin (suhu kamar). Keuntungan penarikan dengan air bahwa jenis-jenis gula, gom, asam tumbuh-tumbuhan, garam mieral, dan zat-zat warna akan tertarik atau melarut lebih dahulu dan larutan yang terjadi ini dapat melarutkan zat-zat lain dengan lebih baik daripada hanya air saja, misalnya damar-damar pada penarikan *cascara cortex*, atau sejumlah alkaloid pada penarikan dengan air. Air memiliki kekurangan sebagai pelarut, yaitu karena air

dapat menarik banyak zat namun banyak diantara zat tersebut yang merupakan media yang baik untuk pertumbuhan jamur dan bakteri sehingga simplisia mengembang sedemikian rupa dan mempersulit penarikan pada perkolasi. Penarikan beberapa zat tertentu, air diasamkan sedikit dengan HCl, asam cuka, atau asam tartrat, atau dibasakan dengan sedikit amonia untuk mempermudah penarikan zat-zat seperti campuran air-etanol-asam pada penarikan *Scale*, air-asam pada penarikan *Chinae*, atau air yang basa pada penarikan *Cascara* (Syamsuni, 2007).

Etanol hanya dapat melarutkan zat-zat tertentu, tidak sebanyak air dalam melarutkan berbagai jenis zat dan cocok digunakan pada sediaan galenik yang mengandung zat berkhasiat tertentu. Etanol adalah pelarut yang baik untuk alkaloid, glikosida, 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 disamping sebagai cairan penyari, juga berguna sebagai pengawet. Campuran air etanol, yaitu hidroalkoholik menstrum lebih baik daripada air saja. Zat berkhasiat memiliki beberapa kelarutan yang hampir sama baiknya dalam air etanol dan dalam *spiritus fort* sehingga biaya produksi dengan air-etanol akan lebih murah. Kadar alkohol dalam cairan hidroalkoholik menstrum tergantung pada sifat zat yang akan ditarik biasanya karena beberapa hal, kadarnya lebih kecil dari 3% (Syamsuni, 2007).

Glycerinum digunakan sebagai cairan tambahan pada cairan hidroalkoholik untuk penarikan simplisia yang mengandung zat-zat samak. Gliserin adalah pelarut yang baik untuk tanin dan 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).

Eter mempunyai kelarutan yang baik pada senyawa alkaloid basa, lemak-lemak, damar dan minyak-minyak atsiri, karena eter bersifat sangat atsiri, maka disamping mempunyai efek farmakologi, cairan ini kurang tepat digunakan

sebagai menstrum sediaan galenik cair, baik untuk pemakaian dalam maupun untuk sediaan yang nantinya disimpan lama. Eter yang dipakai sebaiknya dicampur dengan etanol misalnya *Extractum cubebarum* (Syamsuni, 2007).

Cairan solvent hexane adalah salah satu hasil dari penyulingan minyak tanah kasar dan pelarut yang baik untuk lemak-lemak dan minyak-minyak. Penggunaan hanya untuk mengawellemakkan simplisia yang mengandung lemak-lemak yang tidak diperlukan sebelum simplisia dibuat sediaan galeniknya, misalnya *Stychnin*, *Secale*. Aseton tidak dipergunakan untuk sediaan galenik obat dalam. Aseton merupakan pelarut yang baik untuk berbagai lemak, minyak atsiri, dan damar. Baunya kurang enak dan sukar hilang dari sediaan. Pemakaian aseton misalnya pada pembuatan *Capsicum oleoresina* (Syamsuni, 2007).

2.5 Sediaan Gel

Gel atau jeli adalah sistem setengah padat terdiri dari suspensi yang tersusun atas partikel anorganik kecil atau molekul organik besar yang mengalami interpenetrasi oleh cairan. Gel memiliki penampilan jernih, sebagian lagi keruh. Gel bersifat mudah larut dalam air, tercuci air, mengabsorpsi air dan tidak berminyak. Gel secara umum dibagi menjadi dua macam yaitu sistem satu fasa terdiri dari molekul organik besar atau makromolekul yang terdistribusi seragam diseluruh cairan sehingga tidak terdapat batas yang nyata antara bahan terdispersi dengan cairan contoh gel karboksimetil selulose, carbomer, tragakan. Sistem dua fasa yaitu massa gel terdiri dari jaringan partikel kecil, apabila fasa yang terdispersi besar maka gel di sebut sebagai magma, seperti bentonit magma, aluminium hidrosida gel. Konsentrasi gel umumnya kurang dari 10%, biasanya dalam rentang 0,5% hingga 2,0% (Hendriati, 2013).

Gel yang baik harus memenuhi persyaratan yaitu bahan obat dan dasar gel harus mudah larut atau terdispersi dalam air atau pelarut yang cocok atau menjamin homogenitas sehingga pembagian dosis sesuai dengan tujuan terapi yang diharapkan dan bahan dasar yang cocok dengan zat aktif serta bila ditinjau dari sifat fisika kimia bahan dasar yang digunakan, bahan obat harus cocok sehingga dapat memberikan efek terapi yang diinginkan, konsistensi gel

menghasilkan aliran pseudoplastis tiksotropik karena sifat aliran ini sangat penting pada sediaan sehingga sediaan akan mudah dioleskan pada kulit tanpa penekanan yang berarti dan mudah dikeluarkan dari wadah misalnya tube, gel harus stabil dari pengaruh lembab dan suhu selama penggunaan dan penyimpanan (Lieberman *et al.*, 1996 dan Martin *et al.*, 2012).

Kelebihan gel adalah untuk hidrogel efek pendinginan pada kulit saat digunakan, penampilan sediaan yang jernih dan elegan, pemakaian dikulit setelah kering meninggalkan film tembus pandang, elastis, daya lekat tinggi yang tidak menyumbat pori sehingga pernapasan pori tidak terganggu, mudah dicuci dengan air, pelepasan obatnya baik, kemampuan penyebarannya pada kulit baik. Kekurangan gel adalah sediaan untuk hidrogel harus menggunakan zat aktif yang larut didalam air sehingga dapat diperlukan penggunaan peningkat kelarutan seperti surfaktan agar gel tetap jernih pada berbagai perubahan temperatur tetapi gel tersebut sangat mudah dicuci atau hilang ketika berkeringat, kandungan surfaktan yang tinggi dapat menyebabkan iritasi dan harga lebih mahal, penggunaan emolien golongan ester harus diminimalkan atau dihilangkan untuk mencapai kejernihan yang tinggi, hidroalkoholik gel dengan kandungan alkohol yang tinggi dapat menyebabkan pedih pada wajah dan mata, penampilan yang buruk pada kulit bila terkena pemaparan cahaya matahari, alkohol akan menguap dengan cepat dan meninggalkan film yang berpori atau pecah-pecah sehingga tidak semua area tertutupi atau kontak dengan zat aktif (Lachman *et al.*, 1989).

2.5.1 Komposisi Gel

Kandungan dalam gel berupa larutan bahan aktif tunggal atau campuran dengan pembawa yang bersifat hidrofilik maupun hidrofobik. Basis dari gel merupakan senyawa hidrofilik sehingga memiliki konsistensi lembut. Pada basis gel terdapat kandungan air yang memiliki efek penguapan yang dapat memberikan sensasi dingin saat diaplikasikan pada kulit. Sediaan gel hidrofilik memiliki sifat daya sebar yang baik pada permukaan kulit. Bahan-bahan penyusun atau formulasi gel terdiri dari *gelling agent*, *humektan*, pengawet, dan pelarut (Wulandari, 2010).

Gelling agent. *Gelling agent* yang sering digunakan adalah *carboximethyl cellulose*, yang dikenal sebagai CMC-Na. CMC-Na berbentuk seperti granul putih, tidak berbau, tidak berasa, dan bersifat higroskopis. Tidak dapat larut dalam aseton, etanol 95%, eter dan toluene, tetapi mudah terdispersi dalam air pada segala temperature (Rowe *et al.*, 2009). *Gelling agent* mempunyai fungsi utama untuk menjaga konsistensi cairan dan padatan dalam suatu bentuk gel. *Gelling agent* harus inert, aman dan tidak reaktif terhadap komponen yang lainnya. Peningkatan jumlah *gelling agent* dalam suatu formula gel akan meningkatkan kekuatan dari jaringan struktur gel sehingga terjadi kekuatan viskositas. *Gelling agent* yang sering digunakan sebagai basis dalam formula adalah gum alami, gum sintesis, resin, selulosa, dan hidrokoloidal lain seperti carbopol *gelling agent* dalam berbagai jenis memiliki efek yang berbeda dalam memberikan pengaruh terhadap formula gel. Konsentrasi *gelling agent* yang besar dalam formula menentukan karakteristik sediaan gel seperti kekuatan dan elastisitas (Zats dan Kushla, 1996).

Penggunaan *gelling agent* dengan konsentrasi yang terlalu tinggi atau penggunaan *gelling agent* dengan bobot molekul yang terlalu besar akan menghasilkan sediaan gel yang sulit diaplikasikan pada kulit karena viskositas gel yang dihasilkan akan terlalu tinggi sehingga akan sulit menyebar secara merata pada saat diaplikasikan (Zats dan Kushla, 1996). Gel dari polisakarida alam akan mudah mengalami degradasi mikroba sehingga diformulasikan dengan pengawet untuk mencegah hilangnya karakteristik gel akibat mikrobia (Zats dan Kushla, 1996). CMC-Na digunakan pada konsentrasi 3-6% untuk menghasilkan sediaan gel. Keuntungan penggunaan CMC-Na sebagai basis gel diantaranya adalah memberikan viskositas stabil pada sediaan, mempunyai kemampuan sebagai zat pengemulsi hidrofilik yang mampu mengikat air, sehingga tidak terjadi enadapan, serta CMC-Na merupakan bahan penstabil yang memilki daya ikat yang kuat dan berperan untuk meningkatkan kekentalan produk (Rowe *et al.*, 2009).

Gliserin. Gliserin berupa cairan jernih, kental, tidak berbau dan bersifat higroskopis. Gliserin dapat digunakan untuk sediaan farmasi termasuk sediaan topikal. Gliserin dalam formulasi farmasetika terutama untuk kosmetik digunakan

sebagai humektan, emmolient, juga sebagai bahan tambahan pada aqueous maupun non aqueous gel. Konsentrasi gliserin sebagai humektan ≤ 30 %. Sediaan gel, apabila hanya digunakan gliserin sebagai humektan, dikhawatirkan gel yang dihasilkan terlalu kental. Kombinasi humektan dan gliserin dalam penelitian ini agar gel yang dihasilkan baik, yaitu tidak terlalu kental dan tidak terlalu encer (Rowe *et al.*, 2009). Propilenglikol banyak digunakan sebagai humektan dengan konsentrasi umum yang digunakan adalah 15%. Propilenglikol merupakan cairan jernih, tidak berwarna, kental, praktis tidak berbau, rasa manis, dan higroskopis. Zat ini larut dalam aseton, kloroform, air, gliserin, eter dan etanol namun tidak larut dalam minyak mineral. Propilenglikol juga digunakan sebagai *stabilisizer*, *cosolven*, *plasticizer* dan pelarut yang lebih baik dibandingkan dengan gliserin (Rowe *et al.*, 2006).

Humektan dapat meningkatkan kelembapan kulit dan menjaga agar kulit tidak mengalami hidrasi. Sediaan dengan kandungan air yang tinggi berpotensi mengikat dan menyerap air dari permukaan kulit untuk menggantikan air dari sediaan yang telah menguap, menyebabkan kulit menjadi kering. Penggunaan gel dalam jangka waktu yang lama dapat menyebabkan permukaan kulit menjadi kering, untuk menjaga kelembapan kulit pada formula gel sering ditambahkan humektan. Humektan ditambahkan untuk mencegah sediaan menjadi kering dan kehilangan kandungan air dalam jumlah besar. Lapisan humektan yang tipis akan terbentuk untuk mempertahankan kelembapan dan mencegah kulit kering (Mukul *et al.*, 2011). Cara kerja humektan dalam menjaga kestabilan sediaan gel adalah dengan mengabsorpsi lembab dari lingkungan, selain itu dapat mempertahankan kadar air pada permukaan kulit. Humektan yang sering digunakan pada sediaan gel adalah gliserin dan propilenglikol (Mukul *et al.*, 2011).

Metil Paraben. Nama kimia dari metil paraben adalah *methyl-4-hydroxy benzoate*. Metil paraben berbentuk kristal, tidak berbau, memiliki rasa sedikit terbakar dan berwarna putih. Metil paraben larut dalam air panas 80°C, eter, metanol dan etanol 95%. Metil paraben ditambahkan bertujuan mencegah pertumbuhan mikroba pada sediaan karena kandungan air yang sangat banyak merupakan media pertumbuhan mikroba yang baik (Barel *et al.*, 2009). Formulasi

dengan hidrogel harus menggunakan pengawet untuk mencegah pertumbuhan mikroba. Penggunaan metil paraben dapat dalam sediaan topikal adalah 0,02-0,3 % (Rowe *et al.*, 2009).

Aquadestilata. *Aquadestilata* merupakan cairan jernih, tidak berbau, tidak berwarna, tidak memiliki rasa dan memiliki pH 5-7. Rumus kimia dari *aquadestilata* adalah H₂O dengan berat molekul sebesar 18,02 $\frac{\text{gram}}{\text{mol}}$. *Aquadestilata* dibuat dengan menyuling air yang memenuhi persyaratan dan tidak mengandung zat tambahan lain. Fungsi dari *aquadestilata* adalah sebagai pelarut (Dirjen POM RI, 1995).

2.6 Pengertian Bakteri

Bakteri merupakan organisme uniseluler yang relatif sederhana karena materi genetiknya tidak diselimuti oleh selaput membran inti. Bakteri memiliki bentuk dan ukuran yang beragam. Sel bakteri umumnya memiliki diameter 0,2-2 μm dan panjang 2-8 μm (Radji, 2009). Morfologi bakteri terdiri dari tiga bentuk, yaitu sferis (kokus), batang (basil), dan spiral. Bakteri memiliki ukuran yang bervariasi tetapi pada umumnya berdiameter sekitar 0,5-1,0 μm (Pelczar dan Chan, 2008).

2.6.1 Penggolongan Bakteri

Bakteri terdapat dua macam golongan yaitu bakteri gram positif dan gram negatif. Gram positif memiliki peptidoglikan setebal 20-80 nm dengan komposisi tersebar teichoic, asam teichuroni dan berbagai macam polisakarida. Asam teichoat berfungsi sebagai antigen permukaan pada gram positif. Letaknya berada antara lapisan membran sitoplasma dan lapisan peptidoglikan. Memiliki 40 lembar peptidoglikan pada dinding selnya yang merupakan 50% dari seluruh komponen penyusun dinding sel. Polisakarida dan asam amino pada lembar peptidoglikan bersifat sangat polar, sehingga pada bakteri gram positif yang memiliki dinding sel yang sangat tebal, dapat bertahan dari aktivitas cairan empedu didalam usus. Lembar peptidoglikan rentan terhadap lisozim sehingga dapat dirusak oleh senyawa bakterisidal (Hanif, 2009).

Bakteri gram negatif hanya memiliki lapisan peptidoglikan yang tipis (5 – 10nm)³ dengan komposisi utama yaitu lipoprotein, membran luar dan lipopolisakarida. Membran luar pada gram negatif juga memiliki sifat hidrofilik, namun komponen lipid pada dinding selnya justru memberikan sifat hidrofobik. Selain itu, terdapat saluran terbuat dari protein yang disebut porins yang berfungsi sebagai tempat masuknya komponen hidrofilik seperti gula dan asam amino yang penting untuk kebutuhan nutrisi bakteri (Hanif, 2009).

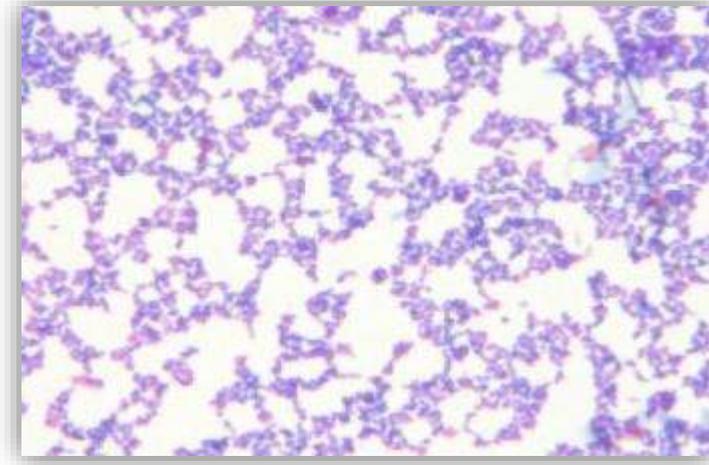
2.7 *Staphylococcus aureus*

Bakteri hidup sebagai flora normal pada kulit manusia, sebagian besar adalah bakteri gram positif. *Staphylococcus aureus* adalah jenis bakteri patogen yang dapat menimbulkan infeksi dan kelainan pada kulit. Kelainan kulit yang disebabkan oleh infeksi bakteri *Staphylococcus aureus* antara lain infeksi pada folikel rambut, kelenjar keringat, bisul, dan infeksi pada luka (Entjang, 2003).

2.7.1 Klasifikasi *Staphylococcus aureus*

Klasifikasi *Staphylococcus aureus* menurut (Brooks *et al.*, 2005) sebagai berikut:

Divisio	: Protophyta
Subdivisio	: Schizomycetea
Classis	: Schizomycetes
Ordo	: Eubacteriales
Familia	: Micrococcaceae
Genus	: <i>Staphylococcus</i>
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i>



Gambar 2.2 Bakteri *Staphylococcus aureus* (Jawetz et al., 2008)

2.7.2 Morfologi *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus merupakan golongan bakteri gram positif termasuk dalam famili *Micrococcaceae*, koloni mikroskopik cenderung berbentuk menyerupai buah anggur. Menurut bahasa Yunani, *Staphyle* berarti anggur dan *coccus* berarti bulat atau bola. Pigmen menghasilkan warna kuning emas sehingga dinamakan *aureus* (berarti emas, seperti matahari). Bakteri ini dapat tumbuh dengan atau tanpa bantuan oksigen. *Staphylococcus aureus* membentuk koloni berwarna kuning pada media yang kaya nutrisi, sering kali bersifat hemolitik pada media agar yang mengandung darah. *Staphylococcus* tumbuh dengan baik dalam kaldu biasa pada suhu 37°C dengan kisaran suhu pertumbuhan adalah 15-40°C dan suhu optimum adalah 35°C. *Staphylococcus aureus* bersifat anaerob fakultatif dan menghasilkan enzim katalase, dapat tumbuh dalam larutan NaCl 15%, menghasilkan enzim koagulase serta bersifat patogen pada manusia. *Staphylococcus aureus* ditemukan di hidung 6,6 % bayi berusia 1 hari, 50% bayi berusia 2 hari, 62% bayi berusia 3 hari, dan 88% bayi berusia 4-8 hari. *Staphylococcus aureus* termasuk bakteri yang memiliki daya tahan yang paling kuat. *Staphylococcus aureus* pada agar miring dapat tetap hidup berbulan-bulan, baik dalam lemari es maupun pada suhu kamar. Bakteri ini dapat tetap hidup selama 6-14 minggu dalam keadaan kering pada benang, kertas, kain, dan dalam nanah (Radji, 2013).

Staphylococcus aureus merupakan parasit manusia yang dapat ditemukan dimana-mana. Sumber utama infeksi adalah lesi terbuka, barang-barang yang terkontaminasi lesi tersebut, saluran napas dan kulit manusia. *Staphylococcus aureus* meningkat tajam pada lingkungan rumah sakit terutama pada kamar perawatan bayi yang baru lahir, unit perawatan intensif, kamar bedah, dan bagian kemoterapi kanker. *Staphylococcus aureus* patogen “epidemik” masuk secara luas ke daerah-daerah ini dan mengakibatkan banyak penyakit klinis yang berbahaya. *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan beberapa macam penyakit misalnya furunkel, karbunkel, impetigo, SSSS (*Staphylococcal Scalded Skin Syndrome*), pneumonia, osteomielitis, bakteremia, endokarditis, infeksi metastatik, keracunan makanan, dan shock toxic syndrome (Jawetz *et al.*, 2008).

2.8 Antibakteri

Antibakteri merupakan bahan atau senyawa yang dapat membasmi bakteri terutama bakteri pathogen. Senyawa antibakteri harus mempunyai sifat toksisitas selektif, yaitu berbahaya bagi parasit tetapi tidak berbahaya bagi inangnya (Xia, Deng, Guo dan Li, 2010). Antibakteri ada yang mempunyai spektrum luas, artinya antibakteri yang efektif digunakan bagi banyak spesies bakteri, baik kokus, basil maupun spiril. Antibakteri yang mempunyai spectrum sempit, artinya hanya efektif digunakan pada spesies tertentu saja (Waluyo, 2004). Berdasarkan cara kerjanya terhadap bakteri, antibakteri dapat digolongkan menjadi dua, yaitu

Bakterisidal, efek ini membunuh sel bakteri tetapi tidak menyebabkan sel lisis atau pecah. Penambahan antimikrobia pada kultur mikrobial yang masih berada pada fase logaritmik, didapatkan bahwa jumlah sel total tetap, namun jumlah sel hidup berkurang. Bakteriostatik, efek ini dapat menghambat pertumbuhan bakteri namun tidak membunuhnya, efek ini menghambat sintesis protein atau mengikat ribosom. Penambahan antimikrobia pada kultur mikrobial yang masih berada pada fase logaritmik, didapatkan bahwa jumlah sel total maupun jumlah sel hidup masih tetap (Dzen dan Sjoekor, 2003).

2.8.1 Mekanisme Kerja Zat Antibakteri

Penghambatan terhadap sintesis dinding sel. Bakteri mempunyai lapisan luar yang kaku yaitu dinding sel, yang melindungi secara lengkap sitoplasma membran sel. Dinding ini mempertahankan bentuk mikroorganisme dan melindungi sel bakteri dari perbedaan tekanan osmotik didalam dan diluar sel yang tinggi. Dinding sel bakteri terdiri dari peptidoglikan dan komponen yang lain. Sel yang aktif secara konstan akan mensintesis peptidoglikan yang baru dan menempatkannya pada posisi yang tepat pada amplop sel. Antibakteri bereaksi dengan satu atau banyak enzim yang dibutuhkan pada proses sintesis, sehingga akan menyebabkan pembentukan dinding sel yang lemah dan akan menyebabkan pemecahan osmotik, sehingga bakteri akan mati (Jawetz *et al.*, 2005).

Penghambatan terhadap fungsi membran sel. Sitoplasma semua sel hidup dibatasi oleh membran sitoplasma yang berperan sebagai barrier permeabilitas selektif membawa fungsi transpor aktif dan kemudian mengontrol komposisi internal sel. Antibakteri akan berikatan dengan membran fosfolipid yang menyebabkan pemecahan protein dan basa nitrogen sehingga membran bakteri akan pecah yang menyebabkan kematian bakteri (Jawetz *et al.*, 2005).

Penghambatan terhadap sintesis protein (penghambatan translasi dan transkripsi material genetik). Kebanyakan obat menghambat translasi atau sintesis protein, bereaksi dengan ribosom-mRNA. Manusia walaupun mempunyai ribosom, tetapi ribosom eukariotik berbeda dalam ukuran dan struktur dari prokariotik, sehingga menyebabkan aksi yang selektif terhadap bakteri, bakteri mempunyai 70S ribosom, sedangkan sel mamalia mempunyai 80S ribosom. Subunit masing-masing tipe ribosom, komposisi kimianya, dan spesifikasi fungsinya berbeda, hal ini bisa menjelaskan bahwa antibakteri dapat menghambat sintesis protein dalam ribosom bakteri tanpa berpengaruh pada ribosom mamalia (Jawetz *et al.*, 2005).

Penghambatan terhadap sintesis asam nukleat. Pembentukan DNA dan RNA bakteri merupakan perjalanan yang panjang dan membutuhkan enzim di beberapa proses. Penghambatan proses pembentukan dapat terjadi pada tempat-tempat tertentu. Antibakteri menginterferensi sintesis asam nukleat dengan

menghambat sintesis nukleotida, menghambat replikasi, atau menghentikan transkripsi. Pembentukan DNA dan RNA sangat penting dan berefek dalam metabolisme protein, obat akan berikatan sangat kuat pada enzim *DNA Dependent RNA polymerase* bakteri sehingga ini menghambat sintesis RNA bakteri (Jawetz *et al.*, 2005).

2.9 Uji Aktivitas Bakteri

Daya suatu senyawa antibakteri diukur secara *in vitro* agar dapat ditentukan kemampuan aktivitas antibakteri dari senyawa antibakteri tersebut (Jawetz *et al.*, 1996). Penentuan aktivitas antimikroba dapat dilakukan dengan dua metode, yaitu metode difusi dan dilusi (Brooks *et al.*, 2007). Metode difusi terdiri dari metode *disc diffusion* (tes Kirby & Baur), *E-test*, *ditch-plate technique*, dan *Cup – plate technique*. Metode dilusi terdiri dari metode dilusi cair dan dilusi padat (Pratiwi, 2008).

2.9.1 Metode Difusi

Metode difusi yang diamati adalah diameter daerah hambatan pertumbuhan bakteri karena difusinya obat pada titik awal pemberian ke daerah difusi. Metode ini dilakukan dengan cara menanam bakteri pada media agar padat tertentu kemudian diletakkan kertas samir atau *disc* yang mengandung obat dan dilihat hasilnya. Diameter zona jernih inhibisi disekitar cakram diukur sebagai kekuatan inhibisi obat melawan bakteri yang diuji (Brooks *et al.*, 2007).

Metode *disc diffusion*. Piringan yang berisi agen antibakteri kemudian diletakkan pada media agar yang sebelumnya telah ditanami bakteri sehingga agen antibakteri dapat berdifusi pada media agar tersebut. Area jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan bakteri oleh agen antibakteri pada permukaan media agar (Pelczar dan Chan, 2008).

Metode *E-test*. Metode ini digunakan untuk mengestimasi Kadar Hambat Minimum (KHM), yaitu konsentrasi minimal suatu agen antibakteri untuk dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Metode ini digunakan strip plastik yang mengandung agen antibakteri dari kadar terendah sampai tertinggi dan diletakkan

pada permukaan media agar yang telah ditanami bakteri sebelumnya (Pratiwi, 2008).

Ditch-plate technique. Metode 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 bakteri uji (maksimum 6 macam) digoreskan ke arah parit yang berisi agen antibakteri tersebut (Prayoga, 2013). *Cup-plate technique* metode ini sama dengan *disc diffusion* dimana dibuat sumur pada media agar yang telah ditanami dengan mikroorganisme dan pada sumur tersebut diberi agen antibakteri yang akan diuji (Pratiwi, 2008).

2.9.2 Metode Dilusi

Metode dilusi menggunakan prinsip pengenceran antibakteri sehingga diperoleh beberapa konsentrasi obat yang ditambah suspensi bakteri dalam media. Metode ini yang diamati adalah ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri, jika diamati ada tingkat kesuburan dari pertumbuhan bakteri dengan cara menghitung jumlah koloni (Pratiwi, 2008). Tujuannya untuk mengetahui seberapa banyak jumlah zat antibakteri yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan atau mematikan bakteri yang diuji (Brooks *et al.*, 2007).

Metode dilusi cair (*Broth Dilution Test*). Metode ini untuk mengukur Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM). Prosedur kerja dilakukan dengan membuat seri pengenceran agen antibakteri pada medium cair yang ditambahkan dengan bakteri uji. Larutan uji agen antibakteri pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan bakteri uji ditetapkan sebagai KHM. Larutan yang ditetapkan sebagai KHM tersebut selanjutnya dikultur ulang pada media cair tanpa penambahan bakteri uji ataupun agen antibakteri, dan diinkubasi selama 18–24 jam. Media cair yang tetap terlihat jernih setelah diinkubasi ditetapkan sebagai KBM (Prayoga, 2013).

Metode dilusi padat (*Solid Dilution Test*). Metode ini sama dengan metode dilusi cair namun menggunakan media padat. Metode dilusi padat pada tiap konsentrasi obat dicampurkan dengan media agar lalu ditanami bakteri dan diinkubasi. Keuntungan metode ini adalah satu konsentrasi agen antibakteri yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa bakteri uji (Pratiwi, 2008).

Tabel II.1 Respon Hambatan Pertumbuhan Bakteri (Susanto *et al.*, 2012)

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

Tabel diatas menyatakan bahwa apabila diameter zona hambat lebih besar dari 20 mm maka respon hambatan pertumbuhannya sangat kuat sedangkan respon hambatan pertumbuhan dinyatakan lemah jika diameter zona hambat < 5 mm.

2.10 Zat Pembanding

Antibakteri yang digunakan sebagai pembanding adalah Clindamycin gel, karena Clindamycin efektif melawan bakteri kokus Gram positif, seperti golongan *Staphylococcus* yang resisten terhadap penisilin. Clindamycin gel digunakan untuk mengobati beberapa jenis infeksi yang disebabkan oleh bakteri, termasuk pada kulit. Clindamycin adalah turunan dari *lincomycin* semisintetik dan diklasifikasikan sebagai antibiotik lincosamide. Clindamycin beraktivitas dengan mengikat ribosom 50S yang menghambat sintesis protein mikroba pada insiasi rantai peptida (Brunton *et al.*, 2008). Karakteristik Clindamycin yang digunakan sebagai antibakteri pembanding adalah sebagai berikut (Tiran *et al.*, 2014) :

- a. Nama Lain : L-treo- α -D-galakto-oktapiranosida, metil-7-klor 6,7,8 trideoksi-[[1- metil-4 propil-2-pirolidinil) karbonil] amino}-1-tio, (2S-trans); monohidriklorida
- b. Rumus Kimia : $C_{18}H_{33}ClN_2O_5S \cdot HCl$
- c. Pemerian : Serbuk hablur, putih, tidak berbau
- d. Kelarutan : Mudah larut dalam air, dalam dimetilformamida P dan dalam metanol, larut dalam etanol (95%) P, praktis tidak larut dalam aseton P

- e. Aktivitas Antibakteri : Aktif terhadap *Staphylococcus aureus*, *Diplococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyrogenes*, *Streptococcus anaerobi*, *Streptococcus viridans*, *Actinomyces israeli*, *Bacteroides fragilis* dan kuman anaerob lainnya.
- f. Golongan Antibakteri : Antibakteri semisintetik turunan linkomisin
- g. Mekanisme Kerja : Menghambat sintesis protein yang berikatan dengan subunit 30S ribosom bakteri, beberapa juga terkait subunit 50S ribosom dan menghambat translokasi peptidil-tRNA dari situs A ke situs P, yang menyebabkan kesalahan pembacaan mRNA. Hal ini menyebabkan bakteri tidak mampu mensintesis protein vital untuk pertumbuhannya.
- h. Indikasi : Clindamycin digunakan untuk terapi beberapa infeksi oleh bakteri anaerob, *Streptococcus sp*, *Staphylococcus sp*, *Pneumonia sp*. Clindamycin digunakan untuk infeksi fraktur tulang, infeksi kondisi anaerob (infeksi saluran genital, infeksi pelvis, penetrasi jaringan ikat pada perut pasca operasi). Clindamycin dapat dikombinasikan untuk pengobatan *pneumocystis carinii* dan *toxoplasmosis* (Brunton *et al.*, 2008).

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Bahan Penelitian

Bahan uji yang digunakan skrining fitokimia yaitu ekstrak daun melinjo, *aquadestilata*, etanol 70%, asam asetat glasial, HCl pekat, Mg, FeCl₃ 1%, H₂SO₄, kloroform, metanol, magnesium, reagen dragendroff dan reagen maayer. Bahan uji yang digunakan aktivitas antibakteri yaitu ekstrak daun melinjo, Nutrient Agar (NA), Nutrient Broth (NB), Clindamycin gel, aluminium foil, cakram uji dan bakteri *Staphylococcus aureus*. Bahan yang digunakan formulasi sediaan yaitu *aquadestilata*, CMC-Na, gliserin, propilenglikol dan metilparaben. Bahan yang digunakan uji stabilitas gel adalah fenolftalein, parafin cair dan KOH.

3.2 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan pada proses ekstraksi yaitu pisau, blender, pengayak, neraca analitik, botol gelap, beaker glass, kertas saring, corong kaca, gelas ukur, cawan porselin dan oven. Alat-alat yang digunakan dalam proses analisis fitokimia yaitu pipet tetes, gunting, cawan porselin, pipet tetes, stopwatch, penangas air, gelas ukur, dan tabung reaksi. Alat-alat yang digunakan dalam uji antibakteri yaitu cawan petri, pipet mikro, tabung reaksi, kertas saring, kapas, jarum ose, autoklaf, bunsen, inkubator, pinset, tissue, aluminium foil dan penggaris. Alat-alat yang digunakan untuk formulasi gel yaitu timbangan analitik, beaker glass, penangas air, gelas ukur, batang pengaduk, stamper dan mortir, kertas perkamen, sendok tanduk, kertas pH universal, alat uji homogenitas, alat uji daya lekat, daya sebar, dan pot salep.

3.3 Populasi Penelitian

Populasi penelitian merupakan keseluruhan obyek penelitian dengan batasan dan karakteristik yang jelas. Populasi dalam penelitian ini yaitu daun melinjo (*Gnetii gnemonii Folium*) yang didapat dari Kediri Jawa Timur.

3.4 Sampel Penelitian

Sampel penelitian merupakan sebagian yang diambil dari keseluruhan obyek yang diteliti. Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun melinjo (*Gnetii gnemonii Folium*) diambil pada bulan November dan Desember dari ujung dan kedua dari pangkal sebanyak 5 kg, diperoleh dari pekarangan warga Desa Turus Kecamatan Gampengrejo Kabupaten Kediri, Jawa Timur.

3.5 Variabel Penelitian

Variabel penelitian adalah poin-poin yang akan menjadi karakteristik suatu penelitian (Sani, 2016).

3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas merupakan variabel yang mempengaruhi atau yang menjadi sebab perubahan atau timbulnya variabel terikat (Noor, 2017). Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak daun melinjo (*Gnetii gnemonii Folium*) dalam berbagai tingkat konsentrasi. Konsentrasi ekstrak daun melinjo yaitu 50%, 60%, 70% dan 80%.

3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat adalah faktor yang diamati dan diukur untuk menentukan ada tidaknya pengaruh dari variabel bebas (Alfianika, 2016). Variabel terikat dalam penelitian ini adalah aktivitas bakteri *Staphylococcus aureus*.

3.5.3 Variabel Kontrol

Variabel kontrol adalah variabel yang memiliki pengaruh memperkuat atau memperlemah hubungan variabel bebas dengan variabel terikat (Noor, 2017). Variabel kontrol pada penelitian ini adalah jenis tanaman, pelarut, jenis bakteri dan tempat media tumbuh.

3.6 Metode Penelitian

Rencana dan strategi penelitian yang disusun sedemikian rupa agar dapat memperoleh jawaban mengenai permasalahan penelitian dan meminimalkan penyimpangan-penyimpangan hasil dalam penelitian.

3.6.1 Determinasi Daun Melinjo

Determinasi dilakukan dengan mencocokkan ciri-ciri morfologi tanaman yang ada pada tanaman daun melinjo dengan mencocokkan ciri-ciri morfologi yang ada pada daun melinjo tersebut terhadap kepustakaan. Pada penelitian ini determinasi dilakukan di UPT MATERIA MEDICA Kota Batu.

3.6.2 Pembuatan Simplisia

Daun melinjo yang diperoleh dicuci terlebih dahulu dengan air bersih untuk menghilangkan kotoran yang menempel kemudian dirajang. Daun dikeringkan dengan diangin-anginkan selama satu minggu dibawah sinar matahari bertujuan untuk mengurangi kadar air pada bahan agar proses enzimatis dalam sampel dapat berhenti dan menghindari kemungkinan sampel menjadi media pertumbuhan mikroba. Simplisia yang sudah kering dihaluskan dengan blender lalu diayak dengan ayakan nomor mesh 60 (Sapri, 2014).

Pengcilan ukuran bahan ini akan memperbesar luas permukaan yang akan berinteraksi dengan penyari. Semakin luas permukaan bahan yang berinteraksi dengan cairan penyari akan meningkatkan efektivitas penyarian, konstituen akan tersari lebih optimal dibandingkan simplisia yang tidak dihaluskan. Namun disini perlu diperhatikan agar ukuran bahan setelah dihaluskan tidak terlalu halus. Partikel yang terlalu halus akan menyebabkan beberapa permasalahan pada ekstraksinya. Partikel yang terlalu halus dapat mengapung jika ditambahkan cairan penyari, sehingga ekstraksi yang dilakukan kurang efektif, bahan-bahan tidak larut dan partikel yang terlalu halus tidak tersaring dan mengotori sari (Juliantoni dan Mufrod, 2013).

3.6.3 Uji Susut Pengerinan

Penetapan susut pengerinan merupakan salah satu persyaratan yang harus dipenuhi dalam standarisasi tanaman berkhasiat obat. Susut pengerinan dapat memberikan batasan maksimal (rentang) tentang besarnya senyawa yang hilang pada proses pengerinan (Depkes RI, 2000).

$$\text{Susut pengerinan (\%)} = \frac{\text{Bobot Basah}}{\text{Bobot Kering}} \times 100\%$$

3.6.4 Uji Kadar Air Serbuk Simplisia

Uji kadar air serbuk simplisia dilakukan dengan menimbang lebih kurang 10 g dan dimasukkan kedalam botol timbang bertutup yang sebelumnya telah ditara. Dimasukkan kedalam oven pada suhu 105⁰C selama 5 jam sehingga diperoleh bobot yang relatif tetap. Dilanjutkan pengeringan dan timbang pada jarak 1 jam sampai perbedaan antara 2 jam penimbangan berturut-turut tidak lebih dari 0,25 % (Depkes RI, 2000).

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{A-B}{A} \times 100\% \text{ (Depkes RI, 2000).}$$

Keterangan :

A= Bobot sampel sebelum dipanaskan (g)

B= Bobot sampel setelah dipanaskan (g)

3.6.5 Pembuatan Ekstrak Daun Melinjo dengan Metode Maserasi

Pembuatan ekstrak daun melinjo dibuat dengan metode maserasi. Serbuk simplisia sebanyak 500 gram dimasukkan kedalam bejana maserasi kemudian direndam dengan etanol 70% dengan perbandingan simplisia dan pelarut 1:4, lalu diaduk hingga homogen, tutup segera dan disimpan dalam ruangan yang terhindar dari cahaya matahari selama 4 hari. Selama perendaman, setiap hari dilakukan pengadukan selama 15 menit. Filtrat yang diperoleh disaring untuk memperoleh ekstrak cair lalu dipekatkan pelarutnya menggunakan oven pada suhu 60°C hingga diperoleh ekstrak kental (Praptiwi, 2010). Ekstrak kemudian dimasukkan ke dalam wadah dan ditimbang.

$$\text{Rendemen ekstrak (\%)} = \frac{\text{Beratekstrakkental}}{\text{Beratserbuksimplisia}} \times 100 \% \text{ (Hendrawan et al., 2015).}$$

3.6.6 Uji Bebas Etanol Ekstrak Daun Melinjo

Uji bebas etanol dilakukan dengan memasukkan sejumlah ekstrak kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 1 ml asam asetat glasial, dan 1 ml asam sulfat pekat. Campuran dihomogenkan dan dipanaskan, kemudian ditutup bagian atas tabung dengan kapas. Positif bebas etanol apabila tidak tercium bau ester/ buah-buahan (Depkes RI, 1995).

3.6.7 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia merupakan proses pemeriksaan awal yang digunakan untuk mendeteksi kandungan kimia suatu bahan alam. Pengujian skrining fitokimia dilakukan dengan metode perekasi warna dan dilakukan untuk mendeteksi golongan, diantaranya pemeriksaan flavonoid, tanin, saponin, alkaloid dan terpenoid (Mustikasari *et al.*, 2010).

3.6.7.1 Uji Flavanoid

Sebanyak 5 mg ekstrak dilarutkan dalam 5 ml air, didihkan selama 5 menit, lalu disaring. Filtrat yang didapat lalu di tambahkan Mg secukupnya, 1 ml asam sulfat pekat dan 2 ml etanol kemudian dikocok kuat dan dibiarkan terpisah. Terbentuknya warna merah, kuning atau jingga menunjukkan bahwa sampel positif mengandung senyawa flavonoid (Tiwari *et al.*, 2011).

3.6.7.2 Uji Tanin

Ekstrak sampel ditambah metanol sampai sampel terendam semuanya. Kemudian ditambahkan 2-3 tetes larutan FeCl₃ 1%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hitam kebiruan atau hijau (Sangi *et al.*, 2008).

3.6.7.3 Uji Saponin

Ekstrak dilarutkan dalam 10 ml air panas, lalu dibiarkan hingga dingin. Setelah dingin lalu dikocok kuat selama 10 detik secara vertikal. Terbentuknya busa yang stabil setinggi 1 cm dan jika ditambahkan HCl 1% sebanyak satu tetes busa tetap stabil menunjukkan adanya senyawa saponin (Tiwari *et al.*, 2011).

3.6.7.4 Uji Alkaloid

Ekstrak daun melinjo dimasukkan kedalam tabung reaksi kemudian ditambahkan HCl 2% sebanyak 0,5 ml. Larutan dibagi menjadi dua tabung, tabung I ditambahkan 0,5 ml reagen Dragendorff sedangkan tabung II ditambahkan 2-3 tetes reagen Mayer. Tabung I jika terbentuk endapan berwarna jingga dan pada tabung II terbentuk endapan berwarna kekuning-kuningan menunjukkan adanya alkaloid (Indrayani *et al.*, 2006).

3.6.7.5 Uji Terpenoid

Sebanyak 0,5 gram ekstrak dilarutkan dengan 2 ml kloroform dalam tabung reaksi, selanjutnya larutan ditetesi dengan H₂SO₄ pekat ± 3 tetes melalui

dinding tabung reaksi. Hasil yang diperoleh berupa cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut menunjukkan adanya terpenoid (Nugrahani, 2015).

3.6.8 Sterilisasi Alat

Sterilisasi merupakan suatu usaha untuk membebaskan atau memusnahkan alat-alat atau bahan-bahan dari segala macam bentuk kehidupan, terutama mikroorganisme (Savitri dan Sinta, 2010). Sterilisasi dilakukan dengan cara mencuci alat-alat hingga bersih kemudian dikeringkan. Alat yang sudah dicuci bersih dibungkus dengan kertas. Sterilisasi dilakukan dengan memasukkan semua alat dan bahan (aquadest) kedalam autoklaf selama 15 menit dengan temperature 121°C dengan tekanan 1 atm (Mulyadi *et al*, 2013).

3.6.9 Pembuatan Media Nutrient Broth

Serbuk NB sebanyak 0,08 g dilarutkan dalam 10 ml air suling, 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 Pembuatan Media Nutrient Agar

Media yang digunakan untuk membiakkan bakteri uji adalah media NA. Pembuatan media NA dilakukan dengan menyiapkan media Nutrient Agar (komposisi: beef extract 3 g, pepetone 5 g, agar 15 g dan air suling 1 L) sebanyak 2 gram dalam air suling sebanyak 100 ml, erlemeyer ditutup dengan aluminium foil dan dipanaskan, kemudian diaduk hingga mendidih dan disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1atm selama 15 menit (Scaad *et al.*, 2000).

3.6.11 Pembuatan Suspensi Bakteri

Biakan bakteri *Staphylococcus aureus* diambil dengan kawat ose steril, disuspensikan dalam tabung reaksi yang berisi 5 ml larutan natrium klorida 0,9% sampai didapat kekeruhan suspensi bakteri sama dengan kekeruhan larutan standard 0,5 Mc. Farland (Oonmettaaree *et al.*, 2005). Kekeruhan apabila kurang dari standar maka dapat ditambah bakteri, bila kekeruhannya melebihi standar maka dapat ditambahkan NaCl (WHO, 2006).

3.6.12 Pembuatan Larutan Uji

Ekstrak daun melinjo yang diuji untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dibuat dalam beberapa konsentrasi yaitu konsentrasi 50%, 60%, 70% dan 80% dalam 3 ml aquadest. Ekstrak dibuat dengan menimbang masing-masing sebanyak 1,5 gram, 1,8 gram, 2,1 gram dan 2,4 gram dilarutkan dalam 3 ml aquadest sehingga diperoleh larutan dengan masing-masing konsentrasi tersebut (Kusuma *et al.*, 2011).

3.6.13 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Melinjo

Penentuan KHM pengujian aktivitas antibakteri sediaan gel ekstrak daun melinjo dilakukan dengan menggunakan metode difusi (*disc diffusion*). Suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* yang telah dibuat dengan kekeruhan yang sama dengan *Mc. Farland* digoreskan pada media nutrient agar (NA). Cakram uji kosong dicelupkan didalam masing-masing stok konsentrasi ekstrak daun melinjo [konsentrasi I (50%), konsentrasi II (60%) dan konsentrasi III (70%)], konsentrasi IV (80)]. Disk kontrol negatif menggunakan aquadest steril sedangkan kontrol positif menggunakan Clindamycin gel kemudian dilakukan penempelan disk pada media. Inkubasi pada suhu 37°C dengan lama waktu 24 jam, diameter zona hambat (*clear zone*) tampak area jernih atau bersih yang mengelilingi cakram yang telah di celupkan ekstrak daun melinjo (Ismiati dan Trilestari, 2014).

Pengamatan dilakukan setelah 1x24 jam masa inkubasi. Daerah bening merupakan petunjuk kepekaan bakteri terhadap antibiotik atau bahan antibakteri lainnya yang digunakan sebagai bahan uji yang dinyatakan dengan lebar diameter zona hambat (Vandepitte *et al.*, 2005). Diameter zona hambat dihitung dalam satuan millimeter (mm) menggunakan jangka sorong, kemudian diameter zona hambat tersebut dikategorikan sebagai kekuatan daya antibakterinya.

3.6.14 Formulasi Sediaan Gel

Basis gel yang digunakan adalah Natrium Karboksimetil Selulosa (CMC-Na) dengan penggunaan formula gel berdasarkan % w/w yaitu 3% CMC-Na, 10% gliserin, 15% propilenglikol, 10% gliserin, 0,25 methyl paraben dan *aquadestilata* ad 100%. Ekstrak daun melinjo konsentrasi 80% dibuat sediaan gel sebanyak 20 g. Gel ekstrak etanol daun melinjo dibuat berdasarkan formula yang telah

disajikan pada Tabel II.III. Pembuatan gel diawali dengan mengembangkan *gelling agent* dalam air panas disebut campuran 1. Metil paraben dilarutkan dalam sedikit air kemudian ditambahkan campuran gliserin, propilenglikol dan ekstrak yang kemudian disebut campuran 2. Kedua campuran dijadikan satu dalam basis gel, setelah itu diaduk dan ditambahkan air add 20 ml kemudian diaduk homogen (Maulina, 2015).

Formula standart yang digunakan dalam penelitian ini mengacu pada Sayuti, (2015) pada formula tersebut menghasilkan sediaan gel yang memenuhi kriteria uji organoleptis (bentuk, warna bau), homogenitas, pH, daya sebar. Pembuatan gel tanpa ekstrak bertujuan untuk mengetahui apakah basis gel terutama metal paraben dan propilenglikol yang mempunyai aktivitas antibakteri menghasilkan daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* (Afianti dan Murrukumihadi, 2015).

Tabel II.II Formula Standar Gel Basis CMC-Na (Sayuti, 2015)

Bahan	Konsentrasi (%)	Manfaat
CMC-Na	3	Gelling agent
Propilenglikol	15	Humektan
Gliserin	10	Humektan
Metil paraben	0,25	Pengawet
<i>Aquadestilata ad</i>	100	Pembawa

Tabel II.III Formula Modifikasi Gel Ekstrak Daun Melinjo

Bahan	Konsentrasi (%)
Ekstrak Daun Melinjo 80%	12
CMC-Na	3
Propilenglikol	15
Gliserin	10
Metil paraben	0,25
<i>Aquadestilata ad</i>	20

3.6.15 Evaluasi Sediaan Gel

3.6.15.1 Uji Organoleptik

Uji organoleptik meliputi warna, kejernihan dan bau dari formula gel secara visual (Ida *et al.*, 2012).

3.6.15.2 Uji Homogenitas

Sediaan gel dioleskan pada sekeping kaca, kemudian diamati bagian yang tidak tercampur. Homogenitas ditunjukkan dengan tidak adanya butiran kasar (Mappa *et al.*, 2013).

3.6.15.3 Uji pH

Uji pH dilakukan dengan menggunakan kertas pH universal. Kertas pH dicelupkan ke dalam gel yang telah di encerkan. pH sediaan memenuhi standar apabila memenuhi kriteria pH kulit yaitu 4,5-6,5 (Mappa *et al.*, 2013; Tranggono dan Latifa, 2007).

3.6.15.4 Uji Daya Sebar

Gel ditimbang sebanyak 0,5 g diletakkan dengan kaca dan ditimpa dengan pemberat transparan lain (digunakan petridisk). Didiamkan selama 1 menit dan diukur diameternya. Perlakuan diulangi sebanyak 3x. Daya sebar yang baik adalah 5-7 cm (Mappa *et al.*, 2013).

3.6.15.5 Uji Daya Lekat

Sebanyak 0,25 g gel ditimbang diatas kaca objek, kemudian ditimpa dengan kaca objek lain dan ditekan dengan beban 1 kg selama 5 menit dan digeser beban. Dilepaskan 80 g beban dan dihitung waktu yang diperlukan hingga kedua kaca lepas. Perlakuan diulang sebanyak 3 kali (Ansiah, 2014). Syarat untuk waktu daya lekat yang baik adalah tidak kurang dari 4 detik (Susilowati *et al.*, 2014).

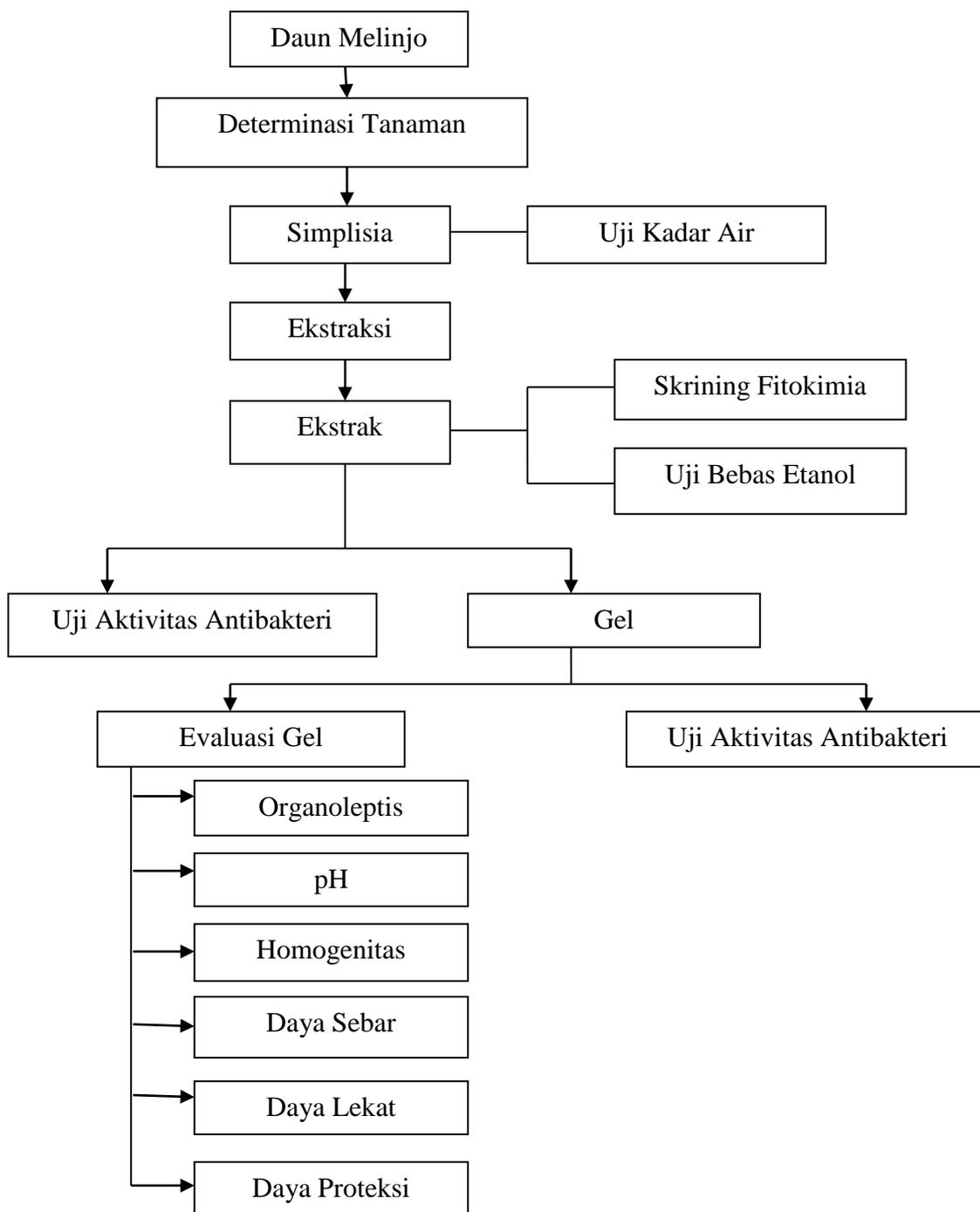
3.6.15.6 Uji Daya Proteksi

Uji Proteksi dilakukan dengan cara mengambil sepotong kertas saring yang dibasahi dengan larutan fenolftalein untuk indicator dan dikeringkan. Kertas diolesi dengan gel kemudian pada kertas saring yang lain (2) olesi dengan parafin padat yang dilelehkan, setelah kering atau dingin akan didapat areal yang dibatasi dengan parafin. Kertas saring ditempel (2) pada kertas saring (1) dan teteskan atau basahi areal dengan larutan KOH 0,1 N. Kertas saring dilihat apakah menunjukkan

noda berwarna merah atau kemerahan (waktu 15, 30, 45, 60 detik, 3 menit dan 5 menit). Gel dapat memberikan proteksi terhadap cairan (larutan KOH) apabila tidak ada noda (Ansiah, 2014).

3.6 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian dibuat dengan tujuan adanya arah yang jelas dan target yang hendak dicapai dalam penelitian. Jika tujuan penelitian ini jelas dan dirumuskan dengan baik, maka penelitian dan pemecahan masalah akan berjalan dengan baik pula.



3.8 Analisa Hasil

Aktivitas antibakteri ekstrak daun melinjo terhadap *Staphylococcus aureus* dianalisis menggunakan program SPSS 16 untuk melihat bagaimanakah aktivitas antibakteri ekstrak daun melinjo dan sediaan gel ekstrak daun melinjo dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* serta stabilitas sediaan gel ekstrak daun melinjo. 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 $P > 0,05$ dan jika $P < 0,05$ maka data tidak berdistribusi normal (Sujarweni, 2012). Data yang terdistribusi normal, selanjutnya dianalisis dengan *One-Way Anova*. Data diterima jika $P > 0,05$ dan jika $P < 0,05$ maka data ditolak (Yamin dan Kurniawan, 2014). Asumsi *One-Way Anova* dilakukan dengan uji homogenitas yang bertujuan untuk menguji kesamaan (homogenitas) beberapa sampel, yakni seragam tidaknya variasi sampel-sampel yang diambil dari populasi yang sama (Ghazali, 2011). Pengujian homogenitas dilakukan dengan menggunakan *levene statistics*. H_0 ditolak jika $P \text{ value } \textit{levene statistics} < 0,05$ (Yamin dan Kurniawan, 2014).

BAB IV HASIL PENELITIAN

4.1 Data Mentah

4.1.1 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman melinjo dilakukan di UPT MATERIA MEDICA Kota Batu Malang, Jawa Timur. Determinasi tanaman menunjukkan bahwa sampel yang digunakan adalah tanaman daun melinjo (*Gnetii gnemonii Folium*) famili *Gnetaceae* dengan kunci determinasi 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14b-16a-239b-243b-244b-248-b249a-1.

4.1.2 Uji Susut Pengerinan

Tabel IV.1 Hasil Uji Susut Pengerinan Daun Melinjo

Sampel	Bobot Basah (kg)	Bobot Kering (kg)	% Hasil
Daun melinjo	5	1,18	23,6%

4.1.3 Uji Kadar Air Serbuk Simplisia Daun Melinjo

Tabel IV.2 Hasil Uji Kadar Air Serbuk Simplisia Daun Melinjo

Sampel	Bobot sebelum dioven (g)	Bobot sesudah dioven (g)	% Kadar air (g)
Daun melinjo	9,94	9,03	9,15%

4.1.4 Rendemen Maserat

Tabel IV.3 Hasil Persentase Rendemen Maserat Daun Melinjo

Sampel	Berat Ekstrak Kental (g)	Berat Serbuk Simplisia (g)	Rendemen
Simplisia Daun Melinjo	69,13	500	13,28 %

4.1.5 Skrining Fitokimia

Tabel IV.4 Hasil Skrining Fitokimia Daun Melinjo

Golongan Senyawa	Pereaksi	Perubahan Warna	Hasil
Alkaloid	HCl 2%+ Reagen Dragendroff	Endapan Bewarna Jingga	(+)
Flavonoid	Etanol 70%+ Logam Mg+ HCl	Warna Jingga	(+)
Terpenoid	Anhidrida Asetat+ H ₂ SO ₄ pekat	Cincin Kecoklatan	(+)
Tanin	Metanol+ FeCl ₃ 1%	Terbentuk Warna Hitam Kebiruan	(+)
Saponin	Ekstrak + Aquadest	Terbentuk Busa	(+)

Keterangan: (+) Terbentuk menjadi senyawa dan (-) Tidak Terbentuk senyawa

4.1.6 Uji Bebas Etanol

Tabel IV.5 Hasil Uji bebas etanol ekstrak Daun Melinjo

Sampel	Perlakuan	Hasil	Keterangan
Ekstrak Daun Melinjo	Asam asetat, asam sulfat (dipanaskan)	+	Bebas Etanol

Keterangan: (+) Tidak tercium bau ester dan (-) Tercium bau ester

4.1.7 Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Melinjo terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

IV.6 Hasil Uji Aktivitas Ekstrak Daun Melinjo terhadap *Staphylococcus aureus*

Replikasi	Kontrol Positif	Kontrol Negatif	Konsentrasi Ekstrak			
			50%	60%	70%	80%
1	25 mm	0 mm	11,5 mm	12 mm	12,5 mm	13 mm
2	24,5 mm	0 mm	11,5 mm	12 mm	13 mm	13,25 mm
3	25 mm	0 mm	11,5 mm	12 mm	11,5 mm	13 mm
Rata-rata	24,8 mm	0 mm	11,5 mm	12 mm	12,3 mm	13,08 mm

Keterangan: Kontrol (+) yaitu Clindamycin gel dan Kontrol (-) yaitu Aquadest steril

4.1.8 Hasil Evaluasi Sediaan Gel Ekstrak Daun Melinjo terhadap *Staphylococcus aureus*

Tabel IV.7 Evaluasi Sediaan Gel Ekstrak Daun Melinjo

Evaluasi Gel	Hasil Uji	Standart	Sitasi
Organoleptis			
Bentuk	Semi padat	Semi padat	(Depkes RI, 2000)
Warna	Coklat tua	Transparan	
Bau	Khas	Khas	
pH	5,25	4,5-6,5	(Tranggono dan Latifa, 2007)
Homogenitas	Homogen	Homogen	(SNI, 1996)
Daya Sebar	5,45 cm	5-7 cm	(Garg <i>et al.</i> , 2002)
Daya Lekat	0,83 detik	> 1 detik	Afianty dan murrukmihadi, 2015)
Daya Proteksi	Tidak timbul warna merah muda	Tidak timbul warna merah muda	(Tunjungsari, 2012)

4.1.9 Aktivitas Antibakteri Gel Ekstrak Daun Melinjo Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

Tabel IV.8 Aktivitas Antibakteri Gel Ekstrak Daun Melinjo

Replikasi	Kontrol Positif	Kontrol Negatif	Gel Ekstrak 80%
1	28,5 mm	0 mm	17,25 mm
2	28 mm	0 mm	17 mm
3	27 mm	0 mm	16,5 mm
Rata-rata	27,83 mm	0 mm	16,91 mm

Keterangan: Kontrol (+) yaitu Clindamycin gel dan Kontrol (-) yaitu Basis Gel Tanpa Ekstrak

4.2 Data Olahan

4.2.1 Analisis Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Melinjo Menggunakan Metode *One Way Anova*

Tabel IV.9 Analisis Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Melinjo

Analisis Data	Metode	Signifikasi
Uji Normalitas	<i>Kolmogorof- Smirnov Test</i>	0,89
Uji Homogenitas	<i>Levene Statistic</i>	0,00

4.2.2 Analisis Hasil Uji Stabilitas Gel Ekstrak Daun Melinjo Menggunakan Metode *One Way Anova*

Tabel IV.10 Analisis Hasil Uji Stabilitas Gel Ekstrak Daun Melinjo

Analisis Data	Metode	Signifikasi
Uji Normalitas	<i>Kolmogorof- Smirnov Test</i>	0,64
Uji Homogenitas	<i>Levene Statistic</i>	0,84
Analisis Hasil	<i>One Way Anova</i>	0,00

4.2.3 Analisis Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Gel Ekstrak Daun Melinjo Menggunakan Metode *One Way Anova*

Tabel IV.11 Analisis Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Gel Ekstrak Daun Melinjo

Analisis Data	Metode	Signifikasi
Uji Normalitas	<i>Kolmogorof- Smirnov Test</i>	0,82
Uji Homogenitas	<i>Levene Statistic</i>	0,06
Analisis Hasil	<i>One Way Anova</i>	0,00

BAB V

PEMBAHASAN

5.1 Determinasi Daun Melinjo

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun melinjo yang diperoleh dari kebun milik warga daerah Gampengrejo, Kediri dan untuk memastikan identitas daun melinjo tersebut dilakukan uji taksonomi. Uji taksonomi tanaman bertujuan untuk mengetahui identitas dari tanaman tersebut, dengan demikian kesalahan dalam pemilihan tanaman yang akan diteliti dapat dihindari. Semua bagian tanaman yang masih segar, meliputi batang, daun, buah dan akar dicocokkan terhadap kepastakaan di UPT MATERIA MEDICA Kota Batu, Malang Jawa Timur.

Hasil uji taksonomi yang dilakukan menunjukkan bahwa sampel yang digunakan adalah tanaman daun melinjo (*Gnetii gnemonii Folium*) famili *Gnetaceae* dengan kunci determinasi sebagai berikut 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14b-16a-239b-243b-244b-248-b249a-1. Daun melinjo memiliki morfologi batang bulat, keras, bercabang-cabang, mudah patah, bekas cabang terlihat jelas, hijau kehitam-hitaman. Daun tunggal, berhadapan, bulat telur, ujung runcing, tepi rata, pangkal membulat, panjang 10-15 cm, lebar 5-10 cm, pertulangan menyirip, tangkai ± 5 cm, hijau. Bunga majemuk, bentuk bulir, tumbuh diketiak daun, panjang 6-10 cm, hijau kekuningan. Buah berbentuk seperti batu, elips, panjang 2-3 cm, masih muda hijau setelah tua merah. Biji keras, kulit bergaris membujur, berdaging, coklat muda dan memiliki akar tunggang berwarna coklat. Pembuktian kebenaran dari tanaman yang digunakan juga diperkuat dengan adanya surat determinasi tanaman yang dikeluarkan oleh UPT MATERIA MEDICA Kota Batu (Lampiran 1).

5.2 Pengumpulan dan Pembuatan Serbuk Daun Melinjo

Langkah awal pembuatan simplisia adalah pengumpulan bahan. Bagian tanaman yang digunakan yaitu daun. Menurut Syaifudin *et al.* (2011), organ daun memiliki ketersediaan material yang tinggi dan keragaman golongan metabolit

sekunder didalam daun bermacam-macam mulai dari yang non polar seperti steroid, triterpene, semipolar seperti flavonoid dan glikosida atau terpenoid terhidroksilasi. Daun melinjo yang bewarna hijau dan dalam keadaan segar diambil mulai dari daun ketiga dari ujung dan kedua dari pangkal. Tidak diambil daun melinjo yang masih muda dikarenakan kandungan senyawa didalamnya masih belum optimal, sedangkan pada daun yang sudah tua kandungan senyawa sudah berkurang. Oleh karena itu, diambil dari ujung dan kedua dari pangkal yang diperkirakan kandungan senyawanya optimal. Daun melinjo diambil dalam keadaan segar dimana tidak ada jamur dan bekas gigitan serangga karena adanya kemungkinan dihasilkannya metabolit sekunder yang bersifat toksik. Metabolit sekunder yang dihasilkan juga berpengaruh terhadap hasil uji yang didapat (Prayitno, 2011).

Daun melinjo yang telah dikumpulkan dibersihkan dengan menggunakan air mengalir dengan tujuan untuk membersihkan daun dari kotoran-kotoran yang menempel. Penggunaan air mengalir untuk mencegah menempelnya kembali kotoran pada daun melinjo. Setelah dicuci daun dikeringakan dibawah sinar matahari dengan tujuan untuk mengurangi kadar air yang ada didalam simplisia dan dihentikan jika daun saat diremas mudah remuk. Pengurangan kadar air ini bertujuan untuk menghindari tumbuhnya jamur, kapang, atau bakteri yang dapat merusak simplisia, selain itu dapat menekan terjadinya peruraian senyawa kimia akibat adanya reaksi enzimatik yang bisa menimbulkan perubahan senyawa aktif (Octavia, 2009).

5.3 Uji Susut Pengerinan

Penetapan susut pengerinan merupakan salah satu persyaratan yang harus dipenuhi dalam standarisasi tanaman berkhasiat obat. Susut pengerinan dapat memberikan batasan maksimal (rentang) tentang besarnya senyawa yang hilang pada proses pengerinan (Depkes RI, 2000). Hasil dari pengujian susut pengerinan ini diperoleh sebesar 23,6%. Hal ini menunjukkan bahwa jumlah senyawa yang hilang atau menguap pada saat proses pengerinan sebanyak 23,6%.

5.4 Uji Kadar Air Serbuk Simplisia

Kadar air merupakan salah satu parameter kontrol kualitas serbuk simplisia. Keputusan Menteri Kesehatan RI No: 661/MENKES/SK/VII/1994 tentang Obat Tradisional memberlakukan persyaratan kadar air untuk serbuk simplisia adalah kurang dari 10%. Tujuan pengontrolan kadar air kurang dari 10% adalah untuk mencegah pertumbuhan mikroba yang dimungkinkan dapat menguraikan kandungan bahan organik dalam simplisia. Produk yang mempunyai kadar air yang tinggi lebih mudah rusak karena produk tersebut dapat menjadi media yang kondusif bagi pertumbuhan mikroorganisme. Produk dengan kadar air rendah relatif lebih stabil dalam penyimpanan jangka panjang daripada produk yang berkadar air tinggi (Purdede *et al.*, 2013). Beberapa enzim merusak kandungan kimia antara lain hidrolase, oksidase dan polimerase (Paris et Moyses, 1976). Hasil pengujian kadar air didapatkan bahwa kadar air pada sampel yang digunakan pada penelitian ini sebesar 9,15%. Besarnya kadar air pada sampel sesuai dengan standar yang ditentukan oleh Farmakope Indonesia.



Gambar 5.1 Uji Kadar Air

5.5 Ekstraksi Daun Melinjo

Daun melinjo yang telah dikeringkan diserbuk dengan menggunakan blender, dan diperoleh daun melinjo berupa serbuk berwarna hijau muda kekuningan kemudian serbuk diayak dengan ayakan ukuran mesh 60. Penyerbukan dan pengayaan dilakukan untuk memperkecil ukuran partikel bahan karena semakin kecil ukuran serbuk semakin besar luas permukaan sampel yang berinteraksi dengan pelarut, sehingga ekstraksi akan lebih efektif. Proses

pengayaan sampel juga bertujuan untuk menyeragamkan ukuran sampel, ukuran sampel yang kecil dan seragam juga dapat menyebabkan pemecahan dinding sel oleh pelarut semakin cepat dan serentak, sehingga dapat mengoptimalkan proses ekstraksi (Saifudin *et al.*, 2011).



Gambar 5.2 Serbuk Simplisia Daun Melinjo

Metode ekstraksi dilakukan menggunakan ekstraksi cara dingin, yaitu dengan metode maserasi. Ekstraksi serbuk daun melinjo dilakukan untuk menarik senyawa yang terkandung dalam bahan. Selama proses maserasi, sel daun melinjo mengalami kondisi jenuh sehingga sel-selnya akan mengeluarkan senyawa aktif (Nurchayati A, 2010). Pelarut etanol akan mengikat berbagai senyawa aktif seperti flavonoid, alkaloid, tanin, saponin dan terpenoid. Prinsip maserasi adalah perbedaan konsentrasi antara larutan senyawa aktif dalam sel dan dengan pelarut ekstraksi, yang menyebabkan terjadinya difusi sehingga terjadi kesetimbangan konsentrasi antara larutan diluar sel dan didalam sel. Semakin lama waktu ekstraksi, maka kesempatan untuk kontak antara serbuk daun melinjo dengan pelarut akan semakin besar sehingga hasil ekstraksi semakin bertambah banyak. Proses ini digunakan media kaca karena kaca merupakan media yang tahan terhadap reaksi kimia sehingga tidak membuat ekstrak mudah terkontaminasi (Tobo F *et al.*, 2001).

Kelebihan metode maserasi adalah pengerjaanya mudah, menghasilkan rendemen yang cukup tinggi, serta kemungkinan rusaknya senyawa kimia yang terkandung dalam bahan dapat dihindari karena tidak disertai pemberian panas (Sundari, 2010). Maserasi sampel dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol 70% sebanyak 1 liter untuk setiap 250 gram serbuk. Pelarut etanol 70% digunakan

karena sifatnya yang mampu melarutkan hampir semua zat, baik yang bersifat polar, semi polar dan non polar selain itu, etanol 70% efektif menghasilkan jumlah zat aktif yang optimal dan dapat memperbaiki stabilitas bahan obat terlarut (Arifin *et al.*, 2006). Ekstraksi dilakukan selama 3x24 jam diikuti dengan pengocokan setiap hari. Pengocokan pada saat proses maserasi bertujuan untuk menghindari memadatnya serbuk sehingga pelarut sulit menembus bahan dan kesulitan mengambil senyawa-senyawa aktif karena serbuk yang digunakan cukup banyak kemudian hasil maserat disaring dengan menggunakan kertas saring (Purwanto, 2015).

Filtrat yang diperoleh dipekatan dengan oven hal ini bertujuan untuk menghilangkan pelarut dan untuk menghasilkan ekstrak kering dengan kualitas yang baik. Untuk menjaga komponen aktif yang terdapat dalam ekstrak, proses pengeringan dilakukan pada suhu tidak lebih dari 60°C. Menurut Departemen Kesehatan RI, (1985), suhu pengeringan tergantung pada jenis herbal dan cara pengeringannya. Herbal dapat dikeringkan pada suhu 30-90°C, tetapi suhu yang terbaik tidak melebihi 60°C. Herbal yang mengandung senyawa aktif yang tidak tahan panas atau mudah menguap harus dikeringkan pada suhu serendah mungkin misalnya 30-45°C, atau dengan cara pengeringan vakum. Hasil dari maserasi dengan etanol harus diuapkan karena etanol punya sifat iritatif yang mempengaruhi hasil uji aktivitas antibakteri. Proses ekstraksi diperoleh ekstrak kering sebanyak 69,13 gram dan berwarna hitam kehijauan dengan rendemen ekstrak 13,82%. Nilai tersebut dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya jenis pelarut, konsentrasi pelarut, ukuran partikel simplisia dan lamanya waktu ekstraksi. Keberhasilan pemisahan bergantung pada perbedaan kelarutan komponen yang akan dipisahkan dalam pelarut (Suryanto, 2012). Senyawa polar akan larut dalam pelarut polar begitu pula sebaliknya. Selain jenis pelarut, ukuran sampel juga mempengaruhi jumlah rendemen. Semakin kecil luas permukaan sampel akan semakin memperluas kontak dan meningkatkan interaksi dengan pelarut (Sineke *et al.*, 2016).

5.6 Uji Skrining Fitokimia Senyawa Aktif dalam Daun Melinjo

Uji fitokimia merupakan uji kuantitatif untuk mengetahui kandungan senyawa aktif dalam sampel. Analisis kandungan kimia dilakukan di Laboratorium Botani, Stikes Karya Putra Bangsa Tulungagung dengan melihat ada tidaknya reaksi perubahan warna yang terjadi pada uji tabung. Uji fitokimia merupakan salah satu langkah penting dalam upaya mengungkapkan potensi sumber daya tumbuhan obat. Hal ini dilakukan untuk memberikan gambaran tentang golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak daun melinjo. Pengujian dilakukan dengan cara mengambil sedikit sampel dan ditambahkan reagen sesuai dengan senyawa yang akan diidentifikasi (Astuti *et al.*, 2013).

5.6.1 Uji Alkaloid

Alkaloid merupakan suatu golongan senyawa yang tersebar luas hampir pada semua jenis tumbuhan dan dapat ditemukan pada biji, daun, ranting, dan kulit kayu dari tumbuhan. Ekstrak etanol daun melinjo dalam penelitian ini menunjukkan positif mengandung alkaloid dengan reagen dragendroff sedangkan pelarut mayer menunjukkan hasil negatif. Purba (2001) menjelaskan bahwa alkaloid mengandung nitrogen pada bagian sikliknya serta memiliki ikatan dengan gugus yang bervariasi dapat berupa gugus amina, amida, fenol, dan metoksi sehingga alkaloid bersifat semipolar. Sifat semipolar dari alkaloid menyebabkan senyawa ini lebih larut dalam pelarut yang bersifat semipolar. Penelitian ini menggunakan ekstraksi dengan pelarut etanol 70% sehingga alkaloid yang terkandung dalam ekstrak daun melinjo dapat terdeteksi saat pengujian karena kelarutannya pada ekstrak tinggi. Pada uji alkaloid menggunakan mayer menunjukkan reaksi negatif disebabkan karena alkaloid dapat ditemukan dalam berbagai bagian tanaman, tetapi sering kali kadar alkaloid dalam jaringan tumbuhan kurang dari 1% sehingga kadar yang sedikit tersebut dapat menyebabkan uji skrining alkaloid menggunakan Mayer memberikan hasil yang negatif (Kristanti *et al.*, 2008).

Hasil positif alkaloid uji Dragendroff ditandai dengan terbentuknya endapan kuning. Endapan tersebut adalah kalium alkaloid. Pada pembuatan pereaksi Dragendroff, bismut nitrat dilarutkan dalam HCl agar tidak terjadi reaksi

hidrolisis karena garam-garam bismut mudah terhidrolisis membentuk ion bismutil (BiO^+), agar ion Bi^{3+} tetap berada dalam larutan, maka larutan itu ditambah asam sehingga kesetimbangan akan bergeser kearah kiri. Selanjutnya ion Bi^{3+} dari bismut nitrat bereaksi dengan kalium iodida membentuk endapan hitam bismut (III) iodida yang kemudian melarut kedalam kalium iodida berlebih membentuk kalium tetraidobismutat. Uji alkaloid dengan pereaksi dragendroff, nitrogen digunakan untuk membentuk ion kovalen koordinat dengan K^+ ion logam. Endapan tersebut adalah kalium-alkaloid (Marliana & Suyanti, 2005).



Gambar 5.3 Uji Alkaloid Menggunakan Reagen Dragendroff

5.6.2 Uji Tanin

Tanin termasuk dalam golongan fenolik yang mengandung kerangka cincin aromatik yang mengandung gugus hidroksil ($-\text{OH}$) (Mustika & Ariyani, 2008). Uji fitokimia dengan menggunakan FeCl_3 1% digunakan untuk menentukan kandungan fenol. Adanya gugus fenol ditunjukkan dengan hijau tua atau biru tua setelah ditambahkan dengan FeCl_3 1%, sehingga apabila uji fitokimia dengan FeCl_3 1% memberikan hasil positif disimpulkan dalam sampel terdapat senyawa fenol dan dimungkinkan salah satunya adalah tanin karena tanin merupakan senyawa polifenol. Hasil uji fitokimia ekstrak daun melino dengan FeCl_3 1% menghasilkan suatu warna hijau kehitaman karena reaksi antara tanin dan FeCl_3 membentuk senyawa kompleks. Terbentuknya senyawa kompleks antara tanin dan FeCl_3 karena adanya ion Fe^{3+} sebagai atom pusat dan tanin memiliki atom O yang mempunyai pasangan elektron bebas yang bisa mengkoordinasikan ke atom pusat sebagai ligannya (Kusumaningsih *et al.*, 2015).



Gambar 5.4 Uji Tanin

5.6.3 Uji Saponin

Saponin merupakan surfaktan yang kuat dan menimbulkan busa bila dikocok dalam air. Ekstrak etanol daun melinjo positif mengandung saponin yang ditandai dengan terbentuknya busa setelah ditambahkan aquadest dan dikocok kuat-kuat. Untuk memastikan bahwa busa yang terbentuk berasal dari saponin maka ditetesi larutan asam dan hasilnya menunjukkan bahwa busa tetap stabil. Busa pada uji terjadi karena saponin memiliki gugus polar dan non polar yang akan membentuk misel. Misel terbentuk menyebabkan gugus polar akan menghadap keluar dan gugus non polar menghadap ke dalam dan keadaan inilah yang tampak seperti busa (Padmasari *et al.*, 2013).



Gambar 5.5 Uji Saponin

5.6.4 Uji Flavonoid

Flavonoid pada umumnya mudah larut dalam air atau pelarut polar dikarenakan memiliki ikatan dengan gugus gula (Markham, 1988). Hasil uji flavonoid menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun melinjo mengandung senyawa flavonoid dengan perubahan warna menjadi jingga setelah ditambahkan serbuk

Mg dan HCl pekat. Magnesium dan asam klorida bereaksi membentuk gelembung-gelembung yang merupakan gas H_2 , sedangkan logam Mg dan HCl pekat pada uji ini berfungsi untuk mereduksi inti benzopiron yang terdapat pada struktur flavonoid sehingga terbentuk perubahan warna menjadi merah atau jingga. Jika dalam suatu ekstrak tumbuhan terdapat senyawa flavonoid akan terbentuk garam flavilium saat penambahan Mg dan HCl yang berwarna merah atau jingga (Prashant *et al.*, 2011)



Gambar 5.6 Uji Flavonoid

5.6.5 Uji Terpenoid

Terpenoid merupakan senyawa organik bahan alam yang terdapat dalam metabolit sekunder yang mencakup mono, sesqui, di, tri dan politerpena. Ekstrak etanol daun melinjo menunjukkan positif mengandung senyawa terpenoid, karena setelah sampel ditambahkan larutan anhidrida asetat dan asam sulfat pekat menghasilkan cincin kecoklatan pada perbatasan dua pelarut, adanya perubahan warna. Prinsip reaksi dalam mekanisme reaksi uji terpenoid merupakan kondensasi atau pelepasan H_2O dan penggabungan dengan karbokation. Reaksi ini diawali dengan proses asetilasi gugus hidroksil menggunakan asam asetat anhidrida. Gugus asetil merupakan gugus pergi yang baik akan lepas, sehingga terbentuk ikatan rangkap. Selanjutnya terjadi pelepasan gugus hidrogen beserta elektronnya, mengakibatkan ikatan rangkap berpindah. Senyawa ini mengalami resonansi yang bertindak sebagai elektrofil atau karbokation. Serangan karbokation menyebabkan adisi elektrofilik, diikuti pelepasan hidrogen. Gugus hidrogen beserta elektronnya kemudian dilepas, akibatnya senyawa mengalami

perpanjangan konjugasi yang memperlihatkan munculnya cincin kecoklatan (Nugrahani, 2015).



Gambar 5.7 Uji Terpenoid

Hasil uji fitokimia yang didapatkan ekstrak daun melinjo terbukti positif mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, flavonoid, tanin, saponin dan terpenoid. Hasil uji fitokimia yang didapatkan tidak sesuai dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh (Kinning, 2015) yang menyatakan bahwa komponen fitokimia dari daun melinjo adalah tanin, saponin, alkaloid dan steroid sebagai agen antimikroba.

Perbedaan kandungan fitokimia dalam daun melinjo diduga karena faktor kimia seperti jenis dan jumlah senyawa kimia, metode ekstraksi dan pelarut yang digunakan. Selain itu, adanya variasi biologis, misalnya tempat asal daun melinjo yang digunakan, juga dapat mempengaruhi jumlah kandungan bahan aktif yang ada. Faktor-faktor lingkungan seperti suhu udara, kelembapan relatif, radiasi matahari, angin, suhu tanaman, ketersediaan air, ketercukupan cahaya dalam proses fotosintesis sangat mempengaruhi fungsi fisiologis, bentuk anatomis, dan siklus hidup tumbuhan. Faktor lingkungan inilah yang mungkin mempengaruhi senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh daun. Daun yang masih muda, mengandung zat-zat yang bersifat antibakteri, sedangkan pada daun yang sudah tua sudah mulai ada yang rusak, sehingga kandungan senyawa *acetogenins* telah terbentuk. Senyawa inilah yang bersifat sitotoksik (Depkes RI, 2000).

5.7 Uji Bebas Etanol

Uji bebas etanol dilakukan bertujuan untuk membuktikan bahwa tidak terdapat adanya kandungan etanol yang ada didalam sampel, selain itu etanol bersifat sebagai antibakteri dan antifungi sehingga akan berpengaruh terhadap pengujian aktivitas antibakteri. Uji bebas etanol ekstrak daun melinjo positif bebas dari etanol, hal tersebut dibuktikan dengan dilakukan pengujian dengan menggunakan reaksi esterifikasi. Esterifikasi adalah perubahan reaksi dari asam karboksilat dan alkohol menjadi suatu ester dengan menggunakan katalis asam, reaksi esterifikasi bersifat reversible dilakukan dengan cara mengambil satu gram ekstrak daun melinjo dimasukkan kedalam tabung reaksi ditambahkan 1 ml asam asetat dan 1 ml asam sulfat pekat dengan dibantu pemanasan (Fessenden, 1999).



Gambar 5.8 Uji Bebas Etanol

Hasil reaksi esterifikasi etanol menunjukkan bahwa tidak terdapat adanya bau ester, hal ini terjadi karena tidak ada atom H dari etanol yang diikat OH dari asam asetat, reaksi ini diperantarai oleh H_2SO_4 yang berfungsi sebagai katalis dan bersifat asam kuat sehingga tidak menimbulkan reaksi bau dari ester maka dapat dinyatakan ekstrak daun melinjo bebas etanol (Fessenden, 1999).

5.8 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Maserasi Daun Melinjo terhadap *Staphylococcus aureus* dengan Metode *Disc Diffusion*

Diameter zona hambat merupakan zona bening disekitar kertas cakram yang tidak ditumbuhi oleh bakteri karena adanya aktivitas dari suatu zat antibakteri. Zona hambat yang membentuk zona bening disekitar kertas cakram merupakan hasil dari senyawa yang terlarut kemudian berdifusi dengan adanya media (Nutrient Agar) sehingga menyebabkan senyawa dari suatu larutan tersebut

mampu menghambat pertumbuhan bakteri yang ada disekitarnya sehingga timbul zona hambat. Zona bening ini disebut sebagai zona hambat yang menyatakan kekuatan dari suatu larutan antibakteri. Semakin besar diameter zona hambat maka semakin kuat larutan tersebut sebagai antibakteri. Pengujian daya antibakteri dilakukan untuk mengetahui sejauh mana aktivitas suatu bakteri terhadap agen antibakteri. Hasil daya uji antibakteri didasarkan pada pengukuran Diameter Daerah Hambat (DDH) pertumbuhan bakteri yang terbentuk disekeliling kertas cakram (Pratiwi, 2008).

Penelitian ini menggunakan metode *disc diffusion* atau kertas cakram dikarenakan bakteri yang ditanam pada media dalam metode ini bersifat aerob yaitu tumbuhnya bakteri memerlukan oksigen sehingga bakteri tersebut tumbuh dipermukaan media dan metode ini memiliki kelebihan mudah dilakukan, tidak memerlukan peralatan khusus dan relatif murah sedangkan kelemahannya adalah ukuran zona bening yang terbentuk tergantung oleh kondisi inkubasi, inokulum, predifusi, dan preinkubasi serta ketebalan medium. Apabila keempat faktor tersebut tidak sesuai maka hasil dari metode kertas cakram relatif sulit untuk ditentukan. Selain itu metode kertas cakram ini tidak dapat diaplikasikan pada mikroorganisme yang pertumbuhannya lambat dan mikroorganisme yang bersifat anaerob obligat (Jawetz *et al.*, 1996).

Bakteri yang akan digunakan, sebelumnya dilakukan peremajaan terlebih dahulu untuk meregenerasi bakteri agar diperoleh bakteri yang muda dan tidak terkontaminasi. Peremajaan bakteri dilakukan dengan menanam bakteri pada media Nutrient Broth (NB) yang kemudian diinkubasi selama 24 jam dalam inkubator pada suhu 37°C yang bertujuan untuk memaksimalkan pertumbuhan bakteri. Inkubasi dilakukan dengan tujuan untuk mengkondisikan lingkungan pada suhu optimum perkembangan bakteri sehingga dapat diketahui bahwa bakteri berkembang dengan baik. Media agar yang digunakan untuk peremajaan bakteri adalah Nutrient Broth dan media pengujianya adalah Nutrient Agar (Na). Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah media NA. Media NA dipilih karena memiliki kandungan nutrisi yang lengkap bagi pertumbuhan bakteri. Kandungan nutrisi tersebut antara lain pepton, NaCl, yeast extract, dan beef

extract. Media ini dapat digunakan untuk berbagai jenis mikroorganisme (Atlas, 1996). Pemilihan bakteri *Staphylococcus aureus* pada penelitian ini karena bakteri ini merupakan salah satu bakteri yang banyak menyebabkan infeksi pada manusia baik infeksi ringan maupun berat (Jawetz *et al.*, 2006).

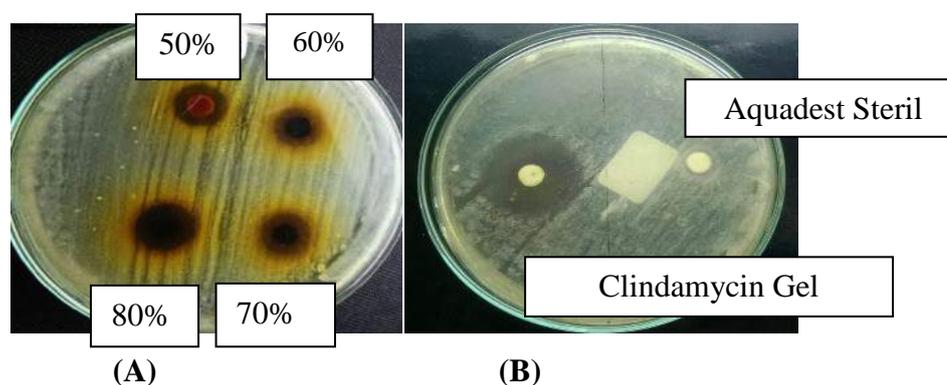
Kapas *Cotton Bud* steril dimasukkan kedalam suspensi dan ditekan perlahan kedinding tabung bagian dalam untuk mengeluarkan inokulum yang berlebih. Kapas *Cotton Bud* yang berisi suspensi bakteri dioleskan keseluruhan permukaan agar secara horizontal, vertikal disekeliling pinggir bagian luar dari permukaan agar. Metode yang digunakan untuk isolasi bakteri *Staphylococcus aureus* dengan metode cawan gores. Hal ini dilakukan supaya dihasilkan koloni-koloni bakteri yang benar-benar terpisah sehingga akan mempermudah proses isolasi bakteri dan pengamatan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* (Yusriana *et al.*, 2014). Cawan petri yang sudah berisi bakteri tersebut, kemudian ditaruh beberapa kertas cakram yang masing-masing berisi kontrol positif (Clindamycin gel), kontrol negatif (aquadest steril), dan cakram yang berisi larutan uji dengan konsentrasi yang berbeda-beda yaitu konsentrasi 50%, 60%, 70% dan 80%. Uji pendahuluan, telah dilakukan pengujian dengan konsentrasi terendah yaitu 30% namun daya hambat menunjukkan hasil dengan diameter zona hambat dalam kategori sedang yaitu 8 mm. Uji pendahuluan kemudian dilanjutkan dari konsentrasi 50% sudah menunjukkan adanya aktivitas antibakteri. Bakteri uji diketahui bahwa ekstrak memiliki aktivitas antibakteri dengan kategori kuat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Ekstrak daun melinjo dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi ekstrak 50%, 60%, 70% dan 80% dengan hasil pengukuran diameter zona hambat 11,5 mm, 12 mm, 12,3 mm dan 13,08 mm. Konsentrasi yang paling efektif dari beberapa konsentrasi tersebut didapatkan hasil bahwa konsentrasi 80% karena mempunyai diameter zona hambat tertinggi. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan ulangan sebanyak tiga kali. Replikasi merupakan studi penelitian yang sama untuk kedua kalinya dengan kelompok lain untuk melihat apakah hasil yang diperoleh sama. Replikasi menggambarkan penelitian yang dilakukan valid atau terjadi penyimpangan (Kazdin 1992; Shaugnessy & Zechmeister, 1997).

Kontrol negatif (aquadest steril) tidak ada daya hambat yang dihasilkan karena aquadest hanya digunakan sebagai pengencer ekstrak untuk memperoleh ekstrak dengan kadar konsentrasi tertentu. Hal ini didasarkan pada sifatnya yang tidak toksik, yaitu tidak memberikan daya hambat pertumbuhan bakteri sehingga tidak mengganggu hasil pengamatan pengujian aktivitas antibakteri dengan metode *disc diffusion* (Handayani, 2009). Aquadest steril juga digunakan sebagai pelarut ekstrak karena berdasarkan orientasi yang telah dilakukan ekstrak dapat larut sempurna. Kontrol positif Clindamycin gel berpengaruh terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, aktifitas penghambatannya dalam kategori sangat kuat. Clindamycin merupakan turunan *lincomycin*, efektif terhadap bakteri gram positif. Bakteri gram positif memiliki struktur dinding sel yang lebih sederhana, sehingga memudahkan senyawa antibakteri mudah masuk kedalam bakteri. Secara farmakodinamik Clindamycin menghambat sintesa protein organisme dengan mengikat subunit ribosom 50 S yang mengakibatkan terhambatnya pembentukan ikatan peptida (Liana, 2016).

Rendahnya daya hambat bisa dipengaruhi berbagai macam hal. Menurut Vandepitte *et al* (2011) hal-hal yang mempengaruhi daya hambat suatu zat antibakteri antara lain kepekatan bakteri, waktu peletakkan cakram kertas, suhu inkubasi, waktu inkubasi, ketebalan media, potensi zat antibakteri. Penelitian ini hal yang paling berpengaruh adalah potensi zat antibakteri. Potensi zat antibakteri adalah kemampuan suatu zat antibakteri untuk dapat menghambat atau membunuh bakteri. Potensi antibakteri bisa mengalami penurunan sifat toksisitas apabila dalam suatu zat antibakteri terjadi kerusakan selama penyimpanan. Suatu zat antibakteri utamanya dalam hal ini ekstrak daun melinjo yang memiliki senyawa-senyawa seperti flavonoid, alkaloid, tanin, saponin dan terpenoid memerlukan tempat penyimpanan yang tepat. Tempat penyimpanan yang kurang sesuai bisa juga mengakibatkan kontaminasi dari jamur.

Potensi antibakteri bisa juga dipengaruhi konsentrasi ekstrak yang digunakan sebagai antibakteri. Penelitian ini yang dilakukan konsentrasi terendah mulai dari konsentrasi 50% dan yang paling tinggi konsentrasi 80%. Konsentrasi yang terlalu rendah menunjukkan kandungan senyawa yang rendah. Pelczar dan

Chan (1988) menyebutkan apabila jumlah ekstrak yang dilarutkan masih terlalu sedikit maka kandungan zat antibakteri yang terkandung didalamnya juga sedikit, akibatnya daya hambat terhadap bakteri uji juga rendah. Hal ini juga mengakibatkan potensi sebagai antibakteri yang tergolong lemah. Penentuan konsentrasi ekstrak etanol daun melinjo sangat berpengaruh terhadap terbentuknya zona hambat yang dihasilkan. Menurut Ningtyas (2010) bahwa semakin tinggi konsentrasi yang digunakan maka semakin tinggi daya hambatnya, hal ini dikarenakan semakin tinggi konsentrasi semakin banyak kandungan bahan aktif antibakterinya. Jenie dan Kuswanto (1994) menyatakan bahwa keefektifan suatu zat antimikroba dalam menghambat pertumbuhan tergantung pada sifat mikroba uji, konsentrasi dan lamanya waktu kontak, dan sifat biostatistik dapat meningkat dengan semakin tingginya konsentrasi yang ditambahkan.



Gambar 5.9 (A) Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Melinjo Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* (B) Kontrol positif (Clindamycin Gel) dan Kontrol Negatif (Aquadest Steril)

Kemampuan aktivitas penghambatan ekstrak dari tumbuh-tumbuhan terhadap bakteri uji dapat dikelompokkan berdasarkan zona penghambatannya. Zona hambat (>11mm) dikategorikan memiliki daya hambat kuat, zona hambat (>6-<11mm) dikategorikan memiliki daya hambat sedang, dan zona hambat (<6 mm) dikategorikan memiliki daya hambat rendah (Susanto *et al.*, 2012). Berdasarkan kemampuan penghambatan ekstrak dari tumbuhan melinjo menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun melinjo memiliki daya hambat kuat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dibandingkan dengan penelitian

sebelumnya (Kinning, 2015) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Adanya perbedaan hasil uji daya hambat pada bakteri gram positif dan gram negatif dapat dihubungkan melalui perbedaan dinding sel bakteri. Data dari penelitian ini menunjukkan bahwa hambatan terbesar dapat diamati pada bakteri *Staphylococcus aureus* yang merupakan bakteri gram positif. Bakteri gram positif umumnya lebih peka terhadap senyawa antibakteri dibandingkan dengan bakteri gram negatif karena dinding sel bakteri gram positif tidak memiliki lapisan lipopolisakarida sehingga senyawa antimikroba yang bersifat hidrofilik maupun hidrofobik dapat melewati dinding sel bakteri gram positif kemudian berinteraksi langsung dengan peptidoglikan pada sel bakteri yang sedang tumbuh dan menyebabkan kematian sel (Yasni, 2009).

Penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak daun melinjo ketiga dari pucuk daun memiliki efek antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, tetapi kemampuan ini lebih kecil dibandingkan dengan antibiotik Clindamycin gel. Hal ini mungkin dikarenakan konsentrasi kepekatan ekstrak daun melinjo belum diketahui dengan tepat *minimal inhibitor concentration* ekstrak terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, sedangkan pada antibiotik *clindamycin* sudah diketahui MIC nya terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, sehingga besar zona hambat yang terbentuk belum sebanding dengan zona hambat yang terbentuk pada antibiotik Clidamycin gel sebagai kontrol positif. Konsentrasi 80% dipilih sebagai sediaan gel karena mempunyai kemampuan optimum dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Zona hambat yang terbentuk disekitar cakram disebabkan karena adanya kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada daun melinjo. Alkaloid dapat menyebabkan sel bakteri mudah mengalami lisis, yang diduga memiliki mekanisme kerja dengan cara mengganggu komponen penyusun lapisan dinding sel sehingga dinding sel tidak terbentuk secara utuh (Retnowati *et al.*, 2011). Tanin memiliki aktivitas antibakteri, secara garis besar mekanismenya dengan cara mengkerutkan dinding sel atau membran sel, sehingga mengganggu permeabilitas sel itu sendiri. Akibat terganggunya permeabilitas, sel tidak dapat

melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati (Ajizah, 2004).

Saponin bekerja sebagai antibakteri dengan cara mengganggu stabilitas membran sel bakteri sehingga menyebabkan sel bakteri lisis, mengganggu permeabilitas membran sel bakteri yang mengakibatkan kerusakan membran sel dan menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel bakteri seperti protein, asam nukleat dan nukleotida (Ganiswarna, 1995). Golongan fenol memiliki aktivitas antimikroba yang bersifat bakterisida namun tidak bersifat sporisida (Pratiwi, 2008). Flavonoid bekerja pada bakteri dengan cara merusak membran sitoplasma. Membran sitoplasma bakteri sendiri berfungsi mengatur masuknya bahan-bahan makanan atau nutrisi, apabila membran sitoplasma rusak maka metabolit penting dalam bakteri dan bahan makanan untuk menghasilkan energi tidak dapat masuk sehingga terjadi ketidakmampuan sel bakteri untuk tumbuh dan pada akhirnya terjadi kematian (Dzen, 2003). Senyawa terpenoid bersifat mudah larut dalam lipid yang mengakibatkan senyawa terpenoid lebih mudah menembus dinding sel bakteri baik pada bakteri gram positif maupun gram negatif. Terpenoid dapat menyebabkan lisis pada sel bakteri dengan mengikat protein, lipid, dan atau karbohidrat yang terdapat pada membran sel (Harbone, 2006).

5.9 Uji Sifat Fisik dan Stabilitas Sediaan Gel

Stabilitas didefinisikan sebagai kemampuan suatu produk obat atau kosmetik untuk bertahan dalam spesifikasi yang diterapkan sepanjang periode penyimpanan dan penggunaan untuk menjamin identitas, kekuatan, kualitas, dan kemurnian produk. Sedangkan definisi sediaan yang stabil adalah sediaan yang masih berada dalam batas yang dapat diterima selama periode waktu penyimpanan dan penggunaan, diman sifat, dan karakteristik sama dengan yang dimilikinya pada saat dibuat (Djajadisastra, 2004). Penelitian gel ini dibuat dengan konsentrasi 80%. Pembuatan gel dari ekstrak daun melinjo didapatkan hasil uji evaluasi sebagai berikut :

1. Organoleptis

Uji organoleptis adalah pengujian yang ditunjukkan sebagai pengenalan awal yang sederhana dengan pengamatan objektif mengenai bentuk, warna, dan bau dari sediaan gel dengan menggunakan panca indera. Parameter kualitas gel yang baik adalah bentuk sediaan setengah padat, gel berbau khas ekstrak yang digunakan dan bewarna seperti ekstrak (Depkes RI 2000: 31). Hasil pengamatan organoleptis menunjukkan sediaan gel yang telah dibuat berbentuk setengah padat dengan aroma khas ekstrak daun melinjo dan warna coklat tua. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak semakin kuat aroma khas ekstrak yang tercium. Warna coklat tua yang dihasilkan oleh gel ekstrak melinjo dapat disebabkan karena konsentrasinya ekstrak yang tinggi. Berdasarkan hasil pengamatan, gel yang dibuat dikatakan aman karena masih sesuai dengan parameter kualitas gel yang baik.

2. Uji pH

Fungsi dari pengukuran pH sediaan gel yaitu untuk melihat keasaman dari sediaan agar tidak mengiritasi ketika diaplikasikan pada kulit. Hasil pengamatan menunjukkan gel ekstrak daun melinjo mempunyai pH 5,25. pH yang diperoleh masih memenuhi persyaratan pH sediaan topikal yaitu dalam interval 4,5-6,5. Kulit yang normal memiliki pH antara 4,5-6,5 sehingga sediaan topikal harus memiliki pH yang sama dengan pH normal kulit tersebut. Kesesuaian pH kulit dengan pH sediaan topikal mempengaruhi penerimaan kulit terhadap sediaan. Sediaan topikal yang ideal adalah tidak mengiritasi kulit. Kemungkinan iritasi kulit akan sangat besar apabila sediaan terlalu asam atau terlalu basa, jika dilihat dari uji pH dapat diketahui bahwa sediaan gel yang telah dibuat tersebut sudah memenuhi persyaratan untuk pH sediaan topikal dan sama-sama optimal (Tranggono dan Latifa, 2007).

3. Uji Homogenitas

Sediaan gel yang baik harus homogen dan bebas dari partikel-partikel yang masih menggumpal. Hasil pengamatan uji homogenitas menunjukkan susunan yang homogen karena pada bagian atas, tengah dan bawah sediaan terdapat penyebaran partikel secara merata. Adapun syarat sediaan yang baik adalah

homogen. Sediaan yang homogen akan memberikan hasil yang baik karena bahan obat terdispersi dalam bahan dasarnya secara merata, sehingga dalam setiap bagian sediaan mengandung bahan obat yang jumlahnya

4. Uji Daya Sebar

Penentuan daya sebar terhadap sediaan gel yang telah dibuat bertujuan untuk mengetahui kemampuan gel tersebut menyebar pada permukaan kulit saat diaplikasikan. Daya sebar merupakan faktor yang menentukan kecepatan pelepasan zat obat. Semakin besar daya sebar yang diberikan maka kemampuan zat aktif untuk menyebar dan kontak dengan kulit semakin luas (Helal *et al.*, 2012). Hasil pengujian daya sebar menunjukkan daya sebar gel dengan basis CMC-Na memenuhi parameter daya sebar yang baik dimana basis gel menunjukkan daya sebar sebesar 5,4 cm. Hal ini sesuai dengan yang dikemukakan Garg *et al* (2002) daya sebar sediaan gel yang baik antara 5-7 cm.

5. Uji Daya Lekat

Daya lekat berkaitan dengan kemampuan sediaan untuk menempel pada lapisan epidermis. Semakin besar nilai daya lekat maka semakin besar difusi obat karena kaitan ikatan yang terjadi antara gel dan kulit semakin lama. Daya lekat dari sediaan semipadat sebaiknya adalah tidak kurang dari 1 detik. Hasil uji daya lekat formula gel daun melinjo diperoleh hasil 0,84 detik. Gel terjadi penurunan daya lekat diakibatkan karena konsentrasi basis gel yang rendah dalam formula memiliki kandungan air yang lebih banyak, dan waktu daya lekat lebih cepat bila dibandingkan dengan gel yang mengandung konsentrasi basis lebih tinggi karena viskositasnya juga lebih tinggi dan waktu daya lekat gel akan lebih lama, sehingga dapat disimpulkan bahwa konsentrasi basis gel (1%-10%) mempengaruhi kemampuan daya lekat gel. Adanya bahan alam dalam formula ekstrak juga mempengaruhi kemampuan daya lekat gel yaitu penurunan viskositas yang menyebabkan waktu daya lekat lebih cepat (Tunjungsari, 2012). Semakin lama gel melekat pada kulit maka efek yang ditimbulkan juga semakin besar. Gel dikatakan baik jika daya lekatnya itu besar pada tempat yang diobati (misal kulit), karena obat tidak mudah lepas sehingga dapat menghasilkan efek yang diinginkan (Ansel 1989).

6. Uji Daya Proteksi

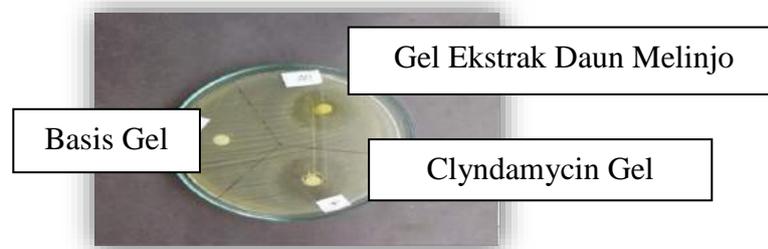
Pengujian daya proteksi gel dilakukan dengan untuk mengetahui kemampuan gel untuk melindungi kulit dari pengaruh luar seperti asam, basa, debu, polusi, dan sinar matahari. Pengujian daya proteksi gel dilakukan dengan KOH 0,1N. Pada pengujian daya proteksi menggunakan KOH 0,1 N yang bersifat basa kuat dimana KOH 0,1% mewakili zat yang dapat mempengaruhi efektifitas kerja gel terhadap kulit KOH 0,1% akan bereaksi dengan phenolftalein 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 kemas saring yang ditetesi dengan KOH 0,1 N dapat mempengaruhi efektifitas gel tersebut terhadap kulit (Tunjungsari, 2012). Data diperoleh hasil bahwa gel ekstrak daun melinjo pada uji proteksi terhadap KOH 0,1 N mampu memberikan proteksi atau perlindungan terhadap kulit (cairan KOH 0,1%) hal ini dibuktikan dengan tidak munculnya noda merah pada kertas saring yang ditetesi dengan cairan KOH 0,1% N sehingga gel memenuhi standar kualitas daya proteksi sediaan topikal.

5.10 Uji Aktivitas Antibakteri Gel Ekstrak Daun Melinjo Terhadap *Staphylococcus aureus* dengan Metode *Disc Diffusion*

Aktivitas antibakteri dari ekstrak 80% daun melinjo dikembangkan dalam suatu sediaan farmasi untuk mempermudah penggunaannya. Bentuk sediaan yang dipilih adalah gel, karena sediaan gel dapat melekat baik dikulit, mudah digunakan, mudah meresap, dan tidak meninggalkan lapisan minyak dikulit karena kandungan air yang cukup tinggi pada basis gel yang akan menyebabkan terjadinya hidrasi *stratum corneum* yang memudahkan penetrasi bahan aktif kedalam kulit dan cocok untuk kulit yang terkena infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* (Herdiana, 2007; Voight, 1994).

Uji aktivitas antibakteri terhadap gel ekstrak daun melinjo konsentrasi 80% memberikan hambatan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* kategori kuat dengan diameter zona hambat sebesar 16,91 mm sedangkan, kontrol positif

Clindamycin gel termasuk dalam kategori sangat kuat dengan diameter zona hambat sebesar 27,83 mm. Hasil pegujian yang telah dilakukan basis gel tidak mempunyai aktivitas antibakteri dengan tidak adanya zona bening disekitar kertas cakram. Kontrol basis gel berfungsi sebagai pembanding aktivitas antibakteri gel daun melinjo terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Dengan kata lain, kontrol basis merupakan faktor koreksi pengamatan aktivitas antibakteri gel daun melinjo, sehingga dapat diketahui diameter zona hambat pertumbuhan bakteri dari gel daun melinjo bukan berasal dari basis, melainkan hanya dari bahan aktif yang terkandung. Hasil yang didapat dari orientasi sediaan gel tanpa ekstrak tidak memberikan zona hambat.



Gambar 5.10 Uji Aktivitas Antibakteri Gel Ekstrak Daun Melinjo

Aktivitas antibakteri gel ekstrak daun melinjo sebelum dan sesudah diformulasikan memiliki perbedaan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Peningkatan konsentrasi ekstrak daun melinjo meningkatkan aktivitas antibakteri sediaan gel dan berdasarkan media pembawa bahan aktif, gel daun melinjo yang diformulasikan memberikan peningkatan aktivitas antibakteri. Hal tersebut disebabkan oleh gel yang memiliki komposisi air yang cukup besar, sehingga dapat meningkatkan kemampuan difusi baik dipermukaan media agar, maupun dalam menembus membran sel bakteri karena terjadi peningkatan permeabilitas membran sel. Membran sel yang bersifat semipermeabel, yang artinya mudah ditembus oleh molekul-molekul kecil, seperti air sama halnya pada kulit. Kulit merupakan membran semipermeabel, sehingga apabila gel daun melinjo diaplikasikan pada kulit dapat membawa bahan aktif ketarget yang diharapkan. Pelepasan bahan aktif dari suatu sediaan dapat dipengaruhi oleh faktor fisika kimia sediaan dan faktor biologis bakteri, Faktor

fisika kimia sediaan meliputi lama difusi dan viskositas, sedangkan faktor biologis bakteri meliputi pertumbuhan bakteri dan aktivitas antibakteri. Lama difusi penelitian telah dikontrol melalui pengamatan diameter zona hambat setelah 24 jam. Faktor biologis bakteri, seperti pertumbuhan bakteri juga telah dikontrol dengan adanya kontrol pertumbuhan bakteri dan pertumbuhan bakteripun tumbuh merata pada media agar didalam cawan petri (Pelczar dan Chan 1998).

5.11 Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian, pertama kali diuji apakah ada perbedaan rata-rata diameter aktivitas antibakteri yang bermakna antara kelompok dengan uji *One-Way ANOVA*. Analisis data dilakukan dengan menggunakan program komputer *Statistical Product and Service Solution (SPSS)16.0 for windows*.

Syarat menggunakan uji *One –Way ANOVA* :

1. Variabel data berupa variabel numerik/kontinu/rasio. Data pada penelitian ini adalah diameter aktivitas antibakteri ekstrak daun melinjo terhadap *Staphylococcus aureus* yang dinyatakan skala rasio.
2. Sebaran data harus normal, dibuktikan dengan nilai uji *Kolmogorov-Smirnov* yang memiliki nilai p lebih besar daripada nilai alfa.
3. Varians data harus sama. Hal ini dapat diketahui dengan menggunakan uji *Homogeneity of Variances*, dimana untuk varians data yang sama akan memiliki nilai $p >$ nilai alfa. Metode analisis yang dapat digunakan untuk menentukan sebaran data normal atau tidak normal adalah uji *Kolmogorof smirnov* (Dahlan, 2008).

5.11.1 Uji Statistik Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Melinjo terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

Data perhitungan statistik dengan pengolahan data menggunakan SPSS 16, Uji normalitas pada sediaan gel daun melinjo menggunakan metode *Kolomogorov-Sminorv*. Tujuan dilakukan uji normalitas adalah untuk mengetahui distribusi data dalam suatu variabel normal atau tidak. Uji normalitas pada dasarnya melakukan perbandingan data hasil uji dengan data yang berdistribusi

normal yang memiliki mean dan standar deviansi yang sama dengan data uji. Data terdistribusi normal merupakan salah satu syarat dilakukannya *parametic test*. Data terdistribusi normal merupakan data yang memiliki sebaran yang sama dan dianggap bisa mewakili populasi (Supardi, 2014). Hasil data uji aktivitas antibakteri ekstrak daun melinjo terhadap *Staphylococcus aureus* menggunakan uji *Kolmogorov-Smirnov* diperoleh nilai *Sig* 0,897, nilai $Sig > \alpha = 0,05$ menunjukkan bahwa data terdistribusi normal. Data yang terdistribusi normal, dianalisis menggunakan *One Way Anova*. Asumsi *One-Way Anova* dilakukan dengan uji homogenitas, pengujian homogenitas dilakukan dengan menggunakan *levene statistics* (Yamin dan Kurniawan, 2014). Uji homogenitas bertujuan untuk menguji berlaku tidaknya asumsi untuk ANOVA, yaitu apakah ketiga sampel mempunyai varians yang sama (Sujarweni, 2012). Analisis selanjutnya menggunakan *Levene statistic* diperoleh nilai *Sig* 0,00 nilai $Sig < \alpha = 0,05$ menunjukkan bahwa data tidak homogen. Data dapat disimpulkan bahwa hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak daun melinjo terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* belum memenuhi persyaratan untuk dilanjutkan kedalam metode *One Way Anova*, dikarenakan dalam uji homogenitas varian data dikatakan tidak homogen.

5.11.2 Uji Statistik Stabilitas Sediaan Gel

Data perhitungan statistik dengan pengolahan data menggunakan SPSS 16, Uji normalitas pada sediaan gel daun melinjo menggunakan metode *Kolmogorov-Sminov*. Tujuan dilakukan uji normalitas adalah untuk mengetahui distribusi data dalam suatu variabel normal atau tidak. Uji normalitas pada dasarnya melakukan perbandingan data hasil uji dengan data yang berdistribusi normal yang memiliki mean dan standar deviansi yang sama dengan data uji. Data terdistribusi normal merupakan salah satu syarat dilakukannya *parametic test*. Data terdistribusi normal merupakan data yang memiliki sebaran yang sama dan dianggap bisa mewakili populasi (Supardi, 2014). Hasil data uji aktivitas antibakteri ekstrak daun melinjo terhadap *Staphylococcus aureus* menggunakan uji *Kolmogorov-Smirnov* diperoleh nilai *Sig* 0,64 nilai $Sig > \alpha = 0,05$ menunjukkan bahwa data terdistribusi normal. Data yang terdistribusi normal, dianalisis menggunakan *One Way Anova*. Asumsi *One-Way Anova* dilakukan dengan uji

homogenitas, pengujian homogenitas dilakukan dengan menggunakan *levene statistics* (Yamin dan Kurniawan, 2014). Uji homogenitas bertujuan untuk menguji berlaku tidaknya asumsi untuk ANOVA, yaitu apakah ketiga sampel mempunyai varians yang sama (Sujarweni, 2012). Analisis selanjutnya menggunakan *Levene statistic* diperoleh nilai *Sig* 0,84 nilai $Sig > \alpha = 0,05$ menunjukkan bahwa data homogen. Data yang terdistribusi normal dilanjutkan dengan analisis data menggunakan uji parametrik *One Way Analysis of Varians* (ANOVA) dengan tingkat keyakinan 95% dan nilai *Sig* 0,00 $Sig < \alpha = 0,05$. Hasil pengujian *One Way ANOVA* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna pada uji stabilitas sediaan gel.

5.11.3 Uji Statistik Aktivitas Antibakteri Gel Ekstrak Daun Melinjo terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

Data perhitungan statistik dengan pengolahan data menggunakan SPSS 16, Uji normalitas pada sediaan gel daun melinjo menggunakan metode *Kolmogorov-Sminorv*. Tujuan dilakukan uji normalitas adalah untuk mengetahui distribusi data dalam suatu variabel normal atau tidak. Uji normalitas pada dasarnya melakukan perbandingan data hasil uji dengan data yang berdistribusi normal yang memiliki mean dan standar deviansi yang sama dengan data uji. Data terdistribusi normal merupakan salah satu syarat dilakukannya *parametic test*. Data terdistribusi normal merupakan data yang memiliki sebaran yang sama dan dianggap bisa mewakili populasi (Supardi, 2014). Hasil data uji aktivitas antibakteri ekstrak daun melinjo terhadap *Staphylococcus aureus* menggunakan uji *Kolmogorov-Smirnov* diperoleh nilai *Sig* 0,82 nilai $Sig > \alpha = 0,05$ menunjukkan bahwa data terdistribusi normal. Data yang terdistribusi normal, dianalisis menggunakan *One Way Anova*. Asumsi *One-Way Anova* dilakukan dengan uji homogenitas, pengujian homogenitas dilakukan dengan menggunakan *levene statistics* (Yamin dan Kurniawan, 2014). Uji homogenitas bertujuan untuk menguji berlaku tidaknya asumsi untuk ANOVA, yaitu apakah ketiga sampel mempunyai varians yang sama (Sujarweni, 2012). Analisis selanjutnya menggunakan *Levene statistic* diperoleh nilai *Sig* 0,06 nilai $Sig > \alpha = 0,05$ menunjukkan bahwa data homogen. Data yang terdistribusi normal dilanjutkan dengan analisis data

menggunakan uji parametrik *One Way Analysis of Varians* (ANOVA) dengan tingkat keyakinan 95% dan nilai *Sig* 0,00 $Sig < \alpha = 0,05$. Hasil pengujian *One Way ANOVA* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna pada sediaan gel ekstrak daun melinjo dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian tentang Uji Aktivitas Antibakteri Gel Ekstrak Daun Melinjo (*Gnetii gnemonii Folium*) terhadap *Staphylococcus aureus* secara *In Vitro*, maka dapat disimpulkan bahwa :

1. Ekstrak daun melinjo mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.
2. Konsentrasi ekstrak etanol daun melinjo yang paling efektif terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* adalah konsentrasi ekstrak 80%.
3. Sediaan gel ekstrak daun melinjo konsentrasi 80% memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* namun gel tidak stabil dalam penyimpanan.

6.2 Saran

Setelah dilakukan penelitian Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Melinjo (*Gnetii gnemonii Folium*) terhadap *Staphylococcus aureus* secara *In vitro*, maka peneliti menyarankan untuk diadakan penelitian lebih lanjut tentang :

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mendapatkan kepastian kandungan kimia yang terkandung dalam ekstrak etanol daun melinjo yang menyebabkan efek antibakteri dengan metode identifikasi yang lebih spesifik.
2. Dapat dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengembangan bentuk sediaan farmasi selain gel sehingga dapat digunakan sebagai antibakteri terhadap bakteri lain dan menjadi alternatif penyakit akibat infeksi bakteri yang dapat digunakan secara mudah oleh masyarakat misalnya krim ataupun salep.

3. Perlu dilakukan penelitian sejenis dengan menggunakan mikroorganisme patogen yang lain untuk mengetahui kemampuan daun melinjo sebagai zat antibakteri atau antifungi

DAFTAR PUSTAKA

- Agoes, G. 2007. *Teknologi Bahan Alam*. Penerbit ITB. Bandung.
- Ajizah, A. 2004. Sensitivitas *Salmonella Typhimurium* Terhadap Ekstrak Daun *Psidium Guajava L. Bioscientiae*, Vol.1, No.1 : 31-8
- Akbar, H.R. 2010. Isolasi dan Identifikasi Golongan Flavonoid Daun Dandang Gendis (*Cinacanthus nutans*) Berpotensi sebagai Antioksidan. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor.
- Al Hanif, M. Shiddiq. 2009. Pola Resistensi Bakteri dari Kultur Darah Terhadap Golongan Penisilin di Laboratorium Mikrobiologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia Tahun 2001-2006. *Skripsi*. Fakultas kedokteran Universitas Indonesia: Jakarta
- Alfianika, N. 2016. *Penelitian Pengajaran Pahasa Indonesia*. Yogyakarta: PT. CV Budi Utama.
- Ansel, 198. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Terjemahan: Farida Ibrahim. Edisi 4. UI Press: Jakarta, 212-217.
- Ansiah SW. 2014. Formulasi Sediaan Gel Antiseptik Fraksi Polar Daun Kesum. *Skripsi*. Universitas Tanjungpura: Pontianak.
- Arifin, Helmi, Anggraini, Nelvi, Handayani, Dian, dan Rasyid, Roslinda. 2006. *Standarisasi Ekstrak Etanol Daun Eugenia Cumini Merr. J. Sains Tek. Farmasi*.
- Astuti, J., Rudiyanisya, dan Gusrizal.,2013. Uji fitokimia dan aktivitas antioksidan tumbuhan paku uban (*Nephrolepis biseratta (Sw) Schhott*), *JKK*, 2(2):118-122.
- Barel, A.O., Paye, M., Maibach, H.I. 2009. *Handbook of Cosmetic Science and Technology*. 1th edition. Marcel Dekker, Inc. New York. pp. 453 –455
- Brooks, G. F, Carroll, K. C, Butel, J. S, & Morse, S. A. 2007. *Jawetz, Melnick & Adelberg's medical microbiology* (24th ed.). United States of America: McGraw-Hill.
- Brooks, G. F., Butel, J. S. and Morse, S. A., 2005. *Medical Microbiology*. Terjemahan oleh Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Salemba Medika. Jakarta.
- Brooks, G. F., Carroll, K. C., Butel, J. S., & Morse, S. A. 2012. *Jawetz, Melnick & Adelberg Mikrobiologi kedokteran* (ed. 25). Jakarta: EGC.
- Brunton, L., K. Parker, D. Blumenthal, L. Buxton. 2008. *Goodman dan Gilman's Manual of Pharmacology and Therapeutic*. New York: Mc Graw Hill.
- Dahlan S. 2008. *Statistik Untuk Kedokteran dan Kesehatan*. Jakarta: Salemba Medika.
- Departemen Kesehatan R.I. 2007. *Kebijakan Obat Tradisional*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Keputusan Menteri Kesehatan 381/Menkes/SK/III/ 2007.
- Departemen Kesehatan RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan Direktorat Pengawasan Obat Tradisional. Jakarta, 17, 31-32.

- Departemen Kesehatan RI. 1994. Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 661/MENKES/SK/VII/1994 tentang *Persyaratan Obat Tradisional*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Departemen Kesehatan RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan Direktorat Pengawasan Obat Tradisional. Jakarta, 17, 31-32.
- Departemen Kesehatan RI. 2012. *Permenkes RI Nomor 006 Tahun 2012 tentang Industri dan Usaha Obat Tradisional*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Depkes RI. 1989. *Pemanfaatan Tanaman Obat*. Edisi III. Jakarta: Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan.
- Depkes RI., 2011. *Informatorium Obat Nasional Indonesia*. Dirjen Pengawasan obat dan makanan, Jakarta.
- Depkes, RI. 1985. *Farmakope Indonesia*. Jakarta: Ditjen POM
- Dia. S, Nurjanah dan Jacob. A. 2015. Komposisi Kimia dan Aktivitas Antioksidan Akar, Kulit Batang dan Daun Lindur. *JPHPI*. Vol.18, No.2, p 212-213.
- Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- Djajadisastra J. *Pegangan Ilmu Pengetahuan Kosmetik*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta:2007. hlm 6.
- Dzen, S. M., 2003. *Bakteriologi Medik*. Malang: Bayumedia.
- Elevitch dan Craig. 2006. *Traditional Trees of Pacific Islands: Their Culture, Environment, and Use*, Permanent Agriculture Resources. USA 386-392.
- Entjang, I. 2003. *Mikrobiologi Dan Parasitologi Untuk Akademi Perawat dan Sekolah Tenaga Kesehatan yang Sederajat*. Bandung: PT. Citra bakti.
- Fatisa, Y dan Endah. 2013. Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit dan Biji Buah Pulasan (*Nepheleium mutabile*). ISBN 978-602-7902-34-3. *Prosiding Seminar Nasional*. Jambi: IAIN Sultan Thaha Saifuddin.
- Fessenden, R. J., Fessenden, J. S. (1999). *Kimia Organik*. Jilid 1, edisi ketiga. Penerbit Erlangga: Jakarta.
- Ganiswara. 1995. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi 4. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Garg, A., D. Aggarwal, S. Garg, and A. K. Sigla. 2002. Spreading of Semisolid Formulation: An Update. *Pharmaceutical Tecnology*. September: 84-102.
- Goldsmith LA, Katz SI, Gilchrest BA, Paller AS, Leffell DJ, Wolf K, editors. *Fitzpatrick's dermatology in general medicine*. 8th ed. New York: Mc Graw Hill; 2012. p. 3587-91.
- Gunawan, D. 2010. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi)*. Jilid I. Edisi II. Jakarta. Penebar Swadaya. p.9
- Guntur, A. 2007. *The Role of Cefepime Empirical Treatment in Critical Illness*. *Jurnal Dexa Media* . 2(20). 59-62.

- Handa, Swami, S., Khanuja, S. P. S., Longo, G., & Rakesh, D. D. 2008. *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants*. Trieste: International Centre for Science and High Technology.
- Handayani, Hika Citra. Pengaruh Peningkatan Konsentrasi Ekstrak Etanol 96% Biji Alpukat (*Persea americana Mill*) Terhadap Formulasi Sabun Padat Transparan. Jakarta: *Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah*. 2009.
- Harborne, J.B. *Metode Fitokimia*. edisi ke-2. Bandung: ITB.2006.
- Hariana, H.A. 2008. *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya Seri 2*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Harmita, & Radji, M. 2008. *Buku ajar analisis hayati*. Jakarta: EGC.
- Haryato. 1998. *Teknologi Tepat Guna Membuat Emping Melinjo*. Kanisius. Yogyakarta, hal. 13.
- Heinrich, Michael, Barnes, Joanne, Gibbons, Simon, Williamso, Elizabeth M. 2004. *Fundamental of Pharmacognosy and Phytotherapi*. Hungary: Elsevier.
- Helal DA, DA El-Rhman, SH Abdel-Halim, MA El-Nabarawi. 2012. Formulation and Evaluation of Floconazole Topical Gel. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 4(5). 176-183.
- Hendrawan, Zuraida, I., Pramungkas, B.F. 2015. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol *Xylocarpus granatum* dari Pesisir Muara Badak. *Jurnal Ilmu Perikanan Tropis*. Vol. 20, No.2, p. 16.
- Hendriati, L. 2013. *Compounding dan Dispensing*. Edisi I. Yogyakarta: Graha Ilmu. Yogyakarta.
- Herdiana, Y. 2007. Formulasi Gel *Undesilenil Fenilalanin* dalam aktivitas sebagai pencerah kulit. *Karya Ilmiah*. Fakultas Farmasi Unipad Jatinangor.
- Hunter Jihn, Savin John, Dahl Mark. 2002. *Clinical Dermatology* 3rd ed. Massachusetts: Blackwell Science, Inc. p:148-156.
- Ibrahim, S. dan Marham, S., 2013. *Teknik Laboratorium Kimia Organik*. Graha Ilmu: Yogyakarta.
- Ida N, SF Noer. 2012. Uji Stabilitas Fisik Gel Ekstrak Lidah Buaya (*Aloe vera L.*). *Majalah Farmasi dan Farmakologi* 16(2). 79-84.
- Indriyanti, CP. 2013. Identifikasi Komponen Minyak Atsiri pada Beberapa Tanaman dari Indonesia yang Memiliki Bau Tak Sedap. Skripsi. Bandung: Universitas Pendidikan Indonesia.
- Ismiati, N dan Trilestari. 2014. Pengembangan Formulasi Masker Ekstrak Air Daun Alpukat (*Persea americana mill*) sebagai Antibakteri *Staphylococcus aureus* untuk Pengobatan Jerawat. *Pharmaciana*. Vol. 4, No 1, p 45-52.
- Jawetz, E, J. melnick, *et al.*, 2006. *Mikrobiologi Kedokteran*. EGC. Jakarta.
- Jawetz, M dan Adelberg's. 2008. *Mikrobiologi Kedokteran. Buku Kedokteran EGC*. Jakarta.
- Jawetz, Melnick dan Adelberg. 1996. *Mikrobiologi Kedokteran*, edisi 20. EGC. Jakarta.

- Jenie, B.S.L. dan Kuswanto. 1994. Aktivitas antimicroba dari pigmen angkak yang diproduksi oleh *Monascus purpuraceus* terhadap beberapa mikroba patogen dan perusak makanan. *Prosiding Pertemuan Ilmiah Tahunan Permi*.
- Juliantina FR. 2008. *Manfaat Sirih Merah (Piper crocatum) Sebagai Agen Anti Bakterial Terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif*. *JKKI*. 1(3): 5-8.
- Kato E, Tokunaga Y, Sakan F. 2009. Stilbenoids isolated from the seeds of melinjo (*Gnetum Gnemon L.*) and their biological activity. *J Agric Food Chem*. 57(6): 2544-2549.
- Kato H, Samizo M, Kawabata R, Takano F, Ohta T. 2011. Stilbenoids from the melinjo (*Gnetum Gnemon L.*) fruit modulate cytokine production in murine peyer's patch cells ex vivo. *Planta Med*. 77(10):1027-1034.
- Kazdin, A. E., 1992. *Research design in clinical psycholog*. Second Edition. Boston: Allyn and Bacon.
- Khan MR, Omoloso AD, Kihara M. 2003. *Antibacterial Activity of Artocarpus Heterophyllus*. *Fitoterapia*. 74(5): 501-505.
- Kining E. 2015. *Aktivitas Antibiofilm Ekstrak Air Daun Melinjo, Daun Singkong dan Daun Papaya terhadap Bakteri Pseudomonas aeruginosa secara In Vitro*. *Skripsi*. Bogor. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor; 2015. h 9-25.
- Koirewoa, Y. A., Fatimawali, W. I. Wiyono. 2012. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dalam Daun Beluntas (Pluchea indica L.)*. *Laporan Penelitian*. FMIPA UNSRAT. Manado.
- Kristanti, A. N., N. S. Aminah, M. Tanjung, dan B. Kurniadi. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Kusumaningsih, et al. 2015. Pengurangan Kadar Tanin Pada Ekstrak Stevia Rebaudiana dengan Menggunakan Karbon Aktif. *AL CHEMY Jurnal Penelitian Kimia*, 11(1): 85.
- Lachman, L., Lieberman, H. A., and Kanig, J. L. 1994. *Teori dan Praktek Farmasi Industri*. Edisi III. Diterjemahkan Oleh Suyatmi, S. Universitas Indonesia press, Jakarta.
- Lachman, L., Lieberman, H.A., dan Kanig, J.L. 1989. *Teori dan Praktek Farmasi Industri I*, Edisi III. terjemahan Siti Suyatmi. UI Press, Jakarta.
- Manner HI, Elevitch CR. 2006. *Gnetum Gnemon (gnetum)*. In: *Traditional trees of specific islands: their culture, environment and use*. Holualoa: CR Elevitch.
- Mappa T, Hosea JE, Novel K. 2013. Formulasi Gel Ekstrak Daun Sasaladahan (*Peperomia pellucid L.*) dan Uji Efektivitasnya terhadap Luka Bakar pada Kelinci (*Oryctolagus Cuniculus*). *Pharmakon*. 2(2). 49-55.
- Marliana, S. D., V. Suryanti, dan Suyono. 2005. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule Jacq. Swartz.*) dalam Ekstrak Etanol. *Biofarmasi*, 3 (1). Pp. 26-31.
- Masniari P, Praptiwi. 2010. *Uji aktivitas antibakteri ekstrak kulit buah manggis (Gardnia mangostana Linn)*. *Media Litbang Kes*. 20(2): 65-69.

- Mukul, S., Surabhi, K., dan Atul, N. 2011. Cosmecuetical for the Skin:an Overview.*Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 4(2):1.
- Mustika, K dan Ariyani, D. 2010. Skrining Fitomia Ekstrak Metanol Biji Kalangkala (*Litsea angulata*).*Sains dan Terapan Kimia*. Vol.4, No. 2, 131-136
- Ningtyas, Rina. 2010. Uji Antioksidan dan Antibakteri Ekstrak Air Daun Kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack) R.M. Smith). *Skripsi*. Jakarta: Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.
- Noor, J.2017. *Metodologi Penelitian*. Jakarta: PT. Kencana.
- Nugrahani, R. 2015. Analisis Potensi Serbuk Ekstrak Buncis (*Phaseolus vulgaris L.*) sebagai Antioksidan. *Tesis S2*. Universitas Mataram.
- Nurchayati, A. (2010). Evaluasi pH ekstrak daun the (*Camellia sinensis*) terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*. Banda Aceh (*skripsi*) Program studi FK Unsyiah.
- Octavia, D. R. 2009. Uji Aktivitas Penangkap Radikal ekstrak petroleum Eter, Etil Asetat dan Etanol Daun binahong (*Anredera Cordifolia* (Tenore) Steen) dengan Metode DPPH (2,2- difenil-1-pikrilhidrazil). *Skripsi*. Sarjana Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Oonmetta-aree, J. S. 2005. *Antimikrobiaal properties and action of galanga. L* (*Alpinia galanga Linn.*) on *Staphylococcus aureus*. *LWT*, 1214-1220.
- Padmasari, P D., Astuti, K W., Warditiani, N K. 2013. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 70% Rimpang Bangle (*Zingiber purpureum Roxb.*). *Jurnal Farmasi Udayana* 2 (4): 1-4.
- Panjaitan EN, A. Saragih, W dan D. Purba. Formulasi gel dari ekstrak rimpang jahe merah (*Zingiber officinale Roscoe*). *Journal of Pharmaceutics and Pharmacology*. 2012;1(1): 9-20.
- Paris, R. et Moyse H., 1976. *Precis de Matiere Medicale*. Tom I. Deuxieme edition revisee. Masson. Paris. 105 hal.
- Pelczar, M dan Chan.1998. *Dasar-Dasar Mikrobiologi Jilid 1*. Jakarta:UI Press.
- Pelczar, M dan Chan.2008. *Dasar-Dasar Mikrobiologi 1*. Jakarta: UI Press.
- Pelczar, M. J., Chan, E. C. S.1988. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Pena, L. E.1990. *Gel Dosage Forms:Theory, Formulation, and Processing*, in Osborne, D.W., Amann, A.H., (Eds), *Topical Drug Delivery Formulations*, Marcell Dekker Inc., New York, hal 381.
- Pertiwi, Nursitasari.2010. *Uji Aktivitas Antibakteri dan Mekanisme Hambat Ekstrak Air Campuran Daun Piper Betle L Terhadap Bakteri Uji*. Jurusan Farmasi. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. UIN Syarif Hidayatulloh. Jakarta
- Prajitno, Arief. 2007. Uji Sensitifitas Flavonoid Rumpun Laut (*Eucheuma cottoni*) Sebagai Bioaktif Alami Terhadap Bakteri *Vibrio Harveyi*. *Skripsi*. Fakultas Perikanan, Universitas Brawijaya.
- Praptiwi., dan M. Poeloengan. 2010. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Manggis*. *Media Litbag Kesehatan Volume XX Nomor 2*.

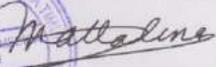
- Prashant, *et.al.* 2011. Phytochemical Screening and Extraction. *Internationale Pharmaceutica Scientia*. 1(1): 1-9.
- Pratiwi, Silvyia. T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Erlangga.
- Prayitno E, Nuryandani E.2011, Optimalisasi Ekstraksi DNA Jarak Pagar (*Jatropha curcas*) Melalui Pemilihan Daun yang Sesuai, *Bioteknologi 8 (1)*:24-31.
- Prayoga, E.2013. Perbandingan Efek Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle L.*) Dengan Metode Difusi Disk dan Sumuran Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Skripsi*. Jakarta: Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.
- Purba, R.D. 2001. Analisis Komposisi Daun Biji Bunga Matahari, IPB, Bogor.
- Purnomosidhi P, Suparman, JM Roshetko dan Mulawarman. 2007. *Perbanyakan dan Budidaya Tanaman Buah-Buahan. Pedoman lapang edisi kedua. Word Agroforestry Centre (ICRAF) dan Winrock International*. Bogor, Indonesia. 42p.
- Purwanto, Sigit. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Aktif Ekstrak Daun Senggani (*Melastoma malabathricum L*) terhadap *Escherichia coli*. *Jurnal Keperawatan Sriwijaya*, 2 (2).
- Radji, M. 2010. *Buku Ajar Mikrobiologi: Panduan mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. Jakarta: EGC.
- Rauha JP, Remes S, Heinonen M, Hopia A, Kahkonen M, Kujala T, Pihlaja K, Vuorela H, Vuorela P. 2000. Antimicrobial effects of finish plant extracts containing flavonoids and other phenolic compounds. *Int. J Food Microbiol*. 56(1): 3-12.
- Retnowati, Y., Bialangi, N. dan Posangi, N. W., 2011, Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Pada Media yang Diekspos Dengan Infus Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*), *Saintek*, Vol 6, No 2: 1-9.
- Rowe, R.C., Sheskey, P.J., Quinn, M.E. 2009. *Handbook of Pharmaceutical Excipient*. 6th Edition. Pharmaceutical Press, London p. 110 –113, 283 – 286, 592 –594.
- Saifudin, A. *et al.* 2011. *Standarisasi Bahan Obat Alam*. Edisi Pertama. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Salisia.S., Khusnan dan Sugiyono. 2009. *Distribusi Gen Enterotoksin Staphylococcus aureus dari Susu Segar dan Pangan Asal Hewan*. Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. Vol. 10 No 3: 111-117.
- Sampurno. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Departemen Kesehatan.
- Sani, K. (2016). *Metode Penelitian Farmasi Komunitas dan Eksperimental*. Yogyakarta: PT CV Budi Utama.
- Santoso M, Naka Y, Angkawidjaja C, Yamaguchi T, Matoba T, Takamura H. 2010. *Antioxidant and DNA damage prevention activities of the edible parts of Genetum gnemon and their changes upon heat treatment*. *Food Sci Technol Res*. 16(6):549-556.

- Shaughnessy, Zechmeister, J. S. 1997. *Research Method Physiology* (5 th ed), Boston, Mc Graw-Hill, Inc
- Sineke *et al.* 2016. Penentuan Kandungan Fenolik Dan Sun Protection Factor (Spf) Dari Ekstrak Etanol Dari Beberapa Tongkol Jagung (*Zea Mays L.*). *PHARMACON Jurnal Ilmiah Farmasi –UNSRAT* Vol. 5 No. 1. Hal. 275-283.
- SNI, 1996.SNI. 16-4399-1996 Sediaan Tabir Surya. *Dewan Standarisasi Nasional*. Jakarta.
- Sujarweni, V. W. (2012). *SPSS untuk Paramedis*. Yogyakarta: Gava Medika.
- Sunanta, H. 1994. *Budidaya Melinjo dan Usaha Produksi Emping*. Kanisius. Yogyakarta, p. 17-18.
- Sundari, I 2010. Identifikasi Senyawa Dalam Ekstrak Etanol Biji Buah Merah (*Pandanus conoideus Lamk*). *Skripsi*. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Supardi. 2014. *Kinerja Guru*. Jakarta: PT Raja Grafindo Persada.
- Suryanto, E., Wehantouw, F. 2009. Aktivitas Penangkal Radikal Bebas dari Ekstrak Fenolik Daun Sukun (*Artocarpus altilis F.*). *Chemistry Progress*. 2:1-7
- Susanto, Sudrajat D, Ruga R. 2012. Studi kandungan bahan aktif tumbuhan meranti merah (*Shorea leprosula Miq*) sebagai sumber senyawa antibakteri. *Mulawarmnan Scientific*. 11(2):181-90.
- Suwandi, T. 2012. Pengembangan Potensi Antibakteri Kelopak Bunga *Hibiscus Sabdariffa L.* (Rosela) Terhadap *Streptococcus Sanguinis* Penginduksi Gingivitis Menuju Obat Herbal Terstandar. *Disertasi*. Program Doktor Ilmu Kedokteran Gigi Universitas Indonesia.
- Syahrurahman A, Chatim A, Soebandrio A, Karuniawati A, Santoso A, Harun B. 2010. *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi Revisi. Binarupa Aksara Publisher. Jakarta.
- Syamsuni, H.A. 2007. *Ilmu Resep*. Jakarta: EGC.
- Taroreh, N., *et al.* Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Melinjo (*Gnetum gnemon L.*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans*. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. Vol.5, No.3, p. 160.
- Tiwari, Kumar, Kaur Mandeep, Kaur Gurpreet dan Kaur Harleem. 2011. Phytochemical Screening and Extraction: A Review. *Internationale Pharmaceutica Scientia* vol. 1: issue 1.
- Tjirosoepomo, G. 2004. *Taksonomi Tumbuhan (spermatophyte)*. Cetakan ke delapan. UGM press. Hal 244.
- Tobo, F., 2001, *Buku Pegangan Laboratorium Fitokimia I*, Fakultas MIPA, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Tranggono RI dan Latifah F. 2007. *Buku Pegangan Ilmu Pengetahuan Kosmetik*. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta; Hal. 11, 90-93, 167.
- Tunjungsari, D., 2012, Formulasi Sediaan Gel ekstrak etanolik buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa (Scheff) Boerl.*) dengan Basis Carbomer, *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.

- Uboh FE, Okon IE, Ekong MB. 2010. *Effect of aqueous extract of Psidium guajava leaves on liver, enzymes, histological integrity and hematological indices in rats*. Gastroenterol Res. 3(1): 32-38.
- Vandepitte, J., J. Verhaegen, K. Engbaek, P. Rohner, P. Piot, C. C Heuck. 2011. *Prosedur Laboratorium Dasar untuk Bakteriologi Klinis*. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Voigt, R, 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. edisi 5. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Volk, W.A., dan Wheeler, M.F. 1988. *Mikrobiologi Dasar. Jilid II*. Terjemahan Soenartomo Adisoemarto. Penerbit Erlangga. Jakarta.
- WHO. 2006. *Monitoring of Antimicrobial Resistance*. Project: ICP BCT 001. Report of an Intercountry Workshop Vellore, Tamil Nadu. India.
- Widjaja EA, Rahayuningsih Y, Rahajoe JS, Ubaidillah R, Maryanto I, Walujo EB, Semiadi G. 2014. *Kekinian Keanekaragaman Hayati Indonesia*. LIPI Press, Kementerian Lingkungan Hidup dan Bappenas.
- Widodo, H. 2013. *Ilmu Meracik Obat untuk Apoteker*. D-Medika. Jogjakarta.
- Winarto, W.P. 2004. *Memfaatkan Aneka Tanaman Sayur Untuk Mengatasi Berbagai Penyakit*. Agro Media Pustaka. Jakarta, hal. 42-43.
- Yamin, S., & Kurniawan, H. 2014. *SPSS Complete Teknik Analisis Terlengkap dengan Software SPSS*. Jakarta: Salemba Infotek.
- Yasni, S., Syammsir, E., dan Direja, E. 2009. Antimicrobial Activity of Black Cumin Extract (*Nigella sativa*) Against Food Pathogenic and Spoilage Bacteria. *Microbiology Indonesia*. (3). hal 146-150.
- Yusriana *et al.* 2014. Uji Daya Hambat Infusa Daun Nangka (*Artocarpus heterophyllus*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*.
- Zats, J.L., dan Kushla, G.P. 1996. Gels in Lieberman, H.A., Lachman, L., and Schwartz, J.B., *Pharmaceutical Dosage Forms: Dispers System*, Vol. 2, 2nd edition, Marcel Dekker, Inc. New York, p. 399–405, 408–409, 415.

LAMPIRAN

LAMPIRAN 1 : Surat Determinasi

	PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR DINAS KESEHATAN UPT MATERIA MEDICA BATU Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396 KOTA BATU 65313
Nomor	: 074/39A/102.7/2018
Sifat	: Biasa
Perihal	: <u>Determinasi Tanaman Melinjo</u>
Memenuhi permohonan saudara :	
Nama	: TRI KURNIA ASTUTIK
NIM	: 1413206037
Instansi	: STIKES KARYA PUTRA BANGSA TULUNGAGUNG
1. Perihal determinasi tanaman melinjo	
Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)
Subkingdom	: Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi	: Spermatophyta (Menghasilkan biji)
Divisi	: Gnetophyta
Kelas	: Gnetopsida
Ordo	: Gnetales
Famili	: Gnetaceae
Genus	: Gnetum
Spesies	: <i>Gnetum gnemon</i> L.
Sinonim	: <i>Gnetum ovifolium</i> Poir.
Nama Umum	: Belinjo, melinjo, mlinjo, tangkil, genemon (Indonesia), ekokyu (Enggano), mulieng (Aceh), batang baguak (Minangkabau), maninjo (Sunda), mlinjo (Jawa Tengah), maninjo (Bali), blinjo (Sasak), ai howa (Sumba), bohu (Gorontalo), bagu (Buol), suwa (Bugis), suwa (Ambon), utramal (Buru), loi (Halmahera).
Kunci Determinasi	: 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14b-16a-239b-243b-244b-248b-249a-1.
2. Morfologi : Habitus: Pohon, tahunan, tinggi ± 15 m. Batang: Bulat, keras, bercabang-cabang, mudah patah, bekas cabang terlihat jelas, hijau kehitam-hitaman. Daun: Tunggal, berhadapan, bulat telur, ujung runcing, tepi rata, pangkal membulat, panjang 10-15 cm, lebar 5-10 cm, pertulangan menyirip, tangkai ± 5 cm, hijau. Bunga: Majemuk, bentuk bulir, tumbuh di ketiak daun, panjang 6-10 cm, hijau kekuningan. Buah: Batu, elips, panjang 2-3 cm, masih muda hijau setelah tua merah. Biji: Keras, kulit bergaris membujur, berdaging, coklat muda. Akar: Tunggang, coklat.	
3. Nama Simplisia	: Gnetii gnemonii Folium / Daun Melinjo.
4. Kandungan	: Biji dan daun mengandung saponin dan flavonoida.
5. Penggunaan	: Penelitian.
6. Daftar Pustaka	<ul style="list-style-type: none">- Anonim. http://www.plantamor.com/index.php?plant=633, diakses tanggal 5 Desember 2008.- Anonim. http://www.warintek.ristek.go.id/pangan_kesehatan/tanaman_obat/depkes/1-135.pdf, diakses tanggal 11 Desember 2010.- Syamsuhidayat, Sri Sugati dan Johny Ria Hutapea. 1991. <i>Inventaris Tanaman Obat Indonesia I</i>. Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.- Van Steenis, CGGJ. 2008. <i>FLORA: untuk Sekolah di Indonesia</i>. Pradnya Paramita, Jakarta.
Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.	
Bat, 30 Januari 2018 Kepala UPT Materia Medica Batu  Dr. Husin R.M., Drs., Apt., M.Kes. NIP. 19611102 199103 1 003	

LAMPIRAN 2 : Surat Pembelian Isolat Bakteri

SURAT PERNYATAAN

SAYA YANG BERTANDA TANGAN DIBAWAH INI :

NAMA : ANGGIATI AMBARSARI

ALAMAT : KANIGORO, BLITAR

INSTITUSI : STIKES KARYA PUTRA BANGSA TULUNGAGUNG

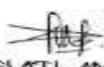
DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA SAYA MENGETI DAN MEMAHAMI AKIBAT DARI ISOLAT BAKTERI / JAMUR¹⁾

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

TERHADAP SAYA, ORANG DISEKITAR SAYA DAN LINGKUNGAN SAYA, SAYA MENGGUNAKAN ISOLAT BAKTERI / JAMUR²⁾ DIATAS HANYA UNTUK KEPERLUAN PENELITIAN

DENGAN INI SAYA MENYATAKAN BAHWA SAYA AKAN MEMPERLAKUKAN ISOLAT BAKTERI / JAMUR³⁾ TERSEBUT DENGAN SANGAT MEMPERHATIKAN BIOSAFETY DAN BIOSECURITY SELAMA ISOLAT BAKTERI TERSEBUT ADA PADA SAYA.

YANG MEMBUAT PERNYATAAN


 (ANGGIATI AMBARSARI)


 (TA Anita Sari, S.Epm., Apt)

Ket :
¹⁾ Coret yang tidak perlu
 Surat pernyataan harus dibubuhi dengan stempel resmi institusi

LAMPIRAN 3: Hasil Perhitungan

1. Perhitungan Kadar Air

$$\text{Kadar Air} = \frac{\text{Bobotsimplisiasebelumdioven} - \text{bobotsimplisiasesudahdioven}}{\text{Bobotsimplisiasebelumdioven}}$$

$$\text{Kadar Air} = \frac{9,94 - 9,03}{9,94} \times 100\% = 9,15\%$$

2. Perhitungan Hasil Ekstraksi Maserasi

$$\text{Rendemen Ekstrak} = \frac{\text{BeratEkstrakKental}}{\text{BeratSerbukSimplisia}} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen Ekstrak} = \frac{69,13 \text{ gram}}{500} \times 100\% = 13,8 \%$$

3. Perhitungan Pembuatan NB

$$\text{Perhitungan Pembuatan NB} = \frac{0,8 \text{ gram}}{100} \times 10 \text{ ml} = 0,05 \text{ gram}$$

4. Perhitungan Pembuatan NA

$$\text{Perhitungan Pembuatan NA} = \frac{20}{1000} \times 30 \text{ ml} = 0,6 \text{ gram}$$

5. Perhitungan Konsentrasi Ekstrak

$$\text{Ekstrak } 50\% = \frac{50\%}{100} \times 3 \text{ ml} = 1,5 \text{ gram}$$

$$\text{Ekstrak } 60\% = \frac{60\%}{100} \times 3 \text{ ml} = 1,8 \text{ gram}$$

$$\text{Ekstrak } 70\% = \frac{70\%}{100} \times 3 \text{ ml} = 2,1 \text{ gram}$$

$$\text{Ekstrak } 80\% = \frac{80\%}{100} \times 3 \text{ ml} = 2,4 \text{ gram}$$

6. Perhitungan Bahan Pembuatan Gel Tanpa Ekstrak

$$\text{CMC Na} = \frac{3\%}{100} \times 20 = 0,6 \text{ gram}$$

$$\text{Propilenglikol} = \frac{15\%}{100} \times 20 = 3 \text{ gram}$$

$$\text{Gliserin} = \frac{10\%}{100} \times 20 = 2 \text{ gram}$$

$$\text{Metilparaben} = \frac{0,25\%}{100} \times 20 = 0,05 \text{ gram}$$

$$\text{Air panas untuk CMC Na} = 20 \times 0,6 = 12 \text{ ml}$$

$$\text{Aquadest} = 20 - (0,6 + 3 + 2 + 0,05 + 12)$$

$$= 20 - 17,65$$

$$= 2,35 \text{ ml}$$

7. Perhitungan Gel Ekstrak Daun Melinjo Konsentrasi 80%

$$\text{Ekstrak } 80\% = \frac{80\%}{100} \times 3\text{ml} = 2,4 \text{ gram}$$

$$\text{CMC Na} = \frac{3\%}{100} \times 20 = 0,6 \text{ gram}$$

$$\text{Gliserin} = \frac{10\%}{100} \times 20 = 3 \text{ gram}$$

$$\text{Metilparaben} = \frac{0,25\%}{100} \times 20 = 0,05 \text{ gram}$$

$$\text{Air panas untuk CMC} = 20 \times 0,6 = 12 \text{ ml}$$

$$\text{Aquadest} = 20 - (2,4 + 0,6 + 3 + 0,05 + 12)$$

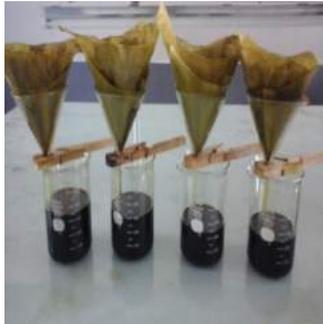
$$= 20 - 18,05$$

$$= 1,95 \text{ ml}$$

8. Hasil Uji Sifat Fisik dan Stabilitas Gel Ekstrak Daun Melinjo

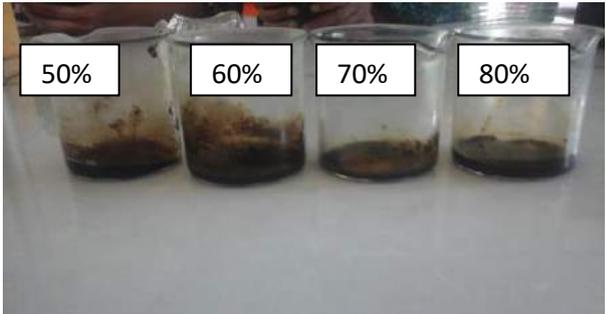
Karakteristik	Hasil Evaluasi Gel			
	Minggu ke-1	Minggu ke-2	Minggu ke-3	Minggu ke-4
Uji pH	pH 6	pH 5	pH 5	pH 5
Organoleptis				
-Bentuk	-Kental	-Kental	-Kental	-Kental
-Warna	-Coklat tua	-Coklat tua	-Coklat tua	-Coklat tua
-Bau Sediaan	-Bau khas	-Bau khas	- Bau khas	- Bau khas
Homogen	Sediaan homogeny	Sediaan homogen	Sediaan homogen	Sediaan homogen
Uji Daya Sebar	5 cm	5,2 cm	5,7 cm	5,9 cm
Uji Daya Lekat	1,23 detik	1,08 detik	0,58 detik	0,50 detik
Uji Daya Proteksi	Tidak timbul warna kemerahan			

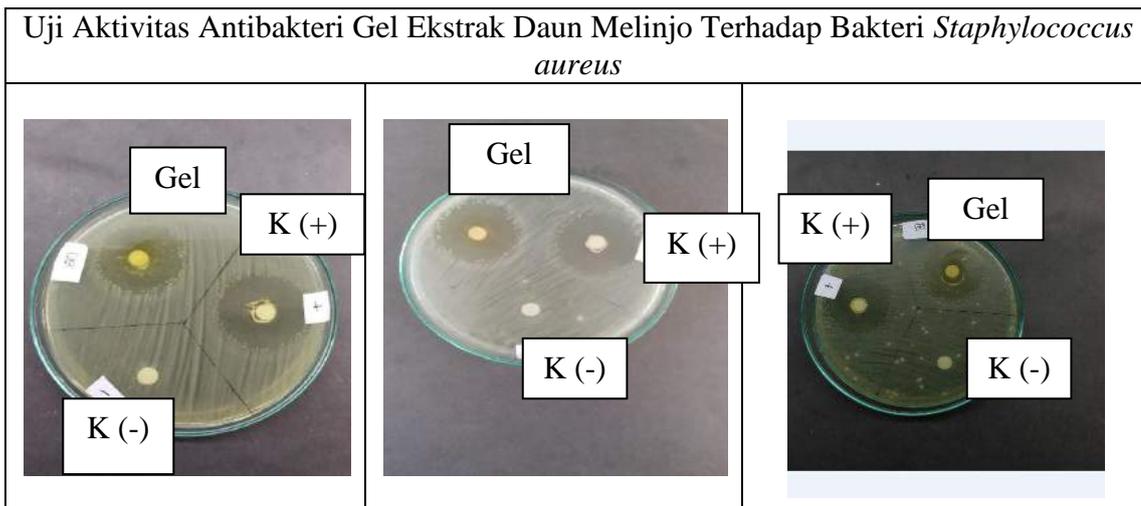
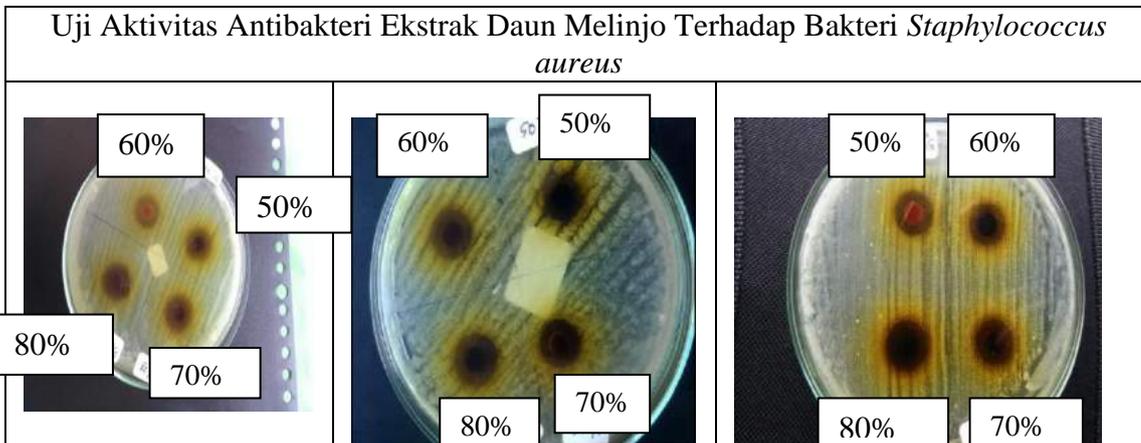
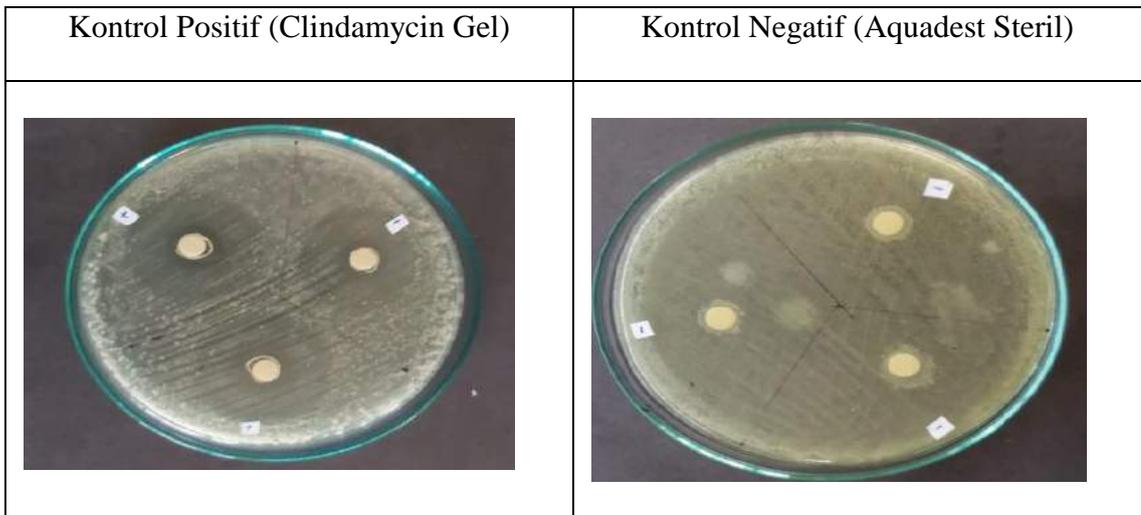
LAMPIRAN 4: Maserasi, Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Amtibakteri

Simplisia Daun melinjo	Pengeringan dengan Sinar Matahari	Serbuk Halus Daun Melinjo
		
Maserasi Daun Melinjo	Penyaringan Maserat Etanolik Daun Melinjo	Ekstrak Kering Daun Melinjo
		
Uji Alkaloid	Uji Flavonoid	Uji Tanin
		

Uji Terpenoid	Uji Bebas Etanol	Uji Kadar Air
		

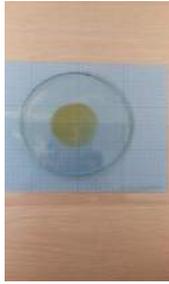
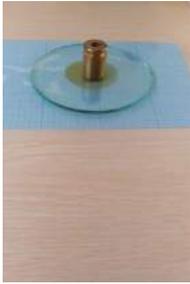
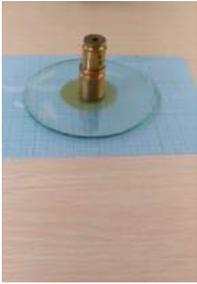
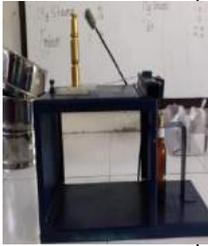
Media Nutrient Agar	Media Nutrient Broth	Suspensi Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>
		

Basis Gel Tanpa Ekstrak	Konsentrasi Ekstrak Daun Melinjo
	



Lampiran 5: Uji Stabilitas Sediaan Gel Ekstrak Daun Melinjo

Uji Stabilitas Sediaan Gel				
Perlakuan	Minggu ke-1	Minggu ke-2	Minggu ke-3	Minggu ke-4
Uji pH				
Uji Homogenitas				
Uji Proteksi				

Uji Daya Sebar				
Uji Organoleptis				
Uji Daya Lekat				

Lampiran 6: Uji Statistik Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Melinjo

NPART TESTS

/K-S(NORMAL)=Variasi ekstrak daun melinjo

/STATISTICS DESCRIPTIVES

/MISSING ANALYSIS.

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Variasi ekstrak daun melinjo	18	3.50	1.757	1	6

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Variasi ekstrak daun melinjo
N		18
Normal Parameters ^a	Mean	3.50
	Std. Deviation	1.757
Most Extreme Differences	Absolute	.137
	Positive	.137
	Negative	-.137
Kolmogorov-Smirnov Z		.580
Asymp. Sig. (2-tailed)		.890
a. Test distribution is Normal.		

ONEWAY Diameter zonahambat BY Variasi ekstrak daun melinjo

/STATISTICS DESCRIPTIVES HOMOGENEITY

/MISSING ANALYSIS

/POSTHOC=LSD ALPHA(0.05).

**Oneway
Descriptives**

Diameter zona hambat								
					95% Confidence Interval for Mean			
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Lower Bound	Upper Bound	Minimum	Maximum
Ekstrak Daun Melinjo 50%	3	11.5000	.00000	.00000	11.5000	11.5000	11.50	11.50
Ekstrak Daun Melinjo 60%	3	12.0000	.00000	.00000	12.0000	12.0000	12.00	12.00
Ekstrak Daun Melinjo 70%	3	12.3333	.76376	.44096	10.4360	14.2306	11.50	13.00
Ekstrak Daun Melinjo 80%	3	13.0833	.14434	.08333	12.7248	13.4419	13.00	13.25
Kontrol Positif Clindamycin gel	3	24.8333	.28868	.16667	24.1162	25.5504	24.50	25.00
Kontrol Negatif Aquadest Steril	3	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
Total	18	12.2917	7.39845	1.74383	8.6125	15.9708	.00	25.00

Test of Homogeneity of Variances

Diameter zona hambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
6.512	5	12	.004

ANOVA

Diameter zona hambat

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	929.156	5	185.831	1.622E3	.000
Within Groups	1.375	12	.115		
Total	930.531	17			

Post Hoc Tests**Multiple Comparisons**

(I) Variasi ekstrak daun melinjo	(J) Variasi ekstrak daun melinjo	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Ekstrak Daun Melinjo 50%	Ekstrak Daun Melinjo 60%	-.50000	.27639	.096	-1.1022	.1022
	Ekstrak Daun Melinjo 70%	-.83333*	.27639	.011	-1.4355	-.2311
	Ekstrak Daun Melinjo 80%	-1.58333*	.27639	.000	-2.1855	-.9811
	Kontrol Positif Clindamycin gel	-13.33333*	.27639	.000	-13.9355	-12.7311
	Kontrol Negatif Aquadest Steril	11.50000*	.27639	.000	10.8978	12.1022
Ekstrak Daun Melinjo 60%	Ekstrak Daun Melinjo 50%	.50000	.27639	.096	-.1022	1.1022
	Ekstrak Daun Melinjo 70%	-.33333	.27639	.251	-.9355	.2689

	Ekstrak Daun Melinjo 80%	-1.08333*	.27639	.002	-1.6855	-.4811
	Kontrol Positif Clindamycin gel	-12.83333*	.27639	.000	-13.4355	-12.2311
	Kontrol Negatif Aquadest Steril	12.00000*	.27639	.000	11.3978	12.6022
Ekstrak Daun Melinjo 70%	Ekstrak Daun Melinjo 50%	.83333*	.27639	.011	.2311	1.4355
	Ekstrak Daun Melinjo 60%	.33333	.27639	.251	-.2689	.9355
	Ekstrak Daun Melinjo 80%	-.75000*	.27639	.019	-1.3522	-.1478
	Kontrol Positif Clindamycin gel	-12.50000*	.27639	.000	-13.1022	-11.8978
	Kontrol Negatif Aquadest Steril	12.33333*	.27639	.000	11.7311	12.9355
Ekstrak Daun Melinjo 80%	Ekstrak Daun Melinjo 50%	1.58333*	.27639	.000	.9811	2.1855
	Ekstrak Daun Melinjo 60%	1.08333*	.27639	.002	.4811	1.6855
	Ekstrak Daun Melinjo 70%	.75000*	.27639	.019	.1478	1.3522
	Kontrol Positif Clindamycin gel	-11.75000*	.27639	.000	-12.3522	-11.1478
	Kontrol Negatif Aquadest Steril	13.08333*	.27639	.000	12.4811	13.6855
Kontrol Positif Clindamycin gel	Ekstrak Daun Melinjo 50%	13.33333*	.27639	.000	12.7311	13.9355
	Ekstrak Daun Melinjo 60%	12.83333*	.27639	.000	12.2311	13.4355
	Ekstrak Daun Melinjo 70%	12.50000*	.27639	.000	11.8978	13.1022

	Ekstrak Daun Melinjo 80%	11.75000*	.27639	.000	11.1478	12.3522
	Kontrol Negatif Aquadest Steril	24.83333*	.27639	.000	24.2311	25.4355
Kontrol Negatif Aquadest Steril	Ekstrak Daun Melinjo 50%	-11.50000*	.27639	.000	-12.1022	-10.8978
	Ekstrak Daun Melinjo 60%	-12.00000*	.27639	.000	-12.6022	-11.3978
	Ekstrak Daun Melinjo 70%	-12.33333*	.27639	.000	-12.9355	-11.7311
	Ekstrak Daun Melinjo 80%	-13.08333*	.27639	.000	-13.6855	-12.4811
	Kontrol Positif Clindamycin gel	-24.83333*	.27639	.000	-25.4355	-24.2311

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

Lampiran 7 : Uji Statistik Sifat Fisik dan Stabilitas Gel

NPAR TESTS

/K-S(NORMAL)=Evaluasigel

/STATISTICS DESCRIPTIVES

/MISSING ANALYSIS.

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Evaluasi gel	12	2.00	.853	1	3

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Evaluasi gel
N		12
Normal Parameters ^a	Mean	2.00
	Std. Deviation	.853
Most Extreme Differences	Absolute	.213
	Positive	.213
	Negative	-.213
Kolmogorov-Smirnov Z		.737
Asymp. Sig. (2-tailed)		.648
a. Test distribution is Normal.		

ONEWAY Replikasi BY Evaluasigel

/STATISTICS DESCRIPTIVES HOMOGENEITY

/MISSING ANALYSIS.

Oneway**Descriptives**

Replikasi								
					95% Confidence Interval for Mean			
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Lower Bound	Upper Bound	Minimum	Maximum
Uji pH	4	5.2500	.50000	.25000	4.4544	6.0456	5.00	6.00
Uji Daya Sebar	4	5.4500	.42032	.21016	4.7812	6.1188	5.00	5.90
Uji Daya Lekat	4	.8475	.36179	.18089	.2718	1.4232	.50	1.23
Total	12	3.8492	2.25253	.65025	2.4180	5.2804	.50	6.00

Test of Homogeneity of Variances

Replikasi

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.173	2	9	.844

ANOVA

Replikasi					
	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	54.140	2	27.070	145.653	.000
Within Groups	1.673	9	.186		
Total	55.813	11			

SAVE OUTFILE='D:\DATA SPSS SKRIPSI LD D\DATA MENTAH EVALUASI GEL NEW NIA.sav'

/COMPRESSED.

Lampiran 8 : Uji Statistik Antibakteri Gel Ekstrak Daun Melinjo

NPAR TESTS

/K-S(NORMAL)=Gelekstrakdaunmelinjo

/STATISTICS DESCRIPTIVES

/MISSING ANALYSIS.

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Gel ekstrak daun melinjo 80%	9	2.00	.866	1	3

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Gel ekstrak daun melinjo 80%
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.

ONEWAY Diameterzonahambat BY Gelekstrakdaunmelinjo

/STATISTICS DESCRIPTIVES HOMOGENEITY

/MISSING ANALYSIS

/POSTHOC=LSD ALPHA(0.05).

Oneway**Descriptives**

Diameter zona hambat	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Ektrakdaun melinjo 80%	3	1.69167E1	.381881	.220479	15.96802	17.86531	16.500	17.250
kontrol positif	3	2.78333E1	.763763	.440959	25.93604	29.73062	27.000	28.500
kontrol negatif	3	.00000	.000000	.000000	.00000	.00000	.000	.000
Total	9	1.49167E1	12.152675	4.050892	5.57529	24.25804	.000	28.500

Test of Homogeneity of Variances

Diameter zona hambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.615	2	6	.061

ANOVA

Diameter zona hambat

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1180.042	2	590.021	2.428E3	.000
Within Groups	1.458	6	.243		
Total	1181.500	8			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Diameter zona
hambat
LSD

		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
(I) Gel ekstrak daun melinjo 80%	(J) Gel ekstrak daun melinjo 80%				Lower Bound	Upper Bound
Ektrakdaun melinjo 80%	kontrol positif	10.916667*	.402538	.000	-11.90164	-9.93169
	kontrol negative	16.916667*	.402538	.000	15.93169	17.90164
kontrol positif	Ektrakdaun melinjo 80%	10.916667*	.402538	.000	9.93169	11.90164
	kontrol negative	27.833333*	.402538	.000	26.84836	28.81831
kontrol negatif	Ektrakdaun melinjo 80%	16.916667*	.402538	.000	-17.90164	-15.93169
	kontrol positif	27.833333*	.402538	.000	-28.81831	-26.84836

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

SAVE OUTFILE='D:\DATA SPSS SKRIPSI\DATA SPSS GEL EKSTRAK.sav'
/COMPRESSED.