

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI DAUN BIDURI  
(*Calotropis gigantea* L.) TERHADAP  
*Staphylococcus aureus***

**SKRIPSI**



Oleh :

**NURUL HIDAYAH**

**1613206017**

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

**2020**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI DAUN BIDURI  
(*Calotropis gigantea* L.) TERHADAP  
*Staphylococcus aureus***

**SKRIPSI**

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Farmasi (S. Farm)

Program Studi S1 Farmasi

STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung



**Oleh :**

**NURUL HIDAYAH**

**1613206017**

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

**2020**

SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI DAUN BIDURI  
(*Calotropis gigantea* L.) TERHADAP BAKTERI  
*Staphylococcus aureus***

Yang diajukan oleh :

NURUL HIDAYAH

1613206017

Telah disetujui oleh :

Pembimbing Utama,

Pembimbing pendamping,



Choirul Huda, M.Farm., Apt

NIDN. 072 603 8502



Dara Pranidya Tilarso, M.Farm., Apt.

NIP. 18.89.01.15

## SKRIPSI

### UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI DAUN BIDURI (*Calotropis gigantea* L.) TERHADAP *Staphylococcus aureus*

yang diajukan oleh :

**NURUL HIDAYAH**

**NIM. 1613206017**

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

Tanggal: 20 Juli 2020

Ketua Penguji : Choirul Huda, M.Farm., Apt (.....)

Anggota Penguji : 1. Dara Pranidya T., M.Farm., Apt (.....)

2. Fatimah., S.Si., M. Biotech (.....)

3. Prof. Apt. Sri W., Dr., Msi. Dra (.....)

Mengetahui,

Ketua STIKes Karya Putra Bangsa

dr. Denok Sri Utami, M.H.

## **PERNYATAAN**

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

Tulungagung, 08 Juli 2020

Penulis,

Nurul Hidayah

## KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur kehadirat Allah SWT atas limpahan rahmat dan karunia-Nya, penulis dapat menyelesaikan penyusunan proposal penelitian dengan judul “**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI DAUN BIDURI (*Calotropis gigantea* L.) TERHADAP *Staphylococcus aureus***”. Proposal skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk melakukan penelitian akhir untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Program Sarjana Farmasi STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung. Penulis menyadari bahwa proposal skripsi ini tidak terlepas dari kesalahan dan kekurangan.

Proposal skripsi ini dapat diselesaikan berkat bimbingan, motivasi, petunjuk dan arahan dari berbagai pihak. Penulis menyampaikan ucapan terimakasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada yang terhormat:

1. Bapak Choirul Huda, M. Farm., Apt. Selaku Pembimbing I yang telah memberikan bimbingan, masukan, dan arahan dalam penyusunan proposal skripsi ini.
2. Ibu Dara Pranidya Tilarso, M. Farm., Apt. Selaku Pembimbing II yang memberikan bimbingan, masukan, dan arahan dalam penyusunan proposal skripsi ini.
3. Ibu Fatima, S.Si, M. Biotech. Selaku Penguji I pada Penelitian ini.
4. Ibu Prof. Apt. Sri Winarsih, Dr., Msi. Dra. Selaku penguji II pada Penelitian ini.

Atas segala bantuan yang telah diberikan kepada penulis, semoga Allah SWT selalu melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya kepada kita. Aamiin.

Tulungagung, 08 Juli 2020

Penulis

Nurul Hidayah

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI DAUN BIDURI  
(*Calotropis gigantea* L.) TERHADAP  
*Staphylococcus aureus***

**Nurul Hidayah  
Prodi S1 Farmasi**

**INTISARI**

*Staphylococcus aureus* adalah bakteri Gram positif yang berbentuk menggerombol. Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan penyebab utama infeksi nosokomial, keracunan makanan, dan sindrom syok toksik. Infeksi *Staphylococcus aureus* dapat terjadi ketika sistem imun melemah. Salah satu penanganan infeksi adalah menggunakan antibiotik, namun penggunaan antibiotik yang tidak tepat akan menimbulkan resistensi, sehingga terapi menggunakan obat tradisional menjadi pilihan alternatif. Obat tradisional yang berasal dari tanaman memiliki efek samping yang jauh lebih rendah tingkat bahayanya dibandingkan obat-obatan kimia. Salah satu tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan obat adalah tanaman biduri (*Calotropis gigantea* L.). Tujuan penelitian ini adalah mengetahui aktivitas fraksi *Aquadestilata*, etil asetat dan n-heksan dari ekstrak daun biduri sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Daun biduri diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan menggunakan pelarut 70% dan difraksinasi menggunakan pelarut *Aquadestilata*, etil asetat dan n-heksan. Uji aktivitas antibakteri fraksi daun biduri menggunakan metode difusi cakram dengan seri konsentrasi 10%, 20% dan 30%. Analisis statistik yang digunakan yaitu *one way ANOVA* yang bertujuan untuk mengetahui berpengaruh atau tidaknya variasi konsentrasi fraksi daun biduri terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa fraksi *Aquadestilata* dan etil asetat mempunyai aktivitas antibakteri. Fraksi *Aquadestilata* merupakan fraksi teraktif dalam menghambat aktivitas bakteri *Staphylococcus aureus* karena mengandung senyawa flavonoid, tanin dan saponin. Konsentrasi optimum fraksi daun biduri dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* adalah 10% dengan rata-rata zona hambat sebesar 6,33 mm.

Kata kunci : antibakteri, daun biduri, difusi, fraksinasi, *Staphylococcus aureus*.



## **Antibacterial Activity of Biduri Leaves (*Calotropis gigantea* L.) Fraction Against *Staphylococcus aureus***

**Nurul Hidayah**

**Study Program S1 of Pharmacy**

### ***Abstract***

*Staphylococcus aureus* is a Gram positive, clustered form. *Staphylococcus aureus* is a major cause of nosocomial infections, food poisoning, and toxic shock syndrome. *Staphylococcus aureus* infection can occur when the immune system is weakened. Antibiotics used as one of the ways to treat infection, but inappropriate use of antibiotics will cause resistance. Traditional medicine made from plant extract can be used as an alternative way to treat the infection. Traditional medicines derived from plants have far lower side effects than chemical drugs. One of the plants that can be used as medicinal ingredients is biduri plant (*Calotropis gigantea* L.). The purpose of this study was to determine the activity of *Aquadestilata*, ethyl acetate, and n-hexane fractions of biduri leaf extract as an antibacterial against *Staphylococcus aureus* bacteria. *Calotropis gigantea* leaves were extracted using maceration methods. Alcohol 70% was used as a solvent in the maceration procedure. Extract that we obtained, then undergone in fractionation procedure using *Aquadestilata*, ethyl acetate, and n-hexane as a solvent. The antibacterial activity of *Calotropis gigantea* leaves fraction was tested using the disc diffusion method with a series concentration of 10%, 20%, and 30%. One way ANOVA was used to statistically analyze the data obtained. In statistical analysis, we could find out whether the variation of the various concentration of *Calotropis gigantea* leaves fraction has any positive effect or not, against the growth of *Staphylococcus aureus* bacteria. The results of the research that has been done shown that *Aquadestilata* and ethyl acetate fraction have antibacterial activity. *Aquadestilata* fraction was the most active fraction that inhibits the activity of the bacteria *Staphylococcus aureus*. That was because it contains flavonoid compounds, tannins, and saponins. The optimum concentration of *Calotropis gigantea* leaves fractions to inhibit the growth of bacteria *Staphylococcus aureus* was 10%, with an average inhibition zone was 6,33mm.

Keywords: antibacterial, Biduri leaves, diffusion, fractionation, *Staphylococcus aureus*.

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL .....	i
LEMBAR PERSETUJUAN .....	ii
LEMBAR PENGESAHAN PROPOSAL .....	iii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR .....	v
RINGKASAN.....	vi
ABSTRACT .....	vii
DAFTAR ISI .....	viii
DAFTAR TABEL .....	xi
DAFTAR GAMBAR .....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	ii
BAB I PENDAHULUAN .....	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	3
1.3. Tujuan Penelitian .....	3
1.4. Manfaat Penelitian .....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	5
2.1. Uraian Tanaman Biduri ( <i>Calotropis gigantea L.</i> ).....	5
2.2. Simplisia.....	9
2.3. Ekstraksi.....	11
2.4. Pelarut .....	14

2.5.	Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....	16
2.6.	<i>Staphylococcus aureus</i> .....	17
2.7.	Antibakteri.....	19
2.8.	Obat Golongan Antibakteri .....	22
2.9.	Hipotesis.....	24
BAB III METODE PENELITIAN.....		25
3.1.	Bahan .....	25
3.2.	Alat.....	25
3.3.	Populasi Penelitian.....	25
3.4.	Sampel Penelitian .....	25
3.5.	Variabel Penelitian.....	25
3.6.	Metode Penelitian .....	26
3.7.	Uji Aktivitas Antibakteri.....	31
3.8.	Analisis Statistika .....	31
3.9.	Kerangka Penelitian.....	34
3.10.	Jadwal Penelitian .....	35
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		
4.1.	Determinasi Tanaman .....	36
4.2.	Pemeriksaan Karakteristik Simplisia .....	36
4.3.	Pembuatan Ekstrak Daun Biduri .....	37
4.4.	Pemeriksaan Karakteristik Ekstrak.....	38
4.5.	Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Biduri .....	39
4.6.	Fraksinasi Daun Biduri .....	41
4.7.	Skrining Fitokimia Fraksi Daun Biduri .....	42

4.8. Uji Identifikasi Bakteri .....	42
4.9. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Biduri .....	43
4.10. Analisis Statistik .....	45
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....	47
5.1. Kesimpulan.....	47
5.2. Saran .....	47
DAFTAR PUSTAKA .....	48

## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Kategori respon hambatan pertumbuhan bakteri berdasarkan diameter zona hambat .....	21
Tabel 3.1 Jadwal pelaksanaa penelitian .....	34
Tabel 4.1 Hasil uji susut pengeringan simplisia daun biduri .....	36
Tabel 4.2 Hasil uji kadar air serbuk simplisia daun biduri .....	37
Tabel 4.3 Hasil rendemen ekstrak daun biduri .....	38
Tabel 4.4 Hasil uji bebas etanol ekstrak daun biduri .....	39
Tabel 4.5 Hasil skrining fitokimia ekstrak daun biduri .....	39
Tabel 4.6 Hasil fraksi daun biduri .....	41
Tabel 4.7 Hasil skrining fitokimia fraksi daun biduri.....	42
Tabel 4.8 Hasil zona hambat uji aktivitas antibakteri fraksi daun biduri .....	43
Tabel 4.9 Hasil normalitas data .....	45
Tabel 4.10 Hasil uji homogenitas .....	46
Tabel 4.11 Hasil uji <i>one way ANOVA</i> .....	46

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Daun <i>Calotropis gigantea</i> (L.) .....	5
Gambar 2.2 Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....	18
Gambar 3.1 Rancangan penelitian .....	34
Gambar 4.1 Hasil pengamatan skrining fitokimia .....	40

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Hasil determinasi daun biduri .....	53
Lampiran 2 Dokumentasi penelitian .....	54
Lampiran 3 Hasil skrining fitokimia ekstrak daun biduri .....	55
Lampiran 4 Hasil skrining fitokimia fraksi daun biduri .....	55
Lampiran 5 Uji aktivitas antibakteri fraksi daun biduri .....	56
Lampiran 6 perhitungan hasil .....	57
Lampiran 7 Pembuatan seri konsentrasi .....	58
Lampiran 8 Analisis data .....	59

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Tumbuhan obat merupakan keanekaragaman hayati yang ada di sekitar kita, baik itu yang tumbuh secara liar maupun yang sengaja dibudidayakan. Sejak turun-temurun, tumbuhan sudah digunakan sebagai tanaman obat. Pengobatan alamiah tradisional dipandang sebagai alternatif yang terjangkau oleh masyarakat (Bangun, 2012).

Obat tradisional yang berasal dari tanaman memiliki efek samping yang jauh lebih rendah tingkat bahayanya dibandingkan obat-obatan kimia. Penemuan kedokteran modern juga mendukung penggunaan obat tradisional (Indri, 2011). Salah satu tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan obat adalah tanaman biduri (*Calotropis gigantea* L.) sebagai antibakteri *Staphylococcus aureus*.

Tanaman biduri merupakan gulma gurun yang dapat tumbuh secara liar di daerah pesisir pantai dan lahan kering sehingga sangat mudah untuk dibudidayakan. Pada beberapa hasil penelitian menyatakan manfaat dari tanaman biduri adalah sebagai obat batuk, gatal-gatal, obat sakit gigi, obat sakit telinga, epilepsi, luka kesleo, dan juga diare (Nadziroh, 2014).

Menurut Dewi *et al.* (2018), hasil skrining fitokimia ekstrak daun biduri mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu, tanin, saponin, flavonoid, dan polifenol yang memiliki potensi sebagai antibakteri. Penelitian sebelumnya menggunakan berbagai seri konsentrasi, yaitu 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%. Berdasarkan hasil yang diperoleh bahwa konsentrasi yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* adalah konsentrasi 20% dengan diameter zona hambat sebesar 26,2 mm (Dewi *et al.*, 2018). Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam tanaman biduri dapat dipisahkan dengan cara ekstraksi (Supriyanto *et al.*, 2014).

Ekstraksi merupakan suatu proses pemisahan zat aktif dari dalam sel dengan menggunakan pelarut yang melibatkan perpindahan zat terlarut ke dalam



zat pelarut (Siregar *et al.*, 2012). Metode yang digunakan untuk ekstraksi senyawa flavonoid, tanin, dan saponin pada daun biduri yaitu dengan metode maserasi. Metode maserasi digunakan karena lebih sederhana, relatif murah, tidak memerlukan peralatan yang rumit, terjadi kontak antara sampel dan pelarut yang cukup lama dan dapat menghindari kerusakan komponen senyawa yang tidak tahan panas (Susanty dan Bachdim, 2016). Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi ini yaitu etanol 70% karena dapat mengekstraksi senyawa flavonoid, saponin, dan tanin pada daun biduri, menghasilkan persen rendemen tinggi, tidak beracun dan tidak berbahaya (Wahyuni *et al.*, 2018).

Maserat yang dihasilkan dari ekstraksi maserasi selanjutnya dilakukan fraksinasi. Fraksinasi bertujuan untuk mendapatkan fraksi ekstrak yang lebih murni dengan aktivitas yang lebih tinggi (Harborne, 2006). Metode fraksinasi menggunakan prinsip *like dissolve like* yaitu senyawa pada tanaman akan larut dalam pelarut yang memiliki kepolaran yang sama, apabila kepolarannya berbeda maka akan terpisah (Harbone, 1987). Pelarut yang digunakan dalam fraksinasi ini adalah *aquadestilata* sebagai pelarut polar, etil asetat sebagai pelarut semi polar, dan n-heksan sebagai pelarut non polar. Fraksi yang diperoleh kemudian dilakukan uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* (Mutiasari, 2012).

*Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif yang tersusun dalam bentuk bergerombol seperti buah anggur. Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri penyebab utama infeksi nosokomial, keracunan makanan, dan sindrom syok toksik (Radji, 2011). Pengujian antibakteri pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram atau disk. Metode difusi cakram atau disk memiliki harga relatif murah karena tidak memerlukan alat khusus dalam pengerjaannya, cepat dan mudah dilakukan (Katrin *et al.*, 2014).

Berdasarkan latar belakang diatas, maka peneliti akan melakukan penelitian “Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Biduri terhadap *Staphylococcus aureus*” untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari fraksi daun biduri (*Calotropis gigantea* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan

metode difusi cakram yang menggunakan kontrol positif kloramfenikol dengan konsentrasi 10%, 20%, dan 30%.

## **1.2. Rumusan Masalah**

- 1.2.1. Bagaimanakah aktivitas antibakteri fraksi daun biduri (*Calotropis gigantea* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ?
- 1.2.2. Fraksi manakah yang memiliki zona hambat paling luas sebagai antibakteri *Staphylococcus aureus* ?
- 1.2.3. Berapakah konsentrasi optimum fraksi polar sebagai antibakteri *Staphylococcus aureus* ?

## **1.3. Tujuan Penelitian**

- 1.3.1. Mengetahui aktivitas antibakteri fraksi daun biduri (*Calotropis gigantea* L.) terhadap *Staphylococcus aureus*.
- 1.3.2. Mengetahui fraksi yang memiliki zona hambat paling luas sebagai antibakteri *Staphylococcus aureus*.
- 1.3.3. Mengetahui konsentrasi optimum fraksi polar sebagai antibakteri *Staphylococcus aureus*.

## **1.4. Manfaat Penelitian**

### **1.4.1. Bagi Masyarakat**

Memberikan informasi kepada masyarakat bahwa daun biduri (*Calotropis gigantea* L.) memiliki aktivitas antibakteri.

### **1.4.2. Bagi Instansi Kesehatan**

Sebagai referensi untuk mengembangkan senyawa antibakteri baru dengan memanfaatkan senyawa bioaktif dari tanaman.

### **1.4.3. Pendidikan**

Memberikan informasi dan referensi untuk mahasiswa dalam melakukan penelitian berikutnya.

#### **1.4.4. Bagi Peneliti**

Menambah informasi dan pengetahuan tentang obat tradisional khususnya manfaat daun biduri sebagai antibakteri serta untuk memenuhi tugas akhir sebagai persyaratan kelulusan.

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. Uraian Tanaman Biduri (*Calotropis gigantea* L.)

#### 2.1.1. Klasifikasi

Klasifikasi tanaman biduri (*Calotropis gigantea* L.) adalah sebagai berikut (Nadziroh, 2014) :

- Kingdom : Plantae  
Devisi : Magnoliophyta  
Kelas : Magnoliopsida  
Ordo : Gentianales  
Famili : Asclepiadaceae  
Genus : *Calotropis*  
Spesies : *Calotropis gigantea* (L.)



**Gambar 2.1 Daun *Calotropis gigantea* (L.) (Danny et al., 2017).**

### 2.1.2. Morfologi

Tanaman biduri (*Calotropis gigantea* L.) merupakan tanaman liar yang perkembangbiakannya sangat cepat. Tanaman ini tersebar diseluruh Asia Tenggara, biasanya tumbuh ditanah yang subur, padang rumput kering dari lereng-lereng gunung yang rendah, serta tumbuh di pantai. Tanaman perenial ini mempunyai persebaran di wilayah tropis dan subtropis, di benua Asia dan Afrika (Nadziroh, 2014).

Pada beberapa hasil penelitian menyatakan beberapa manfaat dari tanaman biduri adalah sebagai obat batuk, gatal-gatal, obat sakit gigi, obat sakit telinga, epilepsi, luka, kesleo, dan juga diare. Menurut Dipalaya *et al.*, (2009) (dalam Nadziroh, 2014) menyebutkan dari hasil penelitiannya bahwa tanaman biduri dapat dimanfaatkan sebagai pembasmi jentik nyamuk.

Secara empiris, masyarakat telah menggunakan kulit akar *Calotropis gigantea* sebagai kolagoga, peluruh keringat (diaforetik), perangsang muntah (emetik), pemicu kerja enzim pencernaan (alteratif), dan peluruh kencing (diuretik). Bunga biduri berkhasiat tonik dan peningkat nafsu makan, sementara daunnya berkhasiat rubifasien dn menghilangkan gatal (Faradilla *et al.*, 2019).

### 2.1.3. Kandungan Kimia

Penggunaan tanaman sebagai bahan obat, sangat berkaitan dengan kandungan kimia yang terdapat dalam tanaman terutama zat bioaktif dalam tanaman. Senyawa bioaktif yang terdapat dalam tanaman ataupun tumbuhan umumnya memiliki senyawa metabolisme primer dan senyawa metabolisme sekunder. Salah satu golongan senyawa metabolit sekunder seperti golongan alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin (Aslamiah dan Haryadi, 2014).

Berdasarkan uji fitokimia yang telah dilakukan terhadap tanaman biduri khususnya ekstrak daun biduri positif mengandung senyawa tanin, saponin, flavonoid, dan polifenol (Dewi, 2018). Berikut senyawa yang terkandung dalam daun biduri :

#### 2.1.3.1. Flavonoid

Flavonoid adalah salah satu kelompok senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan didalam jaringan tanaman. Pada penelitian yang

dilakukan oleh Sa'adah *et al.*, (2017), suhu 50°C relatif aman dan dapat mencegah terjadinya kerusakan senyawa metabolit sekunder tertentu khususnya flavonoid. Flavonoid memiliki sistem aromatik terkonjugasi yang mudah rusak pada suhu tinggi. Beberapa golongan flavonoid memiliki ikatan glikosida dengan molekul gula. Ikatan glikosida akan mudah rusak atau ikatan terputus pada suhu tinggi (Sa'adah *et al.*, 2017).

Flavonoid mempunyai 15 atom karbon yang tersusun dalam konfigurasi C6-C3-C6. Kerangka flavonoid terdiri atas satu cincin aromatik A, satu cincin aromatik B, dan cincin tengah berupa heterosiklik yang mengandung oksigen dan bentuk teroksidasi cincin itu dijadikan dasar pembagian flavonoid ke dalam subsub kelompoknya. Sistem penomoran digunakan untuk membedakan posisi karbon di sekitar molekulnya (Cook dalam Abdi, 1996).

Senyawa flavonoid sebenarnya terdapat pada semua bagian tumbuhan termasuk daun, akar, kayu, kulit, tepung sari, bunga, buah, dan biji. Kebanyakan flavonoid ini terdapat di dalam tumbuh-tumbuhan, kecuali alga (Markham, 1988). Flavonoid adalah senyawa yang bersifat polar, maka umumnya flavonoid cukup larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, aseton, dimetil-sulfoksida, dimetilformamida, air, dan lain-lain (Markham, 1988).

Mekanisme kerja flavonoid adalah menghambat fungsi membran sel dengan membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstra seluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intra seluler (Nuria *et al.*, 2009).

### **2.1.3.2. Tanin**

Senyawa tanin merupakan senyawa aktif metabolit sekunder yang diketahui mempunyai beberapa khasiat yaitu sebagai astringen, anti diare, anti bakteri dan antioksidan. Tanin merupakan komponen zat organik yang sangat kompleks, terdiri dari senyawa fenolik yang sukar dipisahkan dan sukar mengkristal, mengendapkan protein dari larutannya dan bersenyawa dengan protein tersebut (Malangngi *et al.*, 2012). Senyawa tanin terbagi atas dua kelompok yaitu tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Tanin memiliki peranan biologis yang kompleks mulai dari pengendap protein hingga pengkhelat

logam. Tanin juga dapat berfungsi sebagai antioksidan biologis (Malangngi *et al.*, 2012). Senyawa tanin memiliki rumus kimia  $C_{76}H_{52}O_{46}$ . Tanin larut dalam pelarut organik polar, namun tidak larut dalam pelarut organik non polar seperti benzena. Tanin memiliki sifat polar. Tanin berfungsi untuk melindungi tanaman dari hewan pemangsa karena tanin memiliki rasa sepat. Tanin akan terurai menjadi *pyrogallol*, *pyrocatechol* dan *phloroglucinol* bila dipanaskan sampai suhu 99-102°C (Risnasari, 2002).

Mekanisme kerja dari tanin sebagai antibakteri adalah menghambat enzim reverse transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk (Nuria *et al.*, 2009). Tanin memiliki aktivitas antibakteri yang berhubungan dengan kemampuannya untuk menginaktifkan adhesin sel mikroba, menginaktif enzim, dan mengganggu transport protein pada lapisan dinding sel (Cowan, 1999). Tanin juga mempunyai target pada polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna. Hal ini menyebabkan sel bakteri menjadi lisis karena tekanan osmotik maupun fisik sehingga sel bakteri akan mati (Ngajow *et al.*, 2013).

### **2.1.3.3. Saponin**

Saponin merupakan senyawa metabolit sekunder yang berasal dari tanaman. Saponin merupakan glikosida yang tersusun dari gula yang berikatan dengan aglikon (sapogenin) yang terdiri dari rantai triterpenoid atau steroid. Saponin memiliki sifat cenderung polar karena ikatan glikosidanya (Simaremare, 2014). Saponin memiliki rumus kimia  $C_{30}H_{46}O_5$ . Struktur saponin menyebabkan saponin bersifat seperti deterjen (Calabria, 2008). Saponin memiliki berat molekul tinggi yaitu 414,6231 g/mol. Saponin memiliki titik didih yang cukup tinggi yaitu 158°C dan densitas 0,5 g/cm<sup>3</sup> pada suhu 20°C (Santosa *et al.*, 2018).

Saponin membentuk kristal berwarna kuning dan berbentuk amorf, memiliki bau menyengat dan memiliki rasa yang pahit. Saponin merupakan senyawa *non-volatile*, larut dalam air dingin maupun air panas dan larut dalam alkohol. Saponin membentuk busa koloidal dalam air dan memiliki sifat tahan terhadap pemanasan yaitu tahan pada suhu 70°C (Prasetyo S. *et al.*, 2011 ; Wahyuni *et al.*, 2018).

Saponin dapat digunakan sebagai antibakteri dengan cara menurunkan tegangan permukaan dinding sel dan efektif pada bakteri Gram positif (Hassan, 2008). Saponin kemudian akan berikatan dengan lipopolisakarida yang terdapat pada dinding sel bakteri, hal ini mengakibatkan peningkatan permeabilitas dinding sel bakteri sehingga membran menjadi tidak stabil dan menurunkan tegangan permukaan dari dinding sel bakteri sehingga dinding sel tersebut akan mengalami lisis. Zat antibakteri akan masuk ke dalam sel kemudian zat tersebut akan mengganggu metabolisme yang dapat menyebabkan bakteri mati (Dwicahyani *et al.*, 2018).

## **2.2. Simplisia**

### **2.2.1. Pengertian Simplisia**

Simplisia adalah bahan alami yang dapat digunakan sebagai obat, belum mengalami pengolahan apapun, berupa tanaman kering, langsung digunakan sebagai obat dalam atau banyak digunakan sebagai obat dalam sediaan galenik tertentu atau digunakan sebagai bahan dasar untuk memperoleh bahan baku obat. Sedangkan sediaan galenik berupa ekstrak total mengandung 2 atau lebih senyawa kimia yang mempunyai aktifitas farmakologi dan diperoleh sebagai produk ekstraksi bahan alam serta langsung digunakan sebagai obat atau digunakan setelah dibuat bentuk formulasi sediaan obat tertentu yang sesuai (Depkes RI, 1995).

Dalam buku “Materia Medika Indonesia” ditetapkan definisi bahwa simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dikatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan (Depkes RI, 2000).

Simplisia dibagi menjadi 3 golongan, yaitu simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia pelikan (mineral) (Depkes RI, 1995) :

#### **2.2.1.1. Simplisia Nabati**

Simplisia nabati yaitu simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Yang dimaksud dengan eksudat tanaman adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau yang dengan cara tertentu



dikeluarkan dari selnya, atau zat-zat nabati lainnya yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tanamannya.

#### **2.2.1.2. Simplisia Hewani**

Simplisia hewani yaitu simplisia yang berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni.

#### **2.2.1.3. Simplisia Pelikan (mineral)**

Simplisia pelikan atau mineral yaitu simplisia yang berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia murni.

#### **2.2.2. Syarat-syarat Simplisia**

Simplisia memiliki beberapa persyaratan yaitu:

1. Lolos uji organoleptis yang meliputi warna, bau, bentuk, dan rasa.
2. Kadar air, harus kurang dari 10%.
3. Adanya keseragaman bobot.
4. Bahan tambahan, tidak boleh mengandung pengawet, pengharum, dan pewarna. Dapat digunakan pemanis sesuai dengan yang ditetapkan (BPOM, 2010).

#### **2.2.3. Tahap Pembuatan Simplisia (Prasetyo dan Inorih, 2013)**

Pada umumnya pembuatan simplisia melalui tahapan sebagai berikut:

1. Pengumpulan bahan baku: kualitas bahan baku simplisia sangat dipengaruhi beberapa faktor, seperti umur tumbuhan atau bagian tumbuhan pada waktu panen, bagian tumbuhan, waktu panen dan lingkungan tempat tumbuh.
2. Sortasi basah: dilakukan untuk menghilangkan kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing lainnya dari bahan simplisia.
3. Pencucian: dilakukan untuk menghilangkan tanah dari pengotor lainnya yang melekat pada simplisia. Pencucian dilakukan 3x dengan air mengalir.
4. Perajangan: dilakukan untuk mempermudah proses pengeringan, pengepakan, dan penggilingan.
5. Pengeringan: untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama. Dengan mengurangi kadar air

dan menghentikan reaksi enzimatik akan dicegah penurunan mutu atau perusakan simplisia.

6. Sortasi kering: bertujuan untuk memisahkan benda-benda asing seperti bagian-bagian tanaman yang tidak diinginkan dan pengotoran-pengotoran lainnya yang masih ada dan tertinggal pada simplisia kering.
7. Pengepakan
8. Penyimpanan dan pemeriksaan mutu.

#### **2.2.4. Pembuatan Serbuk Simplisia**

Serbuk adalah sediaan obat tradisional berupa butiran homogen dengan derajat kehalusan yang cocok. Bahan bakunya berupa simplisia sediaan galenik, atau campurannya (DepKes RI, 1994). Serbuk simplisia dibuat dari simplisia utuh atau potongan-potongan halus simplisia yang sudah dikeringkan melalui proses pembuatan serbuk dengan suatu alat tanpa menyebabkan kerusakan atau kehilangan kandungan kimia yang dibutuhkan dan diayak hingga diperoleh serbuk. Derajat kehalusan serbuk simplisia untuk pembuatan ekstrak merupakan simplisia halus dengan nomor pengayak 80 dengan lebar nominal lobang 0,105 mm dan garis tengahnya 0,064 (Depkes RI, 2008).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Sapri *et al.* (2014), derajat kehalusan simplisia merupakan salah satu faktor untuk mendapatkan ekstrak yang optimal. Ukuran pengayak yang digunakan yaitu 40 mesh, 60 mesh dan 80 mesh. Hasil penelitian menunjukkan bahwa serbuk simplisia dengan ukuran 80 mesh menghasilkan rendemen ekstrak tertinggi, sehingga dapat disimpulkan bahwa semakin kecil ukuran serbuk simplisia maka semakin besar rendemen ekstrak yang diperoleh. Penelitian kali ini menggunakan ayakan dengan ukuran 80 mesh.

### **2.3. Ekstraksi**

Ekstraksi merupakan penarikan kandungan kimia pada tumbuhan yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Simplisia yang diekstrak mengandung senyawa aktif yang dapat larut dan senyawa yang tidak dapat larut seperti serat, karbohidrat, protein dan lain-lain. Senyawa aktif yang terdapat dalam berbagai simplisia dapat digolongkan kedalam

golongan minyak atsiri, alkaloid, flavonoid dan lain-lain. Dengan diketahuinya senyawa aktif yang terkandung dalam simplisia akan mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat (DepKes, 2000).

### **2.3.1. Maserasi**

Maserasi adalah proses penyarian simplisia menggunakan pelarut dengan perendaman dan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Cairan penyari akan menembus dinding sel dan melarutkan zat aktif yang terkandung didalam simplisia. Cairan penyari yang digunakan dapat berupa air, etanol, methanol, etanol-air atau pelarut lainnya (Wulandari, 2017).

Maserasi merupakan proses penyarian yang paling baik digunakan untuk bahan simplisia yang halus, memungkinkan direndam dalam *menstruum*, sampai meresap dan melemahkan susunan sel sehingga zat-zat yang mudah larut segera akan larut. Dalam proses maserasi, bahan yang berupa serbuk simplisia yang biasa disari, biasanya ditempatkan pada wadah atau bejana yang bermulut lebar, ditutup rapat, dan isinya digojog berulang-ulang selama 1-4 hari. Penggojokkan yang berulang-ulang ini memungkinkan pelarut masuk ke seluruh permukaan dari bahan serbuk simplisia (Ansel, 1990).

Kelebihan cara penyarian dengan maserasi adalah cara pengerjaan, dan peralatan yang digunakan sederhana, dan mudah dilakukan. Kelemahan dari metode maserasi adalah prosesnya membutuhkan waktu yang cukup lama. Ekstraksi secara maserasi dilakukan pada suhu kamar (27°C), sehingga tidak menyebabkan degradasi metabolit yang tidak tahan panas (DepKes, 2006).

### **2.3.2. Perkolasi**

Perkolasi merupakan proses mengekstrasi senyawa terlarut dari jaringan seluler simplisia dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna yang umumnya dilakukan pada suhu ruangan. Perkolasi cukup sesuai, baik untuk ekstraksi pendahuluan maupun dalam jumlah besar (Departemen Kesehatan RI, 2006). Prinsip perkolasi yaitu pelarut yang telah jenuh yang terdapat dalam perkolator akan digantikan oleh pelarut yang baru (Depkes RI, 1986). Serbuk sampel diletakkan dalam sebuah wadah perkolator lalu pelarut ditambahkan pada

bagian atas serbuk sampel dan kemudian pelarut akan menetes perlahan pada bagian bawah.

Keuntungan metode perkolasi adalah penyarian menggunakan pelarut yang selalu baru, sedangkan kerugian dari metode perkolasi adalah pelarut akan mengalami kesulitan dalam menjangkau seluruh area sampel yang tidak homogen, membutuhkan waktu cukup lama dan membutuhkan pelarut dalam jumlah yang banyak (Mukhriani, 2014).

### **2.3.3. Soxhlet**

Metode ekstraksi soxhlet adalah metode ekstraksi dengan prinsip pemanasan dan perendaman sampel. Hal itu menyebabkan terjadinya pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel. Dengan demikian, metabolit sekunder yang ada di dalam sitoplasma akan terlarut ke dalam pelarut organik. Larutan itu kemudian menguap ke atas dan melewati pendingin udara yang akan mengembunkan uap tersebut menjadi tetesan yang akan terkumpul kembali. Bila larutan melewati batas lubang pipa samping soxhlet maka akan terjadi sirkulasi. Sirkulasi yang berulang itulah yang menghasilkan ekstrak yang baik (Departemen Kesehatan RI, 2006).

### **2.3.4. Refluks**

Ekstrak dengan cara ini pada dasarnya adalah ekstraksi berkesinambungan. Bahan yang akan diekstraksi direndam dengan cairan penyari dalam labu alas bulat yang dilengkapi dengan alat pendingin tegak, lalu dipanaskan sampai mendidih. Cairan penyari akan menguap, uap tersebut akan diembunkan dengan pendingin tegak dan akan kembali menyari zat aktif dalam simplisia tersebut. Ekstrak ini biasanya dilakukan 3 kali dan setiap kali diekstraksi selama 4 jam (Departemen Kesehatan RI, 2006).

### **2.3.5. Fraksinasi**

Fraksinasi adalah proses pemisahan suatu kuantitas tertentu dari campuran (padat, cair, terlarut, suspensi atau isotop) dibagi dalam beberapa jumlah kecil (fraksi). Pembagian atau pemisahan ini didasarkan pada bobot dari tiap fraksi, fraksi yang lebih berat akan berada paling dasar sedangkan fraksi yang lebih ringan akan berada diatas (Adijuwana dan Nur, 1989). Fraksinasi merupakan

proses pemisahan suatu senyawa berdasarkan perbedaan kepolarannya. Metode fraksinasi menggunakan prinsip *like dissolve like* yaitu senyawa pada tanaman akan larut dalam pelarut yang memiliki kepolaran yang sama, apabila kepolarannya berbeda maka akan terpisah (Harbone, 1987).

Fraksinasi dilakukan dengan metode cair-cair atau *solvent extraction* dimana merupakan proses pemisahan yang didasarkan atas perbedaan distribusi komponen yang dipisahkan antara dua fase cair. Proses pemisahan tersebut dilakukan di dalam dua macam pelarut yang tidak saling bercampur (Febriyanti *et al.*, 2004). Hal tersebut memungkinkan karena adanya sifat senyawa yang dapat terlarut dalam air maupun senyawa yang dapat larut dalam pelarut organik. Fraksinasi dilakukan secara berkesinambungan dengan dimulai dari pelarut non polar, semi polar dan pelarut polar. Akhir dari fraksinasi akan didapatkan fraksi yang mengandung senyawa yang secara berurutan dari senyawa non polar, semi polar dan polar (Purwanto, 2015).

#### **2.4. Pelarut**

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

##### **1. Air**

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

Air (H<sub>2</sub>O) merupakan senyawa yang tidak berwarna, tidak berbau dan tidak memiliki rasa. Air memiliki titik didih 100°C, viskositas 1,005 cP, berat

molekul 18 g/mol, dan konstanta dielektrik sebesar 80,37 pada suhu 20°C (Chandra, 2015).

## 2. Etanol

Etanol (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH) memiliki nama lain yaitu; etil alkohol hidroksietana, alkohol murni, dan alkohol absolut. Etanol merupakan molekul yang sangat polar karena adanya gugus hidroksil (OH) dengan keelektronegatifan oksigen yang sangat tinggi yang menyebabkan terjadinya ikatan hidrogen dengan molekul lain, sehingga etanol dapat berikatan dengan molekul polar dan molekul ion. Gugus etil (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>) pada etanol bersifat non-polar, sehingga etanol dapat berikatan juga dengan molekul non-polar. Oleh karena itu, etanol dapat melarutkan baik senyawa polar maupun non-polar. Etanol memiliki berat molekul 46,04 gr/mol, massa jenis 0,789 gr/cm<sup>3</sup>, titik didih 78,4°C, viskositas pada 20°C 1,200 cP, momen dipol sebesar 1,69 D (gas), konstanta dielektrik 24,3 pada 20°C, dan tidak berwarna (Chandra, 2015). Berdasarkan penelitian Fathurrachman, 2014, konsentrasi etanol mempengaruhi hasil rendemen ekstrak dan juga hasil uji fitokimia senyawa dalam tanaman sirsak. Ekstrak etanol 70% menghasilkan % rendemen lebih tinggi dibanding ekstrak etanol 96%. Hal ini dikarenakan adanya perbedaan polaritas antara pelarut etanol 96% dan 70%.

## 3. N-heksana

N-Heksan (C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>) merupakan pelarut non polar yang memiliki sifat mudah menguap. N-Heksan memiliki titik lebur -95°C (Susanti *et al.*, 2012). N-Heksan berbentuk cairan jernih, memiliki bau seperti eter, memiliki berat molekul 86,18 gr/mol dan memiliki titik didih 68,73°C (Depkes RI, 1995). N-Heksan dapat larut dalam pelarut non polar atau sedikit polar seperti dietil eter atau benzena, tetapi tidak larut dalam pelarut polar seperti air (Brieger, 1969).

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Puspita Sari (2016), pengujian aktivitas antibakteri menggunakan kontrol negatif yaitu heksan menunjukkan hasil bahwa heksan tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Eschericia coli* dan *S. Aureus*, sehingga zona hambat yang dihasilkan ekstrak bukan berasal dari pelarut heksan.

## 4. Etil Asetat

Etil asetat adalah suatu zat cair tak berwarna dengan bau buah yang semerbak bertitik didih  $77^{\circ}\text{C}$  dan  $d = 0,9\text{ g/ml}$  (Arsyad, 2011). Etil asetat dengan rumus kimia  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OOCCH}_3$  mempunyai viskositas 0,46 pada  $20^{\circ}\text{C}$ , boiling point  $76,5^{\circ}\text{C}$ , dan flash point  $-3^{\circ}\text{C}$  (Schefflan dan Morris, 1983). Etil asetat merupakan pelarut dengan karakteristik semipolar. Etil asetat secara selektif akan menarik senyawa yang bersifat semipolar seperti fenol dan terpenoid (Tiwari *et al.*, 2011). Dalam penelitian Gandapura, pelarut yang digunakan adalah metanol, etil asetat dan heksana, ternyata hasil ekstraksi dari masing-masing pelarut menunjukkan bahwa randemen ekstrak tertinggi dihasilkan ekstrak metanol yang bersifat polar, diikuti oleh etil asetat dan heksan (Hermani, 2004).

## **2.5. Bakteri *Staphylococcus aureus***

### **2.5.1. Definisi Bakteri**

Bakteri adalah salah satu golongan organisme prokariotik yang khas, uniseluler dan tidak mengandung struktur yang terbatas membran di dalam sitoplasma. Bakteri dapat dibedakan berdasarkan ukuran, susunan, dan responnya terhadap antibiotik. Bentuk sel bakteri meliputi kokus (bulat), basil (batang) dan spirillum (spiral). Bentuk sel menunjukkan karakteristik dari spesies bakteri, tetapi dapat bervariasi tergantung kondisi pertumbuhannya. Ukuran bakteri berkisar antara 0,5 sampai  $5\text{ }\mu\text{m}$  (Pelczar *et al.*, 1998).

Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri yaitu:

1. Sumber energi, yang diperlukan untuk reaksi-reaksi sintesis yang membutuhkan energi dalam pertumbuhan dan restorasi, pemeliharaan keseimbangan cairan, gerak dan sebagainya.
2. Sumber karbon
3. Sumber nitrogen, sebagian besar untuk sintesis proteindan asam-asam nukleat.
4. Sumber garam-garam anorganik, khususnya folat dan sulfat sebagai anion, dan potasium, sodium magnesium, kalsium, besi, mangan sebagai kation.
5. Bakteri-bakteri tertentu membutuhkan faktor-faktor tumbuh tambahan, disebut juga vitamin bakteri, dalam jumlah sedikit untuk sintesis metabolik esensial (Koes Irianto, 2006).

### 2.5.2. Penggolongan Bakteri

Bakteri dibagi dalam dua golongan yaitu Gram positif dan Gram negatif berdasarkan reaksinya terhadap pewarnaan Gram. Perbedaan antara Gram positif dan Gram negatif diperlihatkan dari perbedaan dinding sel. Dinding sel bakteri Gram positif sebagian besar terdiri atas beberapa lapisan peptidoglikan yang membentuk struktur tebal dan kaku. Kekakuan dinding sel bakteri yang disebabkan karena lapisan peptidoglikan dan ketebalan peptidoglikan ini membuat bakteri Gram positif resisten terhadap lisis osmotik (Jawetz, 1996).

Bakteri Gram positif merupakan bakteri pembentuk spora misalnya spesies *Bacillus* dan *Clostridium*. Kedua spesies ini terdapat dimana-mana dalam membentuk spora, sehingga dapat hidup di lingkungan selama bertahun-tahun. Adapun bakteri Gram positif yang tidak membentuk spora yaitu spesies *Corynebacterium*, *Listeria*, *Propionibacterium*, dan *Acynomyces*. Spesies *Staphylococcus* dan *Streptococcus* juga merupakan bakteri Gram positif yang berbentuk bulat, biasanya berbentuk menggerombol (Jawetz, 2004).

## 2.6. *Staphylococcus aureus*

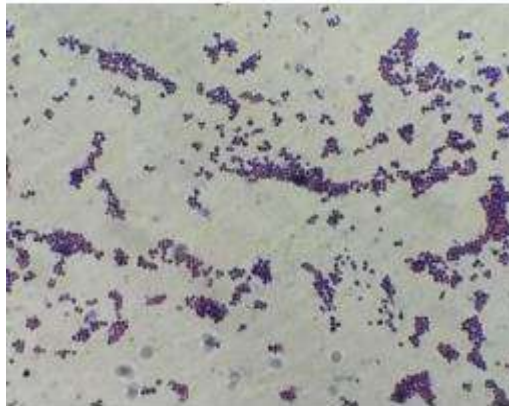
### 2.6.1. Klasifikasi

Menurut Ferianto (2012) klasifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* sebagai berikut :

Domain	: Bacteria
Devisi	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Ordo	: Bacillales
Famili	: Staphylococcaceae
Marga	: <i>Staphylococcus</i>
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i>



### 2.6.2. Morfologi



**Gambar 2.2 Bakteri *Staphylococcus aureus* (Hayati et al, 2019)**

Bakteri *Staphylococcus aureus* termasuk famili Staphylococcaceae dalam kelompok bakteri Gram positif. Bakteri ini hidup berkoloni seperti buah anggur memiliki diameter 0,8-1,0  $\mu\text{m}$ . *Staphylococcus aureus* dapat membentuk koloni dalam jumlah besar yang berwarna kuning. *Staphylococcus aureus* merupakan penyebab infeksi kulit seperti bisul dan furuncules, dan selain itu dapat menyebabkan pneumonia, mastitis, phlebitis, masalah saluran pencernaan dan *urinary tract infections* (Ramadhan, 2015).

Sel bakteri *Staphylococcus aureus* berbentuk seperti bola dengan diameter rata-rata 0,7-1,2  $\mu\text{m}$  tersusun dalam kelompok. Bakteri *Staphylococcus aureus* tidak bergerak dan tidak membentuk spora. Bakteri ini tumbuh baik pada suhu 37°C. Pertumbuhan yang baik adalah pada suasana aerob, bersifat anaerob fakultatif dan pH optimum untuk pertumbuhan adalah 7,4. Koloni bakteri ini berbentuk bulat, cembung, dan mengkilap. Koloni *Staphylococci* memiliki ukuran besar dengan diameter 6-8 mm dan berwarna bening. Strain dari koloni bakteri ini memiliki pigmen berwarna jingga (Soedarto, 2015).

Menurut Locke et al (2012) (dalam Febrianasari, 2018), bakteri *Staphylococcus aureus* menyebabkan beberapa penyakit, yaitu penyakit kulit seperti impetigo, paronikia, abses, selulitis, dan infeksi kulit. Pada tulang dan sendi dapat menyebabkan osteomyelitis dan arthritis septik, menyebabkan pneumonia pada organ pernafasan, dan menyebabkan endocarditis infeksi pada organ kardiovaskular. *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu penyebab

utama nosokomial akibat luka tindakan operasi dan pemakaian alat-alat perlengkapan perawatan rumah sakit (Febrianasari, 2018).

Menurut Chiller *et al* (2001) (dalam Febrianasari, 2018), hampir setiap orang mengalami beberapa tipe infeksi *Staphylococcus aureus* sepanjang hidupnya. Setiap jaringan ataupun organ tubuh dapat terinfeksi dan menimbulkan penyakit dengan tanda-tanda khas, yaitu peradangan, nekrosis, dan pembentukan abses. Bakteri ini juga dapat menyebabkan penyakit kulit yang dapat menyerang bayi yang baru lahir hingga orang dewasa.

## **2.7. Antibakteri**

### **2.7.1. Pengertian Antibakteri**

Antibakteri merupakan zat yang dapat mengganggu pertumbuhan atau bahkan mematikan bakteri dengan cara mengganggu metabolisme mikroba yang merugikan (Febrianasari, 2018). Daya antibakteri dapat ditentukan berdasarkan nilai KHM dan KBM terhadap pertumbuhan suatu bakteri. Konsentrasi minimal yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan bakteri dikenal sebagai konsentrasi/ kadar hambat minimal (KHM). Konsentrasi minimal yang diperlukan untuk membunuh 99,9% pertumbuhan bakteri dikenal sebagai konsentrasi bunuh minimal (KBM) (Forbes, 2007).

### **2.7.2. Mekanisme Kerja Antibakteri**

#### **2.7.2.1. Menghambat Sintesis Dinding Sel**

Dinding sel bakteri sangat penting untuk mempertahankan struktur sel bakteri. Oleh karena itu, zat yang dapat merusak dinding sel akan melisiskan dinding sel sehingga dapat mempengaruhi bentuk dan struktur sel, yang ada akhirnya dapat membunuh sel bakteri tersebut (Waluyo, 2004).

#### **2.7.2.2. Mengganggu Atau Merusak Membran Sel**

Membran sel mempunyai peranan penting dalam mengatur transportasi nutrisi dan metabolit yang dapat keluar masuk sel. Membran sel juga berfungsi sebagai tempat berlangsungnya respirasi dan aktivitas biosintesis dalam sel. Beberapa jenis antibakteri dapat mengganggu membran sel sehingga dapat mempengaruhi kehidupan sel bakteri (Yasjudani, 2017).

### **2.7.2.3. Mengganggu Biosintesis Asam Nukleat**

Proses replikasi DNA di dalam sel merupakan siklus yang sangat penting bagi kehidupan sel. Beberapa jenis antibakteri dapat mengganggu metabolisme asam nukleat tersebut sehingga mempengaruhi seluruh fase pertumbuhan sel bakteri (Yasjudani, 2017).

### **2.7.2.4. Menghambat Sintesis Protein**

Suatu sel mikroba dapat hidup apabila molekul-molekul dalam sel dalam keadaan alamiahnya. Denaturasi protein dan asam nukleat dapat merusak sel dan tidak dapat diperbaiki kembali. Koagulasi ireversibel komponen sel dapat disebabkan oleh suhu tinggi dan konsentrasi dari beberapa zat kimia (Pelczar, 1988).

### **2.7.3. Uji Aktivitas Antibakteri**

Uji antibakteri dilakukan untuk mengetahui aktivitas suatu bakteri terhadap antibakteri secara *In Vitro*. Pengujian ini dapat dilakukan dengan dua metode yakni metode penyebaran (*Diffusion method*) dengan menggunakan cakram kertas dan metode pengenceran (*Dillution method*). Macam-macam metode uji aktivitas antibakteri antara lain: metode pengenceran, difusi agar, metode dilusi (Kristanti, 2008).

### **2.7.4. Metode Difusi**

Pada metode ini, penentuan aktivitas antibakteri didasarkan pada kemampuan difusi dari zat antimikroba dalam lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan mikroba uji. Hasil pengamatan berupa ada atau tidaknya zona hambat yang terbentuk di sekeliling zat antimikroba pada waktu tertentu masa inkubasi (Yasjudani, 2017). Pada metode ini dapat dilakukan dengan 3 cara, yaitu:

#### **2.7.4.1. Metode Cakram (*Disc*)**

Cara ini merupakan cara yang paling sering digunakan untuk menentukan kepekaan kuman terhadap berbagai macam obat-obatan. Pada cara ini, digunakan sebagai cakram kertas saring (*paper disc*) yang berfungsi sebagai tempat menampung zat antimikroba. Kertas saring tersebut kemudian diletakkan pada lempeng agar yang telah diinokulasi mikroba uji, kemudian diinkubasi pada

waktu tertentu dan suhu tertentu, sesuai dengan kondisi optimum dari mikroba uji. Pada umumnya, hasil yang di dapat bisa diamati setelah inkubasi selama 18-24 jam dengan suhu 37°C. Hasil pengamatan yang diperoleh berupa ada atau tidaknya daerah bening yang terbentuk disekeliling kertas cakram yang menunjukkan zona hambat pada pertumbuhan bakteri (Pelczar, 1988).

**Tabel 2.1 Kategori respon hambatan pertumbuhan bakteri berdasarkan diameter zona hambat (Susanto *et al.*, 2012)**

Diameter Zona Hambat	Respon Hambatan
$\geq 21$ mm	Sangat Kuat
11 – 20 mm	Kuat
6 – 10 mm	Sedang
< 5 mm	Lemah

Metode cakram disk atau cakram kertas ini memiliki kelebihan dan kekurangan. Kelebihannya adalah 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 (Bonang, 1992). Apabila keempat faktor tersebut tidak sesuai maka hasil dari metode cakram disk biasanya sulit untuk diinterpretasikan. Selain itu, metode cakram disk ini tidak dapat diaplikasikan pada mikroorganisme yang pertumbuhannya lambat dan mikroorganisme yang bersifat anaerob obligat (Bonang, 1992).

#### **2.7.4.2. Metode Parit (*Ditch*)**

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

#### **2.7.4.3. Metode Sumuran (*Hole/cup*)**

Pada lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji dibuat suatu lubang yang selanjutnya diisi dengan zat antimikroba uji. Kemudian setiap

lubang itu diisi dengan zat uji. Setelah diinkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai dengan mikroba uji, dilakukan pengamatan dengan melihat ada atau tidaknya zona hambatan disekeliling lubang (Bonang, 1992).

### **2.7.5. Metode Dilusi**

Metode ini dilakukan dengan mencampurkan zat antimikroba dan media agar, yang kemudian diinokulasikan dengan mikroba uji. Hasil pengamatan yang akan diperoleh berupa tumbuh atau tidaknya mikroba dalam media. Aktivitas zat antimikroba ditentukan dengan melihat konsentrasi hambat minimum (KHM) yang berupa konsentrasi terkecil dari zat antimikroba uji yang masih memberikan efek penghambatan terhadap pertumbuhan mikroba uji (Pratiwi, 2008). Metode ini terdiri atas dua cara, yaitu :

#### **2.7.5.1. Metode Dilusi Cair / *Broth Dilution Test (serial diution)***

Pengujian ini dilakukan dengan menggunakan sederet tabung reaksi yang diisi dengan inokulum kuman dan larutan antibakteri dalam berbagai konsentrasi. Zat untuk pengujian aktivitas antibakteri diencerkan sesuai serial dalam media cair, kemudian diinokulasikan dengan kuman dan diinkubasi pada waktu dan suhu yang sesuai dengan mikroba uji (Yasjudani, 2017).

#### **2.7.5.2. Metode Dilusi Padat (*solid dilution test*)**

Metode ini dilakukan dengan cara zat antibakteri diencerkan dalam media agar. Zat antibakteri dituangkan ke dalam cawan petri sampai media agar membeku kemudian diinokulasikan kuman dan diinkubasi. Konsentrasi terendah larutan zat antibakteri yang masih memberikan hambatan terhadap pertumbuhan kuman ditetapkan sebagai konsentrasi hambat minimum (Yasjudani, 2017).

## **2.8. Obat Golongan Antibakteri**

### **2.8.1. Kloramfenikol**

Antibiotik yang digunakan adalah Kloramfenikol. Kloramfenikol merupakan suatu golongan antibiotika dengan spektrum kerja yang luas. Antibiotik ini berkhasiat sebagai bakteristatik terhadap hampir semua bakteri Gram positif dan sejumlah bakteri Gram negatif (Tjay dan Rahardja, 2015). Mekanisme kerja kloramfenikol sebagai antibakteri yaitu mengubah proses

denaturasi protein dan asam nukleat pada bakteri sehingga dapat merusak sel bakteri (Ganiswara, 2012). Kloramfenikol juga dapat menghambat enzim peptidil transferase yang berperan sebagai katalisator untuk ikatan-ikatan peptida ketika sintesis protein pada bakteri (Brooks *et al.*, 2005)

Kloramfenikol digunakan sebagai kontrol positif pada penelitian ini karena kloramfenikol memiliki mekanisme kerja yang sama dengan senyawa yang terkandung dalam daun biduri yaitu senyawa flavonoid. Mekanisme kerja senyawa flavonoid sebagai antibakteri yaitu menghambat sintesis asam nukleat yang menyebabkan penghambatan pembentukan DNA dan RNA serta merusak membran sel bakteri (Rijayanti, 2014).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Dwi Ratna *et al.* (2015), hasil uji sensitifitas menunjukkan *S. Aureus* bersifat resisten terhadap ampisilin, eritromisin dan tetrasiklin dengan zona hambat masing-masing sebesar 12, 13 dan 9 mm, sedangkan pada kloramfenikol bersifat sensitif dengan zona hambatnya 22 mm.

Karakteristik Kloramfenikol menurut FI IV adalah sebagai berikut :

Nama Umum	: Kloramfenikol
Nama Lain	: Chloramphenicol
Nama Kimia	: <i>D(-) treo-2-diklorasetamido-1-p-nitrofenilpropana-1,3-diol</i>
BM	: 323,13
Suhu Lebur	: 149°C – 153°C
Pemerian	: Hablur halus berbentuk jarum atau lempeng memanjang; putih hingga putih kelabu atau putih kekuningan; larutan praktis netral terhadap lakmus P; stabil dalam larutan netral atau larutan agak asam.
Kelarutan	: Sukar larut dalam air, mudah larut dalam etanol, dalam propilen glikol, dalam aseton dan dalam etil asetat.
Persyaratan	: Pada sediaan kapsul kloramfenikol mengandung kloramfenikol, tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 120,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

## **2.9. Hipotesis**

- 2.9.1.** Fraksi daun biduri memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* karena memiliki senyawa aktif tannin, saponin, dan flavonoid.
- 2.9.2.** Fraksi yang memiliki zona hambat paling luas sebagai antibakteri *Staphylococcus aureus* adalah fraksi polar.
- 2.9.3.** Konsentrasi optimum fraksi polar sebagai antibakteri *Staphylococcus aureus* memiliki daya hambat lebih besar.

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1. Bahan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu daun biduri, etanol 70%, bakteri *Staphylococcus aureus*, antibiotik kloramfenikol, media *Nutrient Agar*, media *Nutrien broth*, NaCl, n-heksana, etil asetat, *aquadestilata*, HCl, magnesium, kloroform, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, asam asetat glasial, Mg, dan FeCl<sub>3</sub>.

#### **3.2. Alat**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari: botol maserasi, tabung reaksi, rak tabung reaksi, erlenmeyer, cawan penguap, corong, labu evaporator, aluminium foil, autoklaf, cawan petri, jarum ose, batang L, pinset, kaca arloji, pipet, blender, spatula, gelas ukur, mikropipet, dan tip, lampu spiritus, kapas steril, vortex, *hot plate*, oven, lemari pendingin, *laminar air flow* (LAF), inkubator, cakram kosong steril, jangka sorong, dan alat-alat gelas standar laboratorium.

#### **3.3. Populasi Penelitian**

Populasi dalam penelitian ini adalah daun biduri yang terdapat di kabupaten Tulungagung, Jawa Timur.

#### **3.4. Sampel Penelitian**

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun biduri sebanyak 5 kg diperoleh di halaman Kampus STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung dan di Desa Gempolan, Kecamatan Pakel, Kabupaten Tulungagung.

#### **3.5. Variabel Penelitian**

Variabel penelitian yaitu segala sesuatu dalam bentuk apapun yang ditetapkan oleh peneliti sebagai hal yang akan digunakan untuk dipelajari



sehingga diperoleh informasi tentang hal tersebut untuk diambil kesimpulannya (Sugiyono, 2013). Variabel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu, variabel bebas, variabel kontrol dan variabel terikat.

### **3.5.1. Variabel Bebas**

Variabel bebas adalah variabel yang dapat menjadi penyebab atau yang mempengaruhi perubahannya atau munculnya variabel dependen (terikat) (Sugiyono, 2013). Variabel bebas yang digunakan dalam penelitian ini adalah variasi konsentrasi 10%, 20%, dan 30% dari fraksi daun biduri.

### **3.5.2. Variabel Kontrol**

Variabel kontrol atau terkendali yaitu variabel yang dibuat konstan atau dikendalikan sehingga hubungan variabel terikat terhadap variabel bebas tidak dipengaruhi oleh faktor luar yang tidak diteliti (Sugiyono, 2013). Variabel kontrol dalam penelitian ini adalah bakteri *Staphylococcus aureus*.

### **3.5.3. Variabel Terikat**

Variabel terikat yaitu variabel yang menjadi akibat atau yang dipengaruhi oleh adanya variabel bebas (Sugiyono, 2013). Variabel terikat yang digunakan dalam penelitian ini adalah daya hambat fraksi daun biduri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

## **3.6. Metode Penelitian**

### **3.6.1. Determinasi Tanaman**

Sampel tanaman daun biduri diidentifikasi di UPT Materia Medika Batu, Jawa Timur. Tujuan dari determinasi adalah untuk mengetahui kebenaran jenis tanaman.

### **3.6.2. Pembuatan Simplisia**

Pengumpulan daun biduri diambil pada bagian daun tua atau muda dengan cara dipetik, kemudian disortasi basah daun yang telah dipetik dan dipisahkan dari kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing lainnya (Depkes RI, 1985). Pencucian dilakukan dengan air bersih yang mengalir dari sumur untuk menghilangkan tanah dan pengotor lainnya yang melekat pada bahan simplisia. Pengeringan simplisia dilakukan dengan cara diangin-anginkan atau tidak terkena cahaya matahari

secara langsung pada suhu kamar. Simplisia kering dipisahkan dari kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing lainnya. Simplisia yang telah kering kemudian dihaluskan dan diayak dengan ayakan no.mesh 80 sehingga dihasilkan serbuk daun biduri (Depkes RI, 1985).

### **3.6.3. Pemeriksaan Karakteristik Simplisia**

#### **3.6.3.1. Uji Susut Pengeringan Simplisia**

Susut pengeringan simplisia adalah pengurangan berat bahan simplisia setelah dikeringkan :

$$\% \text{ Susut pengeringan} = \frac{\text{Bobot daun basah} - \text{bobot daun kering}}{\text{Bobot daun basah}} \times 100\% \text{ (Depkes RI, 2008).}$$

Penetapan susut pengeringan pada simplisia bertujuan untuk mengetahui batas maksimal atau rentang besarnya pengurangan berat bahan pada proses pengeringan serta tidak terdapat syarat atau rentang nilai yang ditetapkan (Depkes RI, 2000).

#### **3.6.3.2. Uji Kadar Air Serbuk Simplisia**

Uji kadar air serbuk simplisia dilakukan dengan cara ditimbang sebanyak 10 g ekstrak daun biduri. Dikeringkan pada suhu 105<sup>0</sup>C selama 5 jam dan ditimbang. Perhitungan uji kadar air yaitu sebagai berikut :

$$\% \text{ Kadar air} = \frac{\text{Bobot awal} - \text{bobot akhir}}{\text{Bobot awal}} \times 100\% \text{ (Depkes RI, 1985).}$$

Kandungan air serbuk simplisia yang memenuhi persyaratan yaitu kurang dari 10% karena reaksi enzimatik tidak dapat berlangsung apabila kadar air dalam serbuk simplisia kurang dari 10% dapat mencegah terjadinya penurunan mutu serbuk simplisia (BPOM RI, 2014).

### **3.6.4. Pembuatan Ekstrak Daun Biduri**

Serbuk simplisia daun biduri ditimbang sebanyak 500 gram. Proses selanjutnya yaitu memasukkan serbuk simplisia daun biduri dalam bejana maserasi, lalu ditambah dengan pelarut etanol 70% sebanyak 3.75 liter atau hingga terendam. Selanjutnya diaduk hingga homogen. Serbuk dalam bejana maserasi disimpan dalam ruangan yang terlindung dari sinar matahari secara langsung selama 5 hari. Selama perendaman setiap hari diaduk selama 15 menit.

Setelah direndam selama 5 hari, disaring untuk mendapatkan maserat, maserat ditampung hasil ampas yang diperoleh dimaserasi lagi dengan jumlah penyari yang sama. Lalu filtrat hasil remaserasi dipekatkan dengan oven pada suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak daun biduri. Pemekatan dilakukan pada suhu 50°C karena suhu tersebut dapat mencegah terjadinya kerusakan senyawa metabolit sekunder seperti saponin, flavonoid dan tanin (Depkes RI, 1986).

### **3.6.5. Rendemen Ekstrak**

Rendemen merupakan perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal. Rendemen ekstrak daun biduri dihitung dengan membandingkan bobot awal simplisia dengan bobot akhir yang dihasilkan.

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

Hasil perhitungan rendemen ditunjukkan dengan satuan (%), semakin tinggi nilai rendemen maka nilai ekstrak yang dihasilkan semakin banyak. Kualitas ekstrak yang dihasilkan berbanding terbalik dengan jumlah rendemen yang dihasilkan. Semakin tinggi nilai rendemen maka semakin rendah mutu yang didapatkan (Wijaya *et al.*, 2018).

### **3.6.6. Uji Bebas Etanol Ekstrak**

Uji bebas etanol ekstrak dilakukan dengan memasukkan sejumlah ekstrak kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 1 ml asam asetat glasial, dan 1 ml asam sulfat pekat. Campuran dihomogenkan. Hasil positif bebas etanol jika terjadi perubahan warna jingga menjadi hijau kebiruan (Ikhsanudin dan Mardhiyah, 2017).

### **3.6.7. Skrining Fitokimia**

#### **3.6.7.1. Flavonoid**

Sampel sebanyak kurang lebih 0,5 ml dicampur dengan 3 ml etanol 70%, lalu dikocok, dipanaskan dan dikocok lagi kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh, kemudian ditambah Mg 0,1 g dan 2 tetes HCl pekat. Adanya flavonoid ditandai dengan warna merah, orange, dan hijau pada lapisan etanol (Harborne, 2006).

### **3.6.7.2. Saponin**

Sampel diambil sebanyak 0,5 gram ditambah dengan 10 ml *aquadestilata* panas, didinginkan dan kemudian dikocok selama 10 menit. Terbentuknya busa yang stabil (bertahan lama) menunjukkan positif terdapat saponin (Harborne, 2006).

### **3.6.7.3. Tanin**

Sampel sebanyak 2 gram ditambah etanol sampai sampel terendam semuanya. Kemudian sebanyak 1 ml larutan sampel dipindahkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan 2-3 tetes larutan  $\text{FeCl}_3$  1%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hitam kebiruan atau hijau (Harborne, 2006).

### **3.6.8. Fraksinasi**

Ditimbang sejumlah ekstrak 5 gram, dilarutkan menggunakan 75 ml *aquadestilata*. Larutan sampel dimasukkan dalam corong pisah, ditambah dengan pelarut n-heksan 25 ml di ulang sebanyak 3 kali sebagai pelarut non polar. Kemudian di gojog hingga tampak terjadi seperti pemisahan. Masing-masing ditampung di beaker glass. Fraksi air difraksinasi dengan etil asetat 25 ml di ulang sebanyak 3 kali sebagai pelarut semi polar. Fraksi yang diperoleh dipekatkan sampai didapat fraksi yang kental (Harborne, 2006).

### **3.6.9. Uji Bebas Etil Asetat Dalam Fraksi Etil Asetat**

Uji bebas etil setat dilakukan dengan memasukkan fraksi etil asetat kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan asam sulfat encer dan dipanaskan. Hasil positif bebas etil asetat jika tidak tercium bau khas asetat atau cuka (Yuliani *et al.*, 2016).

### **3.6.10. Sterilisasi Alat dan Bahan**

Sterilisasi adalah suatu proses menghilangkan semua jenis organisme hidup seperti protozoa, fungi, bakteri, *mycoplasma* atau virus yang terdapat pada suatu benda. Sterilisasi alat dan bahan dilakukan menggunakan autoklaf pada suhu  $121^\circ\text{C}$  dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Sterilisasi larutan uji dan media dilakukan dalam wadah yang sesuai seperti erlenmeyer dengan mulut ditutup kapas dan dibungkus aluminium foil (Pratiwi, 2008).

### **3.6.11. Pembuatan Media**

#### **3.6.11.1. Pembuatan Media *Nutrient Broth* (NB)**

Serbuk NB sebanyak 0,08 gram dilarutkan dalam 10 ml *aquadestilata*, kemudian dipanaskan sampai mendidih sehingga semuanya larut. Media disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit tekanan 15 psi. Media dituangkan ke dalam tabung reaksi (Muhammad, 2014).

#### **3.6.11.2. Pembuatan Media *Nutrient Agar* (NA)**

Ditimbang serbuk media agar NA sebanyak 0,3 gram. Dimasukkan ke dalam Erlenmeyer kemudian ditambah *aquadestilata* sebanyak 15 ml. Dipanaskan di atas api sampai serbuk agar benar-benar larut. Dilakukan pemeriksaan pH dengan kertas pH Universal. Selanjutnya media agar disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Biarkan temperatur turun sampai 45°C. Media agar siap dituangkan pada plate/ cawan petri (Muhammad., 2014). Cawan petri berdiameter 15 cm dapat menampung media sebanyak 15-20 ml, sedangkan cawan berdiameter 9 cm dapat menampung media sebanyak 10 ml (Widodo dan Kusharyati, 2013).

### **3.6.12. Pembuatan Larutan Uji**

Pembuatan larutan uji dilakukan dengan cara seri konsentrasi fraksi daun biduri diencerkan menggunakan DMSO 10% dengan volume masing-masing 5 ml. Konsentrasi 10% dibuat dengan menimbang fraksi sebanyak 0,1 gram dilarutkan dalam 5 ml DMSO, konsentrasi 20% dibuat dengan menimbang fraksi sebanyak 0,2 gram dilarutkan dalam 5 ml DMSO, dan konsentrasi 30% dibuat dengan menimbang fraksi sebanyak 0,3 gram dilarutkan dalam 5 ml DMSO.

### **3.6.13. Pembuatan Suspensi Bakteri**

Diambil bakteri uji yang telah diinokulasi menggunakan kawat ose steril. Bakteri *Staphylococcus aureus* disuspensi kedalam tabung berisi 5 ml media NB dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Suspensi bakteri tersebut kemudian diencerkan menggunakan NaCl 0,9% hingga diperoleh kekeruhan yang sama dengan standar kekeruhan larutan 0,5 Mc. Farland (biakan cair yang mempunyai populasi  $1 \times 10^7$  CFU/ml sampai  $1 \times 10^8$  CFU/ml (Putra, 2015).

### **3.7. Uji Aktivitas Antibakteri**

#### **3.7.1. Fraksi Daun Biduri**

Uji aktivitas antibakteri fraksi daun biduri menggunakan metode difusi. Disiapkan media yang telah diinokulasi dengan bakteri. Disiapkan dan disterilkan kertas cakram diameter 6 mm. Fraksi *aquadestilata*, etil asetat dan n-heksan daun biduri dengan berbagai konsentrasi 10%, 20% dan 30% (b/v) ditambahkan pada masing-masing cakram sejumlah 20 mikropipet. Kertas cakram steril yang telah diresapi dengan ketiga fraksi tersebut ditempatkan pada permukaan media dengan pinset steril dan ditekan dengan lembut kebawah untuk memastikan kontak antara kertas cakram dengan permukaan media. Kontrol positif disiapkan dengan mencelupkan kertas cakram dalam kloramfenikol. Kontrol negatif disiapkan dengan mencelupkan kertas cakram dalam DMSO 10%. Cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Diukur diameter zona hambat (Kusumowati *et al.*, 2014).

#### **3.7.2. Pembuatan Larutan Uji DMSO 10%**

Konsentrasi DMSO 10% dibuat dengan cara DMSO dipipet sebanyak 10 ml dan ditambahkan *aquadestilata* sebanyak 90 ml. DMSO digunakan sebagai kontrol negatif, karena DMSO tidak mempengaruhi aktivitas antibakteri dari fraksi daun biduri (Indrasti *et al.*, 2012).

#### **3.7.3. Pengukuran Zona Hambat**

Pengukuran zona hambat diukur dengan menggunakan mistar berskala/jangka sorong. Kemudian diperoleh berupa diameter (mm) daerah hambatan pertumbuhan mikroba termasuk diameter kertas cakram. Untuk mendapatkan hasil yang akurat, tiap daerah hambat dilakukan 3 kali pengukuran dari arah yang berbeda (Mulyatni, 2012).

### **3.8. Analisis Statistika**

Data hasil penelitian aktivitas antibakteri fraksi daun biduri pada *Staphylococcus aureus* dianalisis menggunakan program SPSS 16 untuk mengetahui aktivitas antibakteri fraksi daun biduri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Pengolahan data dapat dilakukan sebagai berikut :

### 3.8.1. Uji Normalitas Data

Uji normalitas adalah uji untuk mengukur apakah data mempunyai distribusi normal, sehingga dapat digunakan dalam statistik parametrik. Penelitian ini menggunakan uji *Kolmogorov-smirnov* sebagai uji normalitas data.

Perumusan hipotesis :

$H_0$  : data berdistribusi normal

$H_1$  : data berdistribusi tidak normal

Pengambilan keputusan :

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

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

### 3.8.2. Uji Homogenitas

Uji homogenitas bertujuan untuk menguji kesamaan (homogenitas) beberapa sampel, yakni seragam tidaknya variasi sampel–sampel yang diambil dari populasi yang sama (Ghazali, 2011). Pengujian homogenitas dilakukan dengan menggunakan *Levene statistic*.

Perumusan hipotesis :

$H_0$  : data yang didapat memiliki variansi yang sama atau homogen

$H_1$ : data yang didapat memiliki variansi yang tidak sama atau tidak homogen

Pengambilan keputusan :

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

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

### 3.8.3. Uji *One Way Anova*

Uji *One Way Anova* bertujuan untuk membedakan rata-rata sampel uji. Dalam penelitian ini digunakan untuk membuktikan bahwa perlakuan ekstrak daun biduri dengan variasi konsentrasi fraksi berbeda terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Perumusan hipotesis :

$H_0$ : Tidak ada pengaruh variasi konsentrasi fraksi daun biduri terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*

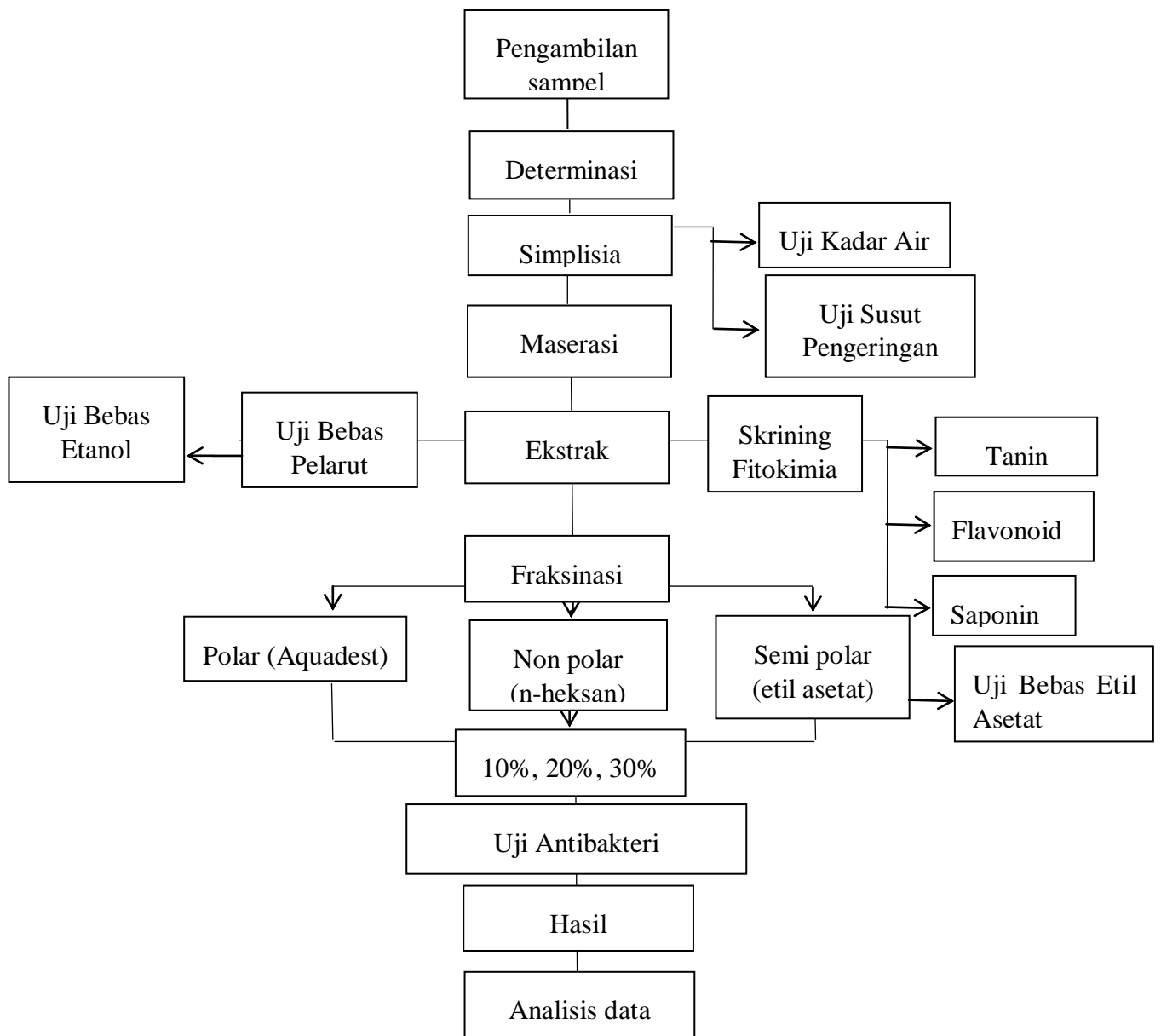
$H_1$ : Ada pengaruh variasi konsentrasi fraksi daun biduri terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*

Pengambilan keputusan :

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



### 3.9. Kerangka Penelitian



**Gambar 3.1 Rancangan Penelitian**

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1. Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman biduri dilakukan di Materia Medika, Batu. Determinasi dilakukan untuk mengetahui jenis suatu tanaman berdasarkan klasifikasi ilmiahnya. Hasil determinasi menunjukkan bahwa sampel yang digunakan adalah tanaman biduri (*Calotropis gigantea*) dengan kunci determinasi sebagai berikut 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14b-16a-239a-240b-241b-242b-1a-2b-3. Morfologi tanaman biduri yaitu mempunyai batang bulat, tebal, ranting muda berambut tebal, putih. Daun tunggal, bertangkai pendek, letak berhadapan. Helaian bulat telur atau bulat panjang, ujung tumpul, pangkal berbentuk jantung, tepi rata, pertulangan menyirip, panjangnya 8-30 cm, lebar 4-15 cm, berwarna hijau muda. Permukaan daun muda berambut rapat berwarna putih (lambat laun menghilang). Bunga majemuk, mahkota berbentuk kemudi kapal, buah bumbung, biji kecil, lonjong, pipih cokelat.

#### 4.2. Pemeriksaan Karakteristik Simplisia

##### 4.2.1. Uji susut pengeringan simplisia

Hasil uji susut pengeringan simplisia daun biduri dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Hasil uji susut pengeringan simplisia daun biduri

Sampel	Bobot daun basah	Bobot daun kering	% Hasil
Daun biduri	5,00 kg	1,8 kg	64 %

Rumus % susut pengeringan (Depkes RI, 2008) :

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

Bobot daun basah

Uji susut pengeringan pada simplisia digunakan untuk mengetahui rentang besarnya pengurangan berat simplisia pada proses pengeringan (Depkes RI, 2000). Bobot basah daun biduri yaitu 5 kg dan setelah dilakuka proses pengeringan selama 5 hari bobot kering daun biduri menjadi 1,8 kg, sehingga

hasil persen susut pengeringan daun biduri yaitu sebesar 64% sehingga daun biduri mengalami pengurangan berat bahan yang besar pada proses pengeringannya.

#### 4.2.2. Uji kadar air serbuk simplisia

Hasil uji kadar air serbuk simplisia daun biduri dapat dilihat pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Hasil uji kadar air serbuk simplisia daun biduri

Sampel	Bobot awal	Bobot akhir	% Hasil
Daun biduri	10,00 gram	9,15 gram	8,5 %

Rumus % kadar air ( Depkes RI, 2000) :

$$\% \text{ Kadar air} = \frac{\text{Bobot awal} - \text{Bobot akhir}}{\text{Bobot awal}} \times 100\%$$

Uji kadar air dilakukan untuk mengetahui presentase kadar air yang terdapat pada serbuk simplisia (Depkes RI, 2000). Hasil dari uji kadar air serbuk daun biduri yaitu 8,5 %. Hasil tersebut menunjukkan bahwa kadar air serbuk daun biduri tidak melampaui batas maksimal yaitu 10%. Kandungan air serbuk simplisia yang memenuhi persyaratan yaitu kurang dari 10% karena reaksi enzimatik tidak dapat berlangsung apabila kadar air dalam serbuk simplisia kurang dari 10% dapat mencegah terjadinya penurunan mutu serbuk simplisia (BPOM RI, 2014).

#### 4.3. Pembuatan Ekstrak Daun Biduri

Serbuk daun biduri diekstraksi menggunakan metode maserasi. Metode maserasi digunakan karena lebih sederhana, relatif murah, tidak memerlukan peralatan yang rumit, terjadi kontak antara sampel dan pelarut yang cukup lama dan dapat menghindari kerusakan komponen senyawa yang tidak tahan panas (Susanty dan Bachdim, 2016).

Maserasi dilakukan dengan cara menimbang serbuk daun biduri sebanyak 500 gram. Kemudian ditambah dengan pelarut etanol 70% sebanyak 3.75 liter atau hingga terendam. Pelarut etanol 70% digunakan karena dapat mengekstraksi senyawa flavonoid, saponin, dan tanin pada daun biduri, menghasilkan persen

rendemen tinggi, tidak beracun dan tidak berbahaya (Wahyuni *et al.*, 2018). Selanjutnya diaduk hingga homogen. Serbuk dalam bejana maserasi disimpan dalam ruangan yang terlindung dari sinar matahari secara langsung selama 5 hari. Selama perendaman setiap hari diaduk selama 15 menit. Setelah direndam selama 5 hari, disaring untuk mendapatkan maserat, maserat ditampung hasil ampas yang diperoleh dimaserasi lagi dengan jumlah penyari yang sama. Lalu filtrat hasil remaserasi dipisahkan dengan oven pada suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak daun biduri. Pemekatan dilakukan pada suhu 50°C karena suhu tersebut dapat mencegah terjadinya kerusakan senyawa metabolit sekunder seperti saponin, flavonoid dan tanin (Depkes RI, 1986).

#### 4.4. Pemeriksaan Karakteristik Ekstrak

##### 4.4.1. Organoleptik

Organoleptis ekstrak daun biduri berwarna coklat, berbentuk kental dan memiliki bau khas daun biduri.

##### 4.4.2. Rendemen ekstrak

Tabel 4.3 Hasil rendemen ekstrak daun biduri

Sampel	Bobot simplisia	Bobot ekstrak	Hasil
Daun biduri	500 gram	27 gram	5,4 %

Rumus % rendemen (Depkes RI, 2000) :

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak yang dihasilkan}}{\text{Bobot awal simplisia}} \times 100 \%$$

Bobot serbuk simplisia daun biduri yang digunakan untuk maserasi yaitu 500 gram dan bobot ekstrak yang dihasilkan yaitu sebesar 27 gram sehingga hasil rendemen ekstrak daun biduri yaitu 5,4 %. Hasil tersebut menunjukkan bahwa nilai rendemen ekstrak sangat kecil, hal ini disebabkan karena metode maserasi tidak menggunakan pemanasan sehingga pada pergantian pelarut berlangsung secara statis meskipun pergantian pelarut telah dilakukan dengan metode remaserasi. Hasil penghitungan rendemen ditunjukkan dengan satuan persen (%), semakin tinggi nilai rendemen maka nilai ekstrak yang dihasilkan semakin banyak. Kualitas ekstrak yang dihasilkan berbanding terbalik dengan jumlah

rendemen yang dihasilkan. Semakin tinggi nilai rendemen maka semakin rendah mutu yang didapatkan (Wijaya *et al.*, 2018).

#### 4.4.3. Uji Bebas Etanol Ekstrak

Uji bebas etanol bertujuan untuk memastikan bahwa ekstrak daun biduri yang dihasilkan bebas dari etanol karena pelarut tersebut dapat membunuh bakteri sehingga dikhawatirkan mempengaruhi aktivitas antibakteri (Sumiati, 2014). Hasil menunjukkan bahwa ekstrak daun biduri tersebut positif bebas etanol yang ditandai dengan perubahan warna jingga menjadi hijau kebiruan (Ikhsanudin dan Mardhiyah, 2017).

Tabel 4.4 Hasil Uji Bebas Etanol Ekstrak Daun Biduri

Sampel	Perlakuan	Perubahan warna	Hasil
Ekstrak Daun Biduri ( <i>Calotropis gigantea</i> )	Asam asetat, asam sulfat, dipanaskan	Hijau kebiruan	+

Keterangan: (+) terjadi perubahan warna jingga menjadi warna hijau kebiruan

#### 4.5. Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Biduri

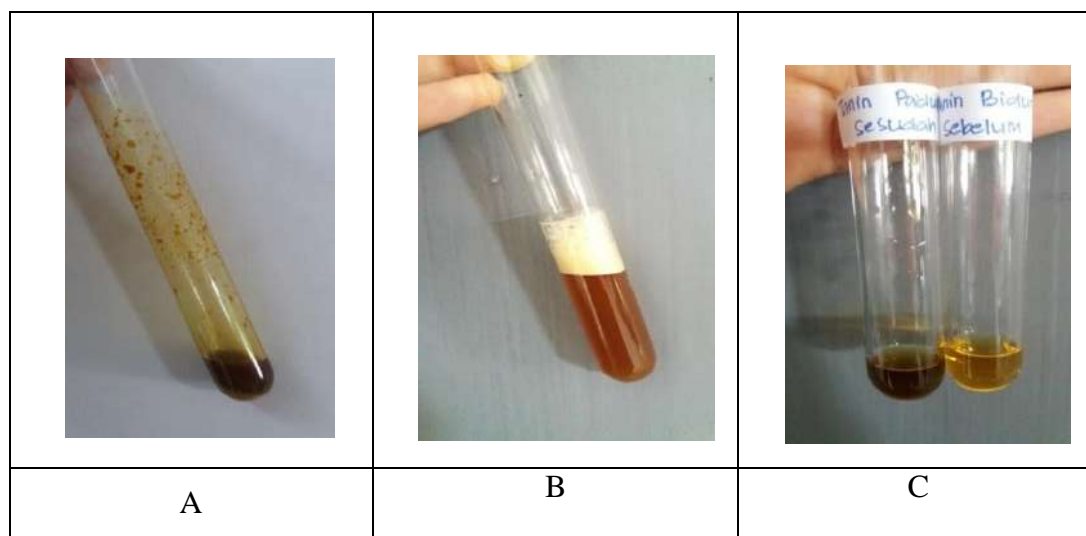
Skrining fitokimia dilakukan pada ekstrak daun biduri. Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui senyawa yang terkandung dalam daun biduri. Menurut Dewi *et al.*, (2018), daun biduri memiliki kandungan senyawa aktif antara lain flavonoid, tanin, dan saponin.

Hasil skrining fitokimia ekstrak daun biduri dapat dilihat pada Tabel 4.5.

Tabel 4.5 Hasil skrining fitokimia ekstrak daun biduri

Kandungan senyawa kimia	Pereaksi	Perubahan warna	Hasil
Flavonoid	Serbuk Mg + HCl pekat	Jingga	+
Saponin	Ekstrak + <i>aquadestilata</i>	Busa stabil	+
Tanin	Etanol 70% + FeCl 1%	Hitam kebiruan	+

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



Gambar 4.1 Hasil pengamatan skrining fitokimia senyawa (A) flavonoid, (B) saponin, dan (C) tanin

Berdasarkan hasil skrining fitokimia pada ekstrak daun biduri menunjukkan bahwa ekstrak daun biduri mengandung senyawa flavonoid, saponin dan tanin. Hasil skrining fitokimia tersebut telah sesuai dengan penelitian Dewi *et al.*, (2018), yang menyatakan bahwa daun biduri mengandung senyawa saponin, tanin dan flavonoid.

#### 4.5.1. Uji Flavonoid

Hasil uji flavonoid ekstrak daun biduri menunjukkan hasil positif yaitu dengan terbentuknya warna jingga orange, karena penambahan logam Mg dan HCl telah mereduksi inti benzopiron yang terdapat dalam struktur flavonoid sehingga terbentuk garam flavilium berwarna merah atau jingga (Ergina *et al.*, 2014).

#### 4.5.2. Uji Saponin

Uji saponin bertujuan untuk mengetahui adanya senyawa saponin di dalam ekstrak daun biduri. Saponin merupakan senyawa aktif permukaan dan bersifat seperti sabun yang dapat dideteksi berdasarkan kemampuannya dalam membentuk busa. Saponin termasuk golongan triterpenoid yang mempunyai kerangka karbon berdasarkan isoprena (Bambang *et al.*, 2016). Uji yang dilakukan diperoleh hasil

positif dengan terbentuknya busa. Busa yang dihasilkan pada uji saponin disebabkan karena adanya glikosia yang dapat membentuk busa dalam air dan terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Ningsih *et al.*, 2016).

#### 4.5.3. Uji Tanin

Pengujian tanin bertujuan untuk mengetahui adanya senyawa tanin di dalam ekstrak daun biduri. Pada pengujian ini, diperoleh hasil positif karena hasil yang didapatkan pada ekstrak daun biduri terbentuk warna hitam kebiruan yang menandakan terbentuknya senyawa kompleks antara tanin dan  $\text{Fe}^{3+}$  yang memberikan indikasi perubahan warna hijau, merah, ungu, biru, atau hitam yang kuat (Ergina *et al.*, 2014).

Uji skrining fitokimia menggunakan  $\text{FeCl}_3$  karena dapat menentukan bahwa sampel tersebut mengandung gugus fenol. Adanya gugus fenol ditunjukkan dengan warna hijau kehitaman atau biru tua setelah ditambahkan dengan  $\text{FeCl}_3$ , sehingga apabila uji fitokimia dengan  $\text{FeCl}_3$  1% memberikan hasil positif dimungkinkan dalam sampel tersebut terdapat senyawa fenol dan dimungkinkan salah satunya adalah tanin karena tanin merupakan senyawa polifenol (Ergina *et al.*, 2014).

#### 4.6. Fraksinasi Daun Biduri

Tabel 4.6 Hasil fraksinasi daun biduri

Sampel	Bobot Ekstrak	Bobot Fraksi	Rendemen
<i>Aquadestilata</i>	5 gram	1,53 gram	30,6 %
Etil Asetat	5 gram	0,53 gram	10,6 %
N- Heksan	5 gram	0,73 gram	14,6 %

% Rendemen =  $\frac{\text{Bobot fraksi yang dihasilkan}}{\text{Bobot awal ekstrak}} \times 100 \%$

Bobot awal ekstrak

Fraksinasi merupakan proses pemisahan suatu senyawa berdasarkan perbedaan kepolarannya. Metode fraksinasi menggunakan prinsip *like dissolve like* yaitu senyawa pada tanaman akan larut dalam pelarut yang memiliki kepolaran yang sama, apabila kepolarannya berbeda maka akan terpisah

(Harbone, 1987). Fraksinasi dilakukan replikasi sebanyak 3 kali untuk mengoptimalkan pemisahan senyawa yang terkandung dalam ekstrak daun biduri dalam masing – masing pelarut, sehingga senyawa yang bersifat polar akan larut ke dalam pelarut polar (*Aquadestilata*), senyawa yang bersifat semi polar akan larut ke dalam pelarut semi polar (etil asetat) dan senyawa yang bersifat non polar akan larut ke dalam pelarut non polar (n-heksan) (Marcelinda *et al.*, 2016).

Hasil fraksinasi daun biduri masing-masing diperoleh rendemen yang berbeda karena adanya perbedaan kemampuan pelarut dalam proses penyarian. Fraksi *Aquadestilata* memiliki persentase rendemen lebih besar daripada etil asetat dan n-heksan, karena dalam daun biduri memiliki kandungan senyawa yang bersifat polar lebih banyak sehingga senyawa tersebut dapat terlarut dalam pelarut *Aquadestilata*, sedangkan fraksi etil asetat memiliki persentase rendemen lebih besar daripada n-heksan karena senyawa flavonoid memiliki aglikon yang bersifat semi polar sehingga dapat larut dalam etil asetat. Berdasarkan hasil tersebut dapat diketahui bahwa daun biduri mengandung senyawa yang bersifat polar dalam jumlah lebih banyak.

#### 4.7. Skrining Fitokimia Fraksi Daun Biduri

Hasil skrining fitokimia fraksi *Aquadestilata*, etil asetat dan N-heksan daun biduri dapat dilihat pada Tabel 4.7 dan gambar dapat dilihat pada lampiran 4.

Tabel 4.7 Hasil skrining fitokimia fraksi daun biduri

Kandungan senyawa kimia	Perubahan warna			Hasil		
	<i>Aquades tilata</i>	Etil Asetat	N-Heksan	<i>Aqua dest</i>	Etil Asetat	N-Heksan
Flavonoid	Orange	Orange	Orange	+	+	+
Saponin	Busa stabil	Tidak terdapat busa	Tidak terdapat busa	+	-	-
Tanin	Hitam kebiruan	Hitam kebiruan	Hitam kebiruan	+	+	+



Hasil skrining fitokimia fraksi daun biduri menunjukkan bahwa pada fraksi *Aquadestilata* mengandung senyawa flavonoid, saponin dan tanin, pada fraksi etil asetat mengandung senyawa flavonoid dan tanin, sedangkan pada fraksi n-heksan mengandung senyawa flavonoid dan tanin.

#### 4.8. Uji Identifikasi Bakteri

Identifikasi bakteri bertujuan untuk mengetahui bakteri yang digunakan adalah bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang berasal dari UESBE Laboratorium Iso Universitas Setia Budi yang sudah bersertifikat dengan menggunakan metode pewarnaan, koagulasi, katalase dan goresan. Sertifikat bakteri dapat dilihat pada Lampiran 2.

Uji Pewarnaan Gram bertujuan untuk mengelompokkan bakteri menjadi 2 yaitu bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif. Hasil uji pewarnaan bakteri 51 *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat dinyatakan positif apabila berwarna ungu, berbentuk bulat dan bergerombol seperti buah anggur ketika diamati di bawah mikroskop (Anggraini, 2018). Uji koagulase bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri menghasilkan enzim koagulase. Koagulase merupakan protein ekstraseluler yang dihasilkan oleh *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Hasil uji koagulase bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat dinyatakan positif apabila terdapat gumpalan plasma atau *clot* pada dasar tabung (Krishna, 2013).



Uji Pewarnaan

Uji Koagulasi

Uji Katalase

Uji Goresan

**Gambar 4.1** Uji Identifikasi Bakteri

Uji Katalase bertujuan untuk membedakan antara *staphylococcus* dan *streptococcus*, dimana kelompok *staphylococcus* bersifat katalase positif. Semua galur *staphylococcus* adalah katalase positif. Hasil uji katalase dapat dinyatakan

positif apabila terdapat gelembung udara (Suhartanti et al., 2010). Hasil goresan bertujuan untuk pengamatan morfologi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menggunakan Vogel Johnson Agar (VJA). Hasil goresan positif ditunjukkan dengan adanya koloni dengan warna hitam dan medium di sekitar koloni berwarna kuning. Koloni warna hitam karena bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat mereduksi tellurit dan medium di sekitar koloni berubah menjadi kuning karena bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat memfermentasi manitol menjadi asam sehingga warna merah berubah menjadi kuning (Jawetz et al., 2012).

#### **4.9. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Biduri**

Hasil fraksi yang diperoleh dari ekstrak daun biduri yaitu fraksi *Aquadestilata*, etil asetat dan n-heksan yang kemudian dilakukan uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Pelarut yang digunakan yaitu DMSO 10%, karena DMSO tidak mempengaruhi aktivitas antibakteri dari fraksi daun biduri (Indrasti et al., 2012). Penelitian ini menggunakan kontrol negatif DMSO.

Kontrol positif yang digunakan yaitu kloramfenikol karena kloramfenikol memiliki mekanisme yang sama dengan senyawa yang terkandung dalam daun biduri yaitu senyawa flavonoid dan memiliki khasiat sebagai bakteristatik terhadap bakteri Gram positif maupun bakteri Gram negatif (Tjay dan Rahardja, 2015).

Uji aktivitas antibakteri fraksi daun biduri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menggunakan metode difusi cakram dengan suhu inkubasi 37°C selama 24 jam. Daya antibakteri fraksi daun biduri dapat dilihat dari ada atau tidaknya zona bening disekitar kertas cakram. Hasil zona hambat uji aktivitas antibakteri fraksi daun biduri dapat dilihat pada Tabel 4.8.

Tabel 4.8 Hasil zona hambat uji aktivitas antibakteri fraksi daun biduri

Sampel	Konsentrasi	Replikasi			Rata-rata	SD
		1	2	3		
Fraksi <i>Aquadestiata</i>	Kloramfenikol	24,00	27,00	24,00	25,00	1,732
	DMSO 10%	0,00	0,00	0,00	0,00	0,000
	10%	7,00	6,00	6,00	6,33	0,577
	20%	10,00	10,00	9,00	9,67	0,577
	30%	16,00	15,00	15,00	15,33	0,577
Fraksi Etil Asetat	Kloramfenikol	25,00	25,00	26,00	25,33	0,577
	DMSO 10%	0,00	0,00	0,00	0,00	0,000
	10%	5,00	4,00	4,00	4,33	0,577
	20%	8,00	8,00	7,00	7,67	0,577
	30%	9,00	8,00	7,00	8,00	1,000
Fraksi N- heksan	Kloramfenikol	25,00	27,00	26,00	26,00	1,000
	DMSO 10%	0,00	0,00	0,00	0,00	0,000
	10%	0,00	0,00	0,00	0,00	0,000
	20%	0,00	0,00	0,00	0,00	0,000
	30%	0,00	0,00	0,00	0,00	0,000

Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi *Aquadestilata* dan fraksi etil asetat memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dengan ditandai adanya zona bening di sekitar kertas cakram pada konsentrasi 10%, 20%, dan 30%, sedangkan pada fraksi n-heksan tidak memiliki zona hambat. Kontrol positif yang digunakan yaitu kloramfenikol. Rata-rata zona hambat yang dihasilkan kloramfenikol pada uji aktivitas antibakteri fraksi *Aquadestilata* adalah 25,00 mm, pada uji aktivitas antibakteri fraksi etil asetat memiliki rata-rata 25,33 mm, dan pada uji aktivitas antibakteri fraksi n-heksan memiliki rata-rata 26,00 mm.

Berdasarkan tabel tersebut rata-rata zona hambat fraksi *Aquadestilata* pada konsentrasi 10% sebesar 6,33 mm, pada konsentrasi 20% sebesar 9,67 mm, pada konsentrasi 30% sebesar 15,33 mm. Hasil tersebut menunjukkan bahwa pada konsentrasi 10% dan 20% termasuk kategori sedang dan pada konsentrasi 30%

termasuk kategori kuat. Zona hambat fraksi etil asetat pada konsentrasi 10% sebesar 4,33 mm, pada konsentrasi 20% sebesar 7,67 mm, dan pada konsentrasi 30% sebesar 8 mm. Hasil tersebut menunjukkan pada konsentrasi 10% termasuk kategori lemah dan pada konsentrasi 20% dan 30% termasuk kategori sedang. Zona hambat fraksi n-heksan pada konsentrasi 10%, 20%, dan 30% menunjukkan hasil 0 mm sehingga fraksi n-heksan tidak dapat menghambat aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus*.

Berdasarkan hasil tersebut dapat ditunjukkan bahwa fraksi *Aquadestilata* merupakan fraksi teraktif karena memiliki zona hambat paling besar terhadap *Staphylococcus aureus* jika dibandingkan dengan fraksi etil asetat dan n-heksan. Hasil tersebut disebabkan karena fraksi *Aquadestilata* bersifat polar sehingga mampu menarik senyawa flavonoid, tanin, dan saponin yang juga bersifat polar. Efektifitas ekstraksi suatu senyawa oleh pelarut sangat tergantung pada kelarutan senyawa tersebut dalam pelarut, sesuai dengan prinsip *like dissolve like* yaitu suatu senyawa akan terlarut pada pelarut dengan kepolaran yang sama (Verdiana *et al.*, 2018). Fraksi etil asetat memiliki zona hambat lebih rendah jika dibandingkan dengan fraksi *Aquadestilata* dan lebih tinggi jika dibandingkan dengan fraksi n-heksan.

#### **4.10. Analisis Statistika**

Data hasil penelitian aktivitas antibakteri fraksi daun biduri pada *Staphylococcus aureus* dianalisis menggunakan program SPSS 16 untuk mengetahui aktivitas antibakteri fraksi daun biduri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Perhitungan statistik digunakan untuk membandingkan aktivitas antibakteri fraksi *Aquadestilata*, fraksi etil asetat, dan fraksi N-heksan daun biduri pada masing-masing konsentrasi dengan menggunakan *one way ANOVA*.

##### **4.10.1. Uji Normalitas Data Fraksi Daun Biduri**

Tabel 4.9 Hasil Uji Normalitas Data Fraksi *Aqudestilata*, etil asetat dan n-heksan Daun Biduri

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kelompok	.087	45	.200 <sup>*</sup>	.947	45	.040

Berdasarkan perhitungan *Kolmogorov-Smirnov* menunjukkan hasil signifikan sebesar 0,200 yang berarti lebih besar dari 0,05 hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa data terdistribusi normal dan dapat dilanjutkan uji *one way ANOVA*.

#### 4.10.2. Hasil Uji Homogenitas Fraksi Daun Biduri

Tabel 4.10 Hasil Uji Homogenitas Fraksi Daun Biduri

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.092	8	18	.092

Berdasarkan nilai *Levene Statistic* menunjukkan hasil 0,092 lebih besar dari 0,05 yang berarti hasil tersebut memiliki varian yang homogen sehingga hasil dari uji homogenitas pada daya hambat antibakteri fraksi daun biduri dapat disimpulkan bahwa data tersebut mempunyai varian yang homogen.

#### 4.10.3. Hasil Uji *one way ANOVA* Fraksi Daun Biduri Dengan Seri Konsentrasi 10%, 20%, dan 30%

Tabel 4.11 Hasil Uji *one way ANOVA*

zona_hambat	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.051	8	.256	210.954	.000
Within Groups	.022	18	.001		
Total	2.072	26			

Berdasarkan hasil uji *one way ANOVA* pada hasil signifikan menunjukkan nilai sebesar 0,000 yang berarti kurang dari 0,05 sehingga hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh variasi konsentrasi fraksi daun biduri terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1. KESIMPULAN**

Berdasarkan hasil dan pembahasan dalam penelitian ini dapat disimpulkan bahwa :

- 5.1.1. Fraksi *Aquadestilata* dan fraksi etil asetat daun biduri memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.
- 5.1.2. Fraksi *Aquadestilata* memiliki zona hambat paling luas sebagai antibakteri *Staphylococcus aureus*.
- 5.1.3. Konsentrasi optimum fraksi *Aquadestilata* daun biduri sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* adalah 30%.

#### **5.2. SARAN**

- 5.2.1. Perlu dilakukan uji pada semua senyawa yang terkandung dalam ekstrak.
- 5.2.2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan bentuk sediaan yang berbeda.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anggriani Triliani Lona.2018. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi N-Heksana, Etil Asetat, Dan Air Dari Ekstrak Daun Hijau Tanaman Pucuk Merah (*Syzygium Myrtifolium* Walp.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* ATCC 25923. Skripsi.Surakarta: Universitas Setia Budi. Aslamiah, Suaibatul., dan Haryadi. 2014. Identifikasi Kandungan Kimia Golongan Senyawa Daun Pohon Kapuk (*Ceiba pentandra* L.) Sebagai Obat Tradisional. *Anterior Jurnal*. Vol. 14, No. 01, P : 11-19
- Bonang. 1992. *Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan Edisi 16*. Jakarta : Buku Kedokteran EGC
- BPOM RI. 2014. *Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 7 Tahun 2014 tentang Pedoman Uji Toksisitas Non Klinik secara In Vitro*. Jakarta : BPOM RI
- Brieger, Gottfried. *A Laboratory Manual for Modern Organic Chemistry*. New York : Oakland University
- Brooks GF, Butel JS, Carroll KC, Morse SA. 2007. Jawetz, Melnick, & Adelberg's *Medical Mikrobiologi*.24<sup>th</sup>Ed. USA : Mc Graw Hill.
- Brooks, Geo F., Butel, Janet S., Morse, Stephen A. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta : Salemba Medika
- Calabria, L. M. 2008. *The Isolation and Characterization of Triterpene Saponins from Silphium and the Chemosystematic and Biological Significance of Saponins in the Asteraceae*. ProQuest.
- Chandra, Andy. 2015. Studi Awal Ekstraksi Batch Daun *Stevia Rebaudiana* Dengan Variabel Jenis Pelarut dan Temperatur Ekstraksi. Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon.
- Cook, N.C. dan S,Samman. 1996. Review Flavonoids-Chemistry, Metabolism, Cardioprotective Effect, And Dietary Sources. *J. Nutr. Biochem* (70), p : 66-76
- Depkes RI. 1986. *Sediaan Galenika*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Hal : 2-8
- Depkes RI. 1995. *Farmakope Indonesia Edisi Keempat*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- Depkes RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta : Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan, hal 1-3
- Depkes RI. 2008. *Farmakope Herbal Indonesia, Edisi I*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia



- Dewi, Desak, G. D., Mastra, Nyoman., Jirna, Nyoman., 2018. Perbedaan Zona Hambat Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Pada Berbagai Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Biduri Secara *In Vitro*. Vol. 6, No. 1, p : 40
- Dwi Ratna, Yuliana Rizqi., Ardani, Utari Sita., Fathiana, Zakiah., Rahmatullah, Annie., Trisharyanti D.K., Ika. 2016. Daya Antibakteri Ekstrak dan Fraksi-Fraksi Daun Jambu Mete (*Anacardium occidentale* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Sensitif dan Multiresisten. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. Vol. 14, No. 1, p : 103-110
- Dwicahyani, Tiara., Sumardianto., Rianingsih, Laras. 2018. Uji Bioaktivitas Ekstrak Teripang Keling (*Holothuria atra*) sebagai Antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *J. Peng. & Biotek*. Vol. 7, No. 1, p : 15-24
- Ergina, Nuryanti, S. dan Pursitasari, I.D., 2014. Qualitative Test of Secondary Metabolites Compounds in Palado Leaves (*Agave Angustifolia*) Extracted With Water and Ethanol. *Jurnal Akademika Kimia*, 3(3), pp.165-72.
- Faradilla, Meutia., dan Maysarah, Hilda. 2019. Potensi Biduri (*Calotropis gigantea*(L.) W.T. Aiton) sebagai Tanaman Obat. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. Vol. 17, No. 2, p : 246-250
- Febrianasari, Florensia. 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kirinyu (*Chromolaena odorata*) Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Skripsi*. Yogyakarta : Universitas Sanata Dharma
- Ferianto. 2012. Pola Resistensi *Staphylococcus aureus* yang Diisolasi dari Mastitis pada Sapi Perah di Wilayah Kerja KUD Argopuro Krucil Probolinggo Terhadap Antibiotika. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga.
- Ganiswara, Sulistia G. 2012. *Farmakologi dan Terapi Edisi IV*. Jakarta : Bagian Farmakologi FKUI
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung : ITB
- Harborne, J.B. 2006. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Edisi ke-2. Bandung : ITB
- Hassan, S.M. 2008. Antimicrobial Activities of Saponin-Rich Guar Meal Extract Poultry Science. *Disertasi*. Texas : A & M University, p : 33-34
- Hayati, N.L., Tyasningsih, W., Praja, N.R., Chusniati, S., Yunita, M.N., Wibawati, P.A. 2019. Isolasi dan Identifikasi *Staphylococcus aureus* pada Susu Kambing Peranakan Etawah Penderita Mastitis Subklinis di Kelurahan Kalipuro, Banyuwangi. *Jurnal Medik Veteriner*. Vol. 2, No. 2, P : 76-82
- Ikhsanudin, Azis., Mardhiyah, Siti. 2017. Formulasi dan Uji Antijerawat Gel Ekstrak Etanol 70% Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi* Linn.)

- terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes*. *MEDULA*. Vol. 5, No. 1. P: 416-426
- Jawetz, E., Melnick.,J.L., Adelberg, E.A. 2012. Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan. Diterjemahkan Oleh Bonang G., Edisi XXVI, ECG. Jakarta. Penerbit Universitas Indonesia.
- Jawetz, E., Melnick.,J.L.,E.A.. 2012. Medical Microbiologi. 26rd. Ed. Elferia Nr. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Katrin, Dina., Idiwati, Nora., Sitorus, Berlian. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Dari Ekstrak Daun Malek (*Litsea graciae vidal*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *JKK*. Vol. 4, No. 1, p : 7-12
- Koes Irianto. 2006. *Mikrobiologi Menguak Dunia Mikrobiologi*. Jakarta. Jilid 2
- Krishna, Amalia Dewi. 2013. Isolasi, Identifikasi dan Uji Sensitivitas *Staphylococcus aureus* terhadap Amoxicillin dari Sampel Susu Kambing Peranakan Ettawa (PE) Penderita Mastitis Di Wilayah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta. *Jurnal Sain Veteriner*. Vol. 31(2), pp.138-150.
- Kusumowati, Ika Trisharyanti Dian., *et al.*, 2014. Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Senggani (*Melastoma affine D. Don*). *Biomedika*. Vol. 6, No. 2.
- Malangi, Liberty, P., Sangi, Meiske, P., Paendong, Jessy, J. E., 2012. Penentuan Kandungan Tanin dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.). Vol. 1, No. 1, p : 6
- Marcelinda, Agriyani., Ridhay, Ahmad., Prismawiryanti. 2016. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Limbah Kulit Ari Biji Kopi (*Coffea sp*) Berdasarkan Tingkat Kepolaran Pelarut. *Online Jurnal of Natural Science*. Vol. 5, No. 1, p. 21-30.
- Markham KR. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Bandung : Penerbit ITB. Hal 58-60
- Muhammad, Zakiya Kamila. 2014. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Daun Sintok (Cinnamomum suntoc Blume.) Terhadap Staphylococcus aureus dan Pseudomonas aeruginosa serta Analisa Komponen Senyawa Fraksi Aktif dengan Kromatografi Gas-Spektrometri Massa*. Skripsi. Jakarta : UIN Syarif Hidayatullah Jakarta
- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*. Vol. 8, No. 2, p : 361-367
- Mulyatni, Agustin Sri., *et al.* 2012. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao L.*) Terhadap *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, dan *Staphylococcus aureus*. *Menara Perkebunan*. Vol. 80, No.2
- Mutiasari, IR. 2012. Identifikasi Golongan Senyawa Kimia Fraksi Aktif. *Journal Ilmiah*. Jakarta : FMIPA-UI
- Nadziroh, Masluhatin. 2014. Uji Sitotoksitas Ekstrak Daun Widuri (*Calotropis gigantea*. L) Terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach Dan Identifikasi

Golongan Senyawa Aktifnya. *Skripsi*. Malang : Universitas Maulana Malik Ibrahim


- Ningsih. D.R., Zufahair, Dwi Kartika. 2016. *Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Serta Uji Aktivitas Ekstrak Daun Sirsak Sebagai Antibakteri, Molekul*. 11(1):101-111
- Ngajow, Mercy., Abidjulu, Jemmy., S. Kamu, Vanda. 2013. Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *Jurnal MIPA UNSRAT Online*. Vol. 2, No.2, p : 128-132
- Prasetyo S., Susiana, Prima K., A., Yosephine, Felicia. *Pengaruh Rasio Biji Teh/Pelarut Air dan Teperatur pada Ekstraksi Saponin Biji Teh Secara Batch*. Bandung : Universitas Katolik Parahyangan Bandung, p : 12-14
- Prasetyo., dan Inorihah, Entang. 2013. *Pengelolaan Budidaya Tanaman Obat-Obatan (Bahan Simplisia)*. Bengkulu : Badan Penerbitan Fakultas Pertanian UNIB
- Purwanto, S., 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Aktif Ekstrak Daun Senggani (*Melastoma malabathricum L*) terhadap *Eschericia coli*. *Jurnal Keperawatan*, Vol. 2 No. 2.
- Puspita Sari, M. Anindya. 2016. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol dan Heksana Daun Bangle (*Zingiber cassumunar Roxb.*) terhadap *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Skripsi*. Yogyakarta : Universitas Atma Jaya Yogyakarta
- Pelczar, Michael J., dan E.C.S, Chan. 1988. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta : UI Press
- Pelczar, Michael J., dan E.C.S, Chan. 1998. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta : UI Press, Hal. 49 - 51
- Pratiwi. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta : Penerbit Airlangga. Hal 22-24, 188-189
- Ramadhan, Aditya. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa-senyawa Hasil Modifikasi Struktur Etil *p*-Metoksisinamat Melalui Reaksi Esterifikasi Terhadap Bakteri Gram Negatif Dan Gram Positif. *Skripsi*. Jakarta : UIN Syarif Hidayatullah
- Rijayanti, Rika Pratiwi. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mangga Bacang (*Mangifera foetida L.*) Terhadap *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *Naskah Publikasi*, Hal. 1-17
- Risnasari, I. 2002. Tanin. Digital Library Universitas Sumatera Utara. <http://library.usu.ac.id/download/fp/Hutan-Iwan6.pdf>, diakses : 28 oktober 2019
- Santosa, Herry., Sari, Widya., Handayani, Noer Abyor. 2018. Ekstraksi Saponin dari Daun Waru Berbantu Ultrasonik Suatu Usaha untuk Mendapatkan

- Senyawa Penghambat Berkembangnya Sel Kanker. *Inovasi Teknik Kimia*. Vol. 3, No.2, p : 12-16
- Sapri, Fitriani, A., Narulita, R., 2014. Pengaruh Ukuran Serbuk Simplisia terhadap Rendemen Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dengan Metode Maserasi. *Akademi Farmasi Samarinda. Prosiding Seminar Nasional Kimia 2014 HKI-Kaltim ISBN: 978-602-19421-0-9*
- Siregar, A. F., S. Agus., P. Delianis. 2012. Potensi Antibakteri Ekstrak Rumput Laut terhadap Bakteri Penyakit Kulit *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermis* dan *Micrococcus luteus*. *Journal of Marine Research*. Vol. 1, No. 2, p : 152-160
- Soedarto. 2015. *Mikrobiologi Kedokteran*. Surabaya : Sagung Seto, Hal. 194-195
- Suhartanti, Mahreta, Purbowatiningrum Ria Sarjono dan Agustina L. N. Aminin. 2010. Studi Filogeni dan Uji Potensi Enzim Ekstraseluler (amilase,  $\beta$ -galaktosidase, protease, katalase) Isolat *Alicyclobacillus* sp. Gedong Songo. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*. Vol. 13 (3), pp.80 – 87
- Sujarweni, V. Wiratna., Endrayanto, P. 2012. *Statistika Untuk Penelitian*. Yogyakarta : Graha Ilmu
- Susanto, Sudrajat, dan R. Ruga. 2012. Studi Kandungan Bahan Aktif Tumbuhan Meranti Merah (*Shorea leprosula* Miq) sebagai sumber senyawa antibakteri. *Mulawarman Scientifie*. Vol.11, No. 12, hal. 181–190
- Susanty., Bachdim, Fairus. 2016. Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Refluks terhadap Kadar Fenolik dari Ekstrak Tongkol Jagung (*Zea mays* L.). *Konversi*. Vol. 5, No. 2, p : 87-93
- Tiwari, Prashant., Kumar, Bimlesh., Kaur, Mandeep., Kaur, Gurpreet., Kaur, Harleen. 2011. Phytochemical Screening and Extraction : a Review. *Internationale Pharmaceutica Scientia*. Vol. 1, No. 1, p : 98-106
- Tjay, Tan Hoan., dan Rahardja, Kirana. 2015. *Obat-Obat Penting*. Jakarta : PT. Elex Media Komputindo
- Verdian, Melia., Widarta, I. W. R., Purnama, I. D. G. 2018. Pengaruh Jenis Pelarut Pada Ekstraksi Menggunakan Gelombang Ultrasonik Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Buah Lemon (*Citrus limon* (Linn.) Burm F.). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*. Vol. 7, No. 4, P : 213-222
- Wahyuni, Sri., Vifta, Rissa Laila., dan Erwiyani, Agitya Resti. 2018. Kajian Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *Inovasi Teknik Kimia*. Vol. 3, No. 1, p : 25-30
- Waluyo, Lud. 2004. *Mikrobiologi Umum*. Malang : UMM Press
- Widodo, Lestanto Unggul., Kusharyati, Dyah Fitri. 2013. *Praktikum Mikrobiologi*. Jakarta : Universitas terbuka

- Wijaya, Heri., Novitasari., Jubaidah, Siti.2018. Perbandingan Metode Ekstraksi terhadap Rendemen Ekstrak Daun Rambai Laut (*Sonneratia caseolaris* L. Engl). *Jurnal Ilmiah Manuntung*. No. 4, Vol. 1, p : 79-83
- Wulandari, Ella. 2017. Uji Aktivitas Ekstrak Kasar Etanol Dan Fraksi N-heksan Tanaman Rumput Bambu (*Lophaterum gracile* B.) Sebagai Antimalaria Pada Parasit *Plasmodium falcifarum* Strain 3D7. *Skripsi*. Malang : Maulana Malik Ibrahim
- Yasjudani. 2017. Uji Aktivitas Antimikroba Fraksi Ekstrak Daun Mahoni (*Swietenia mahagoni* L. ) Terhadap Beberapa Mikroba Patogen. *Skripsi*. Makassar : UIN Alaudin Makassar

## LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Determinasi Daun Biduri (*Calotropis gigantea*)


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

Nomor : 074/ 164 A/ 102.7/ 2020  
 Sifat : Biasa  
 Perihal : **Determinasi Tanaman Biduri**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : NURUL HIDAYAH  
 NIM : 1613206017  
 Fakultas : PROGRAM STUDI S1 FARMASI STIKES KARYA PUTRA BANGSA TULUNGAGUNG

1. Perihal determinasi tanaman biduri

Kingdom	: Plantae
Sub Kingdom	: Tracheobionta (Berpembuluh)
Super Divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Bangsa	: Gentianales
Suku	: Asclepiadaceae.
Marga	: Calotropis
Jenis	: <i>Calotropis gigantea</i> (Willd.) Dryand.ex WTAit.
Sinonim	: <i>C. gigantea</i> R.Br., <i>Asclepias gigantea</i> Will.
Nama Daerah	: Rubik, biduri, lembega, rembega, rumbigo (Sumatra); babakoan, badori, biduri, widuri, saduri, sidoguri, bidhuri, burigha (Jawa); manori, maduri (Bali); muduri, rembiga, kore, krokoh, kolonsusu, modo kapauk, modo kampauk (Nusa Tenggara); rambega (Sulawesi); <i>giant milk weed</i> , <i>mudar plant</i> (Inggris), <i>kapal-kapal</i> (Tagalog), <i>oscherstrauch</i> (Jerman).

Kunci determinasi : 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14b-16a-239a-240b-241b-242b-1a-2b-3.

2. Morfologi : Semak tegak, tinggi 0,5-3 m. Batang bulat, tebal, ranting muda berambut tebal, putih. Daun tunggal, bertangkai pendek, letak berhadapan. Helaian bulat telur atau bulat panjang, ujung tumpul, pangkal berbentuk jantung, tepi rata, pertulangan menyirip, panjangnya 8-30 cm, lebar 4-15 cm, berwarna hijau muda. Permukaan daun muda berambut rapat berwarna putih (lambat laun menghilang), permukaan bawah tetap berambut tebal berwarna putih. Bunga majemuk dalam anak payung, di ujung atau ketiak daun, mahkota berbentuk kemudi kapal, berwarna lila, kadang-kadang putih. Buah bumbung, bulat telur atau bulat panjang, pangkal buah berupa kaitan, panjang 9-10 cm, berwarna hijau. Biji kecil, lonjong, pipih, coklat. Berambut pendek dan tebal, umbi rambut serupa sutera panjang. Jika salah satu bagian tumbuhan dilukai, akan mengeluarkan getah berwarna putih, encer, pahit dan kelat, lama kelamaan terasa manis, baunya menyengat, beracun.

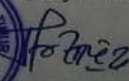
3. Bagian yang digunakan : Daun.

4. Penggunaan : Penelitian









5. Daftar Pustaka

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




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

Batu, 12 Februari 2020  
 Kepala UPT Lab. Herbal Materia Medica Batu  
 Kepala Seksi Pelayanan Laboratorium Herbal,  
  
 Fitria Rahmatwati, S.Farm., Apt.  
 NIP. 19660430 201403 2 002




## Lampiran 2. Dokumentasi Penelitian

	
<p>Pengambilan Daun Biduri</p>	<p>Penimbangan Serbuk Simplisia</p>
	
<p>Susut Pengeringan Serbuk Simplisia</p>	<p>Metode Maserasi</p>
	
<p>Hasil Maserat</p>	<p>Penimbangan Ekstrak</p>
	
<p>Fraksinasi</p>	<p>Hasil Fraksi</p>

### Lampiran 3. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Biduri

		
Flavonoid	Saponin	Tanin

### Lampiran 4. Hasil Skrining Fitokimia Fraksi Daun Biduri

		
<i>Aquadestilata</i>	Etil Asetat	N-Heksan

### Lampiran 5. Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923





### SERTIFIKAT HASIL UJI

No. 439/SHU/ULAB/III/2020

#### I. DESKRIPSI PELANGGAN DAN SAMPEL

DATA PELANGGAN		DATA SAMPEL	
Nama Pelanggan	Kristina Handayani	No. FPP	439/FPP/ULAB-SL/III/2020
Alamat	Stikes Karya Putra Bangsa Jl. Raya Tulungagung-Bitar Tulungagung	Nama Sampel	Stock Strain UESBE Lab
No. Telepon	0856 0858 8594	Jenis Sampel	Padat
No. Fax		Tgl. Penerimaan	11 Maret 2020
Nama PIC		Tgl. Selesai Uji	16 Maret 2020
No. Telepon		Keterangan	

#### II. DESKRIPSI HASIL UJI










NO	SAMPEL	PARAMETER	METODE	SYARAT MUTU	HASIL UJI	SATUAN
1.	Stock Strain UESBE Lab	Staphylococcus aureus	Biakan dan identifikasi	-	Strain Staphylococcus aureus ATCC 25923	tabung
2.	Stock Strain UESBE Lab	Escherichia coli	Biakan dan identifikasi	-	Strain Escherichia coli ATCC 25922	tabung

#### Keterangan:

1. Sertifikat Hasil Uji hanya berlaku untuk sampel yang di uji
2. Sertifikat Hasil Uji hanya terbit satu kali, dan tidak dapat digandakan.
3. Pengaduan pelanggan atas hasil uji dilayani selama 1 minggu setelah penerbitan Sertifikat Hasil Uji.

Solo, 17 Maret 2020  
 Penanggung Jawab Pengujian  
  
 Laboratorium  
 Dr. Gusawan Firmadli, M.Si., Apt.  
 Manajer Puncak

**Lampiran 6. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Biduri**

Sampel	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
<i>Aquadestilata</i>			
Etil Asetat			
N-Heksan			

### Lampiran 7. Perhitungan hasil

#### 1. Uji susut pengeringan simplisia

Sampel	Bobot daun basah	Bobot daun kering	% Hasil
Daun biduri	5,00 kg	1,8 kg	64 %

Rumus % susut pengeringan (Depkes RI, 2008) :

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

$$\% \text{ susut pengeringan} = \frac{5,00 \text{ kg} - 1,8 \text{ kg}}{5,00 \text{ kg}} \times 100\% = 64\%$$

$$= 64\%$$

#### 2. Uji kadar air serbuk simplisia

Sampel	Bobot awal	Bobot akhir	% Hasil
Daun biduri	10,00 gram	9,15 gram	8,5 %

Rumus % kadar air ( Depkes RI, 2000) :

$$\% \text{ Kadar air} = \frac{\text{Bobot awal} - \text{Bobot akhir}}{\text{Bobot awal}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Kadar air} = \frac{10,00 \text{ gram} - 9,15 \text{ gram}}{10,00 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$= 8,5 \%$$

#### 3. Rendemen ekstrak

Sampel	Bobot simplisia	Bobot ekstrak	Hasil
Daun biduri	500 gram	27 gram	5,4 %

Rumus % rendemen (Depkes RI, 2000) :

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak yang dihasilkan}}{\text{Bobot awal simplisia}} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{27 \text{ gram}}{500 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$= 5,4 \%$$

## 4. Rendemen fraksi

Sampel	Bobot Ekstrak	Bobot Fraksi	Rendemen
<i>Aquadestilata</i>	5 gram	1,53 gram	30,6 %
Etil Asetat	5 gram	0,53 gram	10,6 %
N- Heksan	5 gram	0,73 gram	14,6 %

% Rendemen =  $\frac{\text{Bobot fraksi yang dihasilkan}}{\text{Bobot awal ekstrak}} \times 100 \%$

Bobot awal ekstrak

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen fraksi } \textit{Aquadestilata} &= \frac{1,53 \text{ gram}}{5 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 30,6 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen fraksi etil asetat} &= \frac{0,53 \text{ gram}}{5 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 10,6 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen fraksi n-heksan} &= \frac{0,73 \text{ gram}}{5 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 14,6 \% \end{aligned}$$

**Lampiran 8. Pembuatan seri konsentrasi**

## 1. Konsentrasi 10%

$$10 \text{ gram} \cap 100 \text{ ml} = x \text{ gram} \cap 1 \text{ ml}$$

$$\begin{aligned} X \text{ gram} &= \frac{10 \text{ gram}}{100 \text{ ml}} \\ &= 0,1 \text{ gram} \end{aligned}$$

## 2. Konsentrasi 20%

$$20 \text{ gram} \cap 100 \text{ ml} = x \text{ gram} \cap 1 \text{ ml}$$

$$\begin{aligned} X \text{ gram} &= \frac{20 \text{ gram}}{100 \text{ ml}} \\ &= 0,2 \text{ gram} \end{aligned}$$

## 3. Konsentrasi 30%

$$30 \text{ gram} \cap 100 \text{ ml} = x \text{ gram} \cap 1 \text{ ml}$$

$$\begin{aligned}
 X \text{ gram} &= \underline{30 \text{ gram}} \\
 &100 \text{ ml} \\
 &= 0,3 \text{ gram}
 \end{aligned}$$

### Lampiran 9. Analisis Statistika

#### 1. Uji normalitas data

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
kelompok	.087	45	.200 <sup>*</sup>	.947	45	.040

#### 2. Uji homogenitas

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.092	8	18	.092

#### 3. *One way ANOVA*

zona_hambat					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.051	8	.256	210.954	.000
Within Groups	.022	18	.001		
Total	2.072	26			