

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI DAUN RAMBUTAN  
(*Nephelium lappaceum L.*) TERHADAP BAKTERI  
*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 SECARA *IN VITRO***

**SKRIPSI**



**Oleh:**

**AYU NATALIA**

**1713206002**

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

**2021**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI DAUN RAMBUTAN  
(*Nephelium lappaceum L.*) TERHADAP BAKTERI  
*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 SECARA *IN VITRO***

**SKRIPSI**

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Farmasi

(S.Farm) Program studi S1 Farmasi

STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung



**Oleh:**

**AYU NATALIA**

**1713206002**

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

**2021**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI DAUN RAMBUTAN  
(*Nephelium lappaceum L.*) TERHADAP *Staphylococcus aureus*  
ATCC 25923 SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

Yang diajukan oleh:

AYU NATALIA

1713206002



Telah disetujui oleh:

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

apt. Choirul Huda, M.Farm.  
NIDN 0726038502

apt. Ana Amalia, M.Farm.  
NIDN 0730039401

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI DAUN RAMBUTAN  
(*Nephelium lappaceum L.*) TERHADAP *Staphylococcus aureus*  
ATCC 25923 SECARA *IN VITRO***

**SKRIPSI**

Oleh:

AYU NATALIA

1713206002

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

Tanggal: 22 Juli 2021

Ketua Penguji : apt. Choirul Huda, M.Farm. (.....)  
Anggota Penguji : 1. apt. Ana Amalia, M.Farm. (.....)  
: 2. apt. Amalia Eka Putri, M.Farm. (.....)  
: 3. Yunita Diyah Safitri, M.Si. (.....)

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, Agustus 2021

Penulis,

Ayu Natalia

## KATA PENGANTAR

Dengan mengucap syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan proposal ini. Adapun judul proposal ini adalah “Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Rambutan (*Nephelium lappaceum L.*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara *In Vitro*”. Proposal ini diajukan sebagai salah satu syarat kelulusan dalam rangka memperoleh gelar Sarjana Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan (STIKes) Karya Putra Bangsa Tulungagung.

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

1. Ibu apt. Dara Pranidya Tilarso, M.Farm selaku Kaprodi S1 Farmasi STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung yang telah mendidik dan memberikan bimbingan selama masa perkuliahan.
2. Bapak apt. Choirul Huda, M.Farm selaku pembimbing I yang telah memberikan bimbingan, ilmu, dan pengarahan dalam menyelesaikan proposal ini.
3. Ibu apt. Ana Amalia, M.Farm selaku pembimbing II yang telah memberikan bimbingan, motivasi, nasehat, dan pengarahan dalam menyelesaikan penulisan proposal ini.
4. Bapak/Ibu Dosen dan civitas akademika di STIKes Karya Putra Bangsa yang telah memberikan banyak ilmu dan nasehat kepada penulis.
5. Kedua orang tua penulis Bapak Aris Sugianto dan Ibu Sulasmini serta keluarga besar penulis, nenek Yami terimakasih atas do'a, dukungan, kesabaran, dan pengertiannya sehingga penulis bisa menyelesaikan proposal ini.
6. Teman-temanku tercinta dan tersayang Iprit, mami Mei, Prety, dan Vianny untuk dukungan, semangat, do'a, motivasi, dan kebersamaan yang telah duduk dibangku belakang.

7. Teman-temanku alumni tercinta dan tersayang Ana, Ayu, Fara, Indah, Melita, Mia, Riskyla, dan Wulan terimakasih untuk semangat, do'a, serta nasehat yang telah diberikan kepada penulis.
8. Teman-teman angkatan 2017 program Studi S1-Farmasi terimakasih untuk kebersamaan, dukungan, motivasi, semangat, dan do'a yang telah diberikan, khususnya kepada teman-teman departemen bahan alam Irna, Luciana, Monika, Prety, Rois, dan Sinta terimakasih untuk kebersamaan, semangat, dan dukungannya.

Penulis menyadari bahwa proposal ini jauh dari sempurna. Penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun dari pembaca dan berharap proposal ini dapat bermanfaat dalam perkembangan ilmu pengetahuan khususnya dalam bidang farmasi.

Tulungagung, 06 Agustus 2021

Penulis

Ayu Natalia

**Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Rambutan (*Nephelium lappaceum L.*)  
Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 Secara *In Vitro***

**Ayu Natalia**

**Prodi S1 Farmasi**

**INTISARI**

Penyakit infeksi merupakan masalah kesehatan yang paling utama di negara berkembang seperti di Indonesia. Penyakit infeksi disebabkan oleh mikroorganisme patogen seperti bakteri *Staphylococcus aureus*. Potensi yang terjadi oleh bakteri ini cukup tinggi karena 50%-60% akan membentuk koloni dalam tubuh manusia dan menyebabkan beberapa infeksi serius dan infeksi ringan. Bakteri *Staphylococcus aureus* mempunyai resistensi terhadap beberapa antibiotik. Sehingga kebutuhan untuk mencari alternatif antibiotik lain semakin meningkat, seperti daun rambutan yang dapat di manfaatkan sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri fraksi daun rambutan terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimental dengan menggunakan sampel daun rambutan yang diekstraksi dengan maserasi dan remaserasi serta penambahan etanol 70%, lalu difraksinasi menggunakan pelarut *aquadestilata*, etil asetat, dan n-heksan. Uji aktivitas antibakteri fraksi daun rambutan menggunakan metode pengujian *in vitro* yaitu difusi cakram dengan konsentrasi 10%. Analisa hasil dilakukan dengan *Kruskal-Wallis* dan *Mann-Whitney*. Hasil pengujian aktivitas antibakteri fraksi daun rambutan menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Fraksi daun rambutan yang mempunyai aktivitas antibakteri yang teraktif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 adalah fraksi etil asetat dengan rata-rata zona hambat sebesar  $10,83 \pm 2,75$  mm. Aktivitas antibakteri ini berasal dari aktivitas senyawa metabolit sekunder yaitu senyawa flavonoid, saponin, dan tanin yang terkandung di dalam fraksi daun rambutan.

**Kata kunci:** Daun rambutan, antibakteri, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, fraksinasi, *in vitro*.

***Antibacterial Activity Test Rambutan Leaf Fraction (*Nephelium lappaceum* L.)  
Against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 Bacteria In Vitro***

***Ayu Natalia***

***S1 Pharmacy Study Program***

**ABSTRACT**

*Infectious diseases are the most important health problems in developing countries such as Indonesia. Infectious diseases are caused by pathogenic microorganisms such as *Staphylococcus aureus* bacteria. The potential of this bacteria is quite high because 50%-60% will form colonies in the human body and cause some serious infections and mild infections. *Staphylococcus aureus* bacteria have resistance to some antibiotics. So the need to find other antibiotic alternatives is increasing, such as rambutan leaves that can be used as an antibacterial against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. The purpose of this study was to find out the antibacterial activity of rambutan leaf fraction against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. The method used in this study was an experimental method using samples of rambutan leaves extracted by maceration and remaceration as well as the addition of ethanol 70%, then diffractionation using aquadestilata solvents, ethyl acetate, and n-hexane. Antibacterial activity test rambutan leaf fraction using in vitro testing method that is disc diffusion with a concentration of 10%. Analysis of the results was conducted with Kruskal-Wallis and Mann-Whitney. The results of testing antibacterial activity of rambutan leaf fraction showed the presence of antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 bacteria. Rambutan leaf fraction that has the most active antibacterial activity in inhibiting the growth of *staphylococcus aureus* ATCC 25923 bacteria is an ethyl acetate fraction with an average taste zone of  $10.83 \pm 2.75$  mm. This antibacterial activity is derived from the activity of secondary metabolite compounds, namely flavonoid compounds, saponins, and tannins contained in the fraction of rambutan leaves.*

***Keywords:*** *Rambutan leaves, antibacterial, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, fractionation, in vitro.*

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PERSETUJUAN .....	ii
HALAMAN PENGESAHAN .....	iii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS .....	iv
KATA PENGANTAR .....	v
INTISARI .....	vii
<i>ABSTRACT</i> .....	viii
DAFTAR ISI .....	ix
DAFTAR TABEL .....	xiii
DAFTAR GAMBAR .....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN .....	xv
BAB I PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	3
1.4 Manfaat Penelitian .....	3
1.4.1 Bagi Masyarakat .....	3
1.4.2 Bagi Instansi Kesehatan .....	3
1.4.3 Bagi Instansi Pendidikan .....	3
1.4.4 Bagi Peneliti .....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	5
2.1 Uraian Tanaman .....	5
2.1.1 Rambutan ( <i>Nephelium lappaceum L.</i> ) .....	5
2.1.2 Morfologi .....	6
2.1.3 Klasifikasi .....	7
2.1.4 Khasiat .....	8
2.1.5 Kandungan kimia .....	9
2.2 Simplisia .....	12
2.2.1 Pengertian simplisia .....	12
2.2.2 Syarat simplisia .....	12

2.2.3 Tahap pembuatan simplisia .....	13
2.2.4 Pembuatan serbuk simplisia .....	15
2.3 Ekstraksi dan Ekstrak .....	15
2.3.1 Metode ekstraksi .....	16
2.4 Pelarut .....	20
2.4.1 Air .....	20
2.4.2 Etanol .....	21
2.4.3 Kloroform .....	22
2.4.4 n-Heksan .....	22
2.4.5 Etil asetat .....	23
2.4.6 <i>Dimethylsulfoxide</i> (DMSO) .....	23
2.5 Bakteri .....	23
2.5.1 Definisi bakteri .....	23
2.5.2 Penggolongan bakteri .....	24
2.6 Identifikasi Bakteri .....	25
2.7 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	28
2.7.1 Morfologi .....	29
2.7.2 Klasifikasi .....	29
2.8 Antibakteri .....	29
2.8.1 Mekanisme kerja antibakteri .....	30
2.9 Metode Uji Aktivitas Antibakteri .....	31
2.9.1 Metode difusi .....	31
2.9.2 Metode dilusi .....	33
2.10 Antibakteri Pembanding .....	34
2.11 Hipotesis .....	35
<b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>	<b>37</b>
3.1 Bahan dan Alat .....	37
3.1.1 Bahan .....	37
3.1.2 Alat .....	37
3.2 Populasi Penelitian .....	37
3.3 Sampel Penelitian .....	37

3.4	Definisi Operasional .....	38
3.5	Variabel Penelitian .....	38
3.5.1	Variabel bebas .....	38
3.5.2	Variabel terikat .....	38
3.6	Cara Penelitian .....	38
3.6.1	Determinasi tanaman .....	38
3.6.2	Pembuatan simplisia .....	38
3.6.3	Uji kadar air serbuk simplisia .....	39
3.6.4	Pembuatan ekstrak etanol daun rambutan .....	40
3.6.5	Uji bebas etanol ekstrak .....	41
3.6.6	Fraksinasi .....	41
3.6.7	Skrining fitokimia .....	42
3.6.8	Pembuatan media .....	43
3.6.9	Pembuatan larutan uji .....	44
3.6.10	Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 ..	45
3.6.11	Pembuatan suspensi bakteri .....	46
3.6.12	Peremajaan bakteri uji .....	46
3.6.13	Pengujian aktivitas antibakteri fraksi daun rambutan .....	46
3.6.14	Penentuan zona hambat .....	47
3.7	Analisis Hasil .....	47
3.8	Kerangka Penelitian .....	49
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....		50
4.1	Determinasi Tanaman .....	50
4.2	Uji Kadar Air Serbuk Simplisia .....	50
4.3	Ekstraksi Daun Rambutan .....	51
4.4	Fraksinasi Daun Rambutan .....	52
4.5	Uji Bebas Etanol Ekstrak .....	53
4.6	Skrining Fitokimia Ekstrak dan Fraksi Daun Rambutan .....	54
4.7	Identifikasi Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 .....	58
4.7.1	Uji pewarnaan Gram .....	58
4.7.2	Uji <i>Mannitol Salt Agar</i> (MSA) .....	59

4.8 Uji Aktivitas Antibakteri Daun Rambutan .....	59
4.8.1 Uji aktivitas antibakteri orientasi ekstrak daun rambutan .....	60
4.8.2 Uji aktivitas antibakteri fraksi daun rambutan .....	63
BAB V_KESIMPULAN DAN SARAN .....	68
5.1 Kesimpulan .....	68
5.2 Saran .....	68
DAFTAR PUSTAKA .....	69
LAMPIRAN .....	82

## DAFTAR TABEL

Tabel	Hal
2.1 Kategori Respon Hambat Pertumbuhan Bakteri .....	33
4.1 Hasil Uji Kadar Air Serbuk Simplisia Daun Rambutan .....	50
4.2 Hasil Rendemen Ekstrak Daun Rambutan .....	51
4.3 Hasil Rendemen Fraksi Daun Rambutan .....	52
4.4 Hasil Uji Bebas Etanol Ekstrak Daun Rambutan .....	53
4.5 Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Rambutan .....	54
4.6 Hasil Skrining Fitokimia Fraksi Daun Rambutan .....	55
4.7 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Daun Rambutan .....	63
4.8 Hasil Uji <i>Kruskal-Wallis</i> Orientasi Ekstrak Daun Rambutan .....	61
4.9 Hasil Uji <i>Mann-Whitney</i> Orientasi Ekstrak daun Rambutan .....	61
4.10 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Rambutan .....	63
4.11 Hasil Uji <i>Kruskal-Wallis</i> Fraksi Daun Rambutan .....	65
4.12 Hasil Uji <i>Mann-Whitney</i> Fraksi Daun Rambutan .....	66

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Hal
2.1 Tanaman Rambutan ( <i>Nephelium lappaceum</i> L.) .....	5
2.2 Bentuk Koloni <i>Staphylococcus aureus</i> .....	28
3.1 Rancangan Penelitian .....	49
4.1 Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Rambutan .....	54
4.2 Skrining Fitokimia Fraksi Daun Rambutan .....	55
4.3 Hasil Uji Identifikasi Bakteri <i>S. aureus</i> ATCC 25923 .....	58

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Hal
1. Hasil Determinasi Tanaman Rambutan ( <i>Nephelium lappaceum L.</i> ).....	82
2. Surat Keterangan Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	83
3. Dokumentasi Penelitian .....	84
4. Perhitungan Pembuatan Media Pertumbuhan Bakteri .....	88
5. Pembuatan Seri Konsentrasi Larutan Uji .....	88
6. Perhitungan Hasil .....	89
7. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Orientasi Ekstrak Daun Rambutan .....	90
8. Hasil Uji <i>Mann-Whitney</i> Orientasi Ekstrak Daun Rambutan .....	90
9. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Rambutan .....	90
10. Hasil Uji <i>Mann-Whitney</i> fraksi Daun Rambutan .....	91
11. Hasil Analisis Data Orientasi Ekstrak Daun Rambutan .....	91
12. Hasil Analisis Data Fraksi Daun Rambutan .....	97
13. Jadwal Penelitian .....	104

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Indonesia ialah suatu negara yang mempunyai banyak tumbuhan obat di dunia. Wilayah hutan tropis Indonesia mempunyai keanekaragaman hayati tertinggi kedua di dunia setelah negara Brazil. Terdapat 40,000 jenis flora yang ada di dunia, 30,000 jenis dapat ditemukan di Indonesia dan 940 jenis telah diketahui mempunyai khasiat sebagai obat yang sudah dipergunakan dalam pengobatan tradisional secara turun-temurun (Febrianasari, 2018). Selain murah dan mudah di dapat obat tradisional yang berasal dari tumbuhan mempunyai efek samping yang relatif lebih rendah daripada obat-obatan kimia (Ilham, 2010). Masyarakat Indonesia sudah dari zaman dahulu menggunakan tumbuhan obat sebagai ramuan obat tradisional dengan upaya pemeliharaan kesehatan dan pencegahan penyakit (MenKes, 2017).

Penyakit infeksi merupakan masalah kesehatan yang paling utama di negara berkembang seperti di Indonesia (Wijayanti and Safitri, 2018). Penyakit infeksi disebabkan oleh mikroorganisme seperti virus, jamur, dan bakteri. Salah satu bakteri yang menyebabkan penyakit infeksi adalah bakteri *Staphylococcus aureus* (Solikhah *et al.*, 2018). Potensi yang terjadi oleh bakteri ini cukup tinggi karena 50%-60% bakteri ini membentuk koloni dalam tubuh manusia dan menyebabkan beberapa infeksi serius misalnya infeksi pada aliran darah, pneumonia, infeksi tulang, serta beberapa infeksi ringan seperti bisul, jerawat, dan luka (Rumaolat, 2020). Bakteri *Staphylococcus aureus* juga mempunyai resistensi terhadap beberapa antibiotik, seperti golongan obat penisilin (Pratiwi, 2019).

Penanganan yang dilakukan dalam mengatasi penyakit infeksi yaitu dengan menggunakan antibiotik. Penggunaan obat-obat antibiotik yang tidak tepat menyebabkan resistensi antibiotik (Solikhah *et al.*, 2018). Dengan adanya resistensi antibiotik maka kebutuhan untuk mencari alternatif antibiotik lain semakin meningkat, termasuk antibiotik yang berasal dari tumbuhan (Sulvita, 2018). Salah satu penggunaan tumbuhan yang berkhasiat sebagai antibakteri adalah daun rambutan (*Nephelium lappaceum L.*) (Rumaolat, 2020).

Tanaman rambutan dengan nama latin *Nephelium Lappaceum* (*sapindaceae*) adalah tanaman buah yang bertumbuh pada tempat yang beriklim tropis (Pratiwi, 2015). Secara tradisional tanaman rambutan dimanfaatkan untuk berbagai penyakit seperti, kulit buah untuk mengatasi sariawan, akar untuk mengatasi demam, serat biji untuk mengatasi diabetes melitus, dan daun untuk mengatasi diare serta menghitamkan rambut (Rumaolat, 2020). Hasil penelitian Alfianingsih (2016) menunjukkan bahwa skrining fitokimia ekstrak etanol 70% daun rambutan mengandung senyawa steroid, terpenoid, alkaloid, saponin, tanin, dan flavonoid. Senyawa ini dapat dipisahkan dengan cara ekstraksi (Dwicahyani *et al.*, 2018). Maserat dari hasil ekstraksi yang diperoleh merupakan campuran dari berbagai senyawa. Jadi, dibutuhkan fraksinasi untuk memisahkan golongan utama kandungan yang satu dari yang lainnya (Huda *et al.*, 2019). Fraksinasi bertujuan untuk memisahkan komponen senyawa aktif ekstrak yang telah dihasilkan (Uthia *et al.*, 2017).

Rumaolat (2020) menyatakan bahwa ekstrak dari daun rambutan mempunyai aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi 5%, 20%, 50%, dan 75% yang memberikan zona hambat secara berturut-turut yaitu 0 mm, 16 mm, 21 mm, dan 26 mm. Daun rambutan mengandung senyawa metabolit sekunder yang dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri (Maradona, 2013). Pengujian aktivitas antibakteri dalam penelitian ini menggunakan metode pengujian *in vitro* yaitu metode difusi cakram (*disc*) atau metode cakram kertas. Metode ini dipilih karena pengerjaan yang sederhana, mudah, dan cepat karena hanya menggunakan cakram kertas (Jayanti *et al.*, 2017).

Pada penelitian terdahulu sudah dilakukan uji aktivitas antibakteri pada ekstrak daun rambutan yang dapat memberikan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginos*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis*, dan jamur *Candida albicans* dan sudah dilakukan uji aktivitas antibakteri fraksi daun rambutan terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella dysenteriae*, *Bacillus cereus*, dan *Escherichia coli* (Ilham, 2010; Sulistiyaningsih *et al.*, 2017).

Berdasarkan latar belakang diatas penulis ingin mengetahui aktivitas antibakteri fraksi daun rambutan (*Nephelium lappaceum L*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara *in vitro*.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Berdasarkan uraian tersebut, maka dapat merumuskan masalah sebagai berikut:

1. Bagaimana aktivitas antibakteri fraksi *aquadestilata*, etil asetat, dan n-heksan daun rambutan (*Nephelium lappaceum L*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?
2. Fraksi manakah yang memiliki zona hambat kuat sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

- 1.3.1 Mengetahui aktivitas antibakteri fraksi *aquadestilata*, etil asetat, dan n-heksan daun rambutan (*Nephelium lappaceum L*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
- 1.3.2 Mengetahui fraksi yang memiliki zona hambat kuat sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

## **1.4 Manfaat Penelitian**

### **1.4.1 Bagi Masyarakat**

Memberikan informasi kepada masyarakat bahwa daun rambutan dapat dimanfaatkan sebagai obat antibakteri.

### **1.4.2 Bagi Instansi Kesehatan**

Sebagai referensi untuk mengembangkan senyawa antibakteri baru dengan memanfaatkan senyawa metabolit sekunder dari tanaman rambutan.

### **1.4.3 Bagi Instansi Pendidikan**

Memberikan informasi dan referensi untuk mahasiswa dalam melakukan penelitian yang selanjutnya.

#### **1.4.4 Bagi Peneliti**

Memberikan pengetahuan dan informasi tentang obat tradisional pada peneliti bahwa daun rambutan memiliki manfaat sebagai antibakteri serta untuk memenuhi persyaratan kelulusan.

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Uraian Tanaman

#### 2.1.1 Rambutan (*Nephelium lappaceum L.*)

Tanaman rambutan (*Nephelium lappaceum L.*) merupakan tanaman asli Indonesia dan dari negara jiran Malaysia yang termasuk ke dalam *family Sapindaceae*. Terdapat lebih kurang 1999 jenis anggota keluarga tanaman rambutan di dalam *filum family Sapindaceae*. Tanaman rambutan tumbuh di dataran rendah mencapai ketinggian 600 m diatas permukaan laut dengan iklim basah merata sepanjang tahun sampai tipe iklim yang mempunyai 1 hingga 3 bulan kering (Wayahdi, 2019).



**Gambar 2.1** Tanaman Rambutan (*Nephelium lappaceum L.*)  
(Dokumentasi Pribadi)

Bagian barat wilayah Indonesia khususnya Jawa, Sumatera, dan Kalimantan mempunyai iklim yang relatif basah sepanjang tahun, sehingga menjadi sentra produksi buah rambutan di Indonesia (Wayahdi, 2019). Rambutan adalah tanaman buah yang hidup didaerah tropis. Menurut seorang ahli botani, tanaman rambutan merupakan ke dalam golongan tanaman keras atau tahunan (Apriliana and Hawarima, 2016).

## **2.1.2 Morfologi**

### **2.1.2.1 Daun (*folium*)**

Daun adalah organ fotosintesis utama tanaman dan merupakan struktur pokok tumbuhan yang tidak kalah penting dengan akar dari suatu tanaman. Daun mempunyai fungsi sebagai resorpsi yaitu menyerap zat-zat makanan dan gas, sebagai pengolah makanan melalui fotosintesis, dan sebagai alat transportasi zat makanan hasil fotosintesis. Fungsi yang terpenting daun sebagai alat penguapan air (transpirasi) dan sebagai pernapasan dan pertukaran gas (respirasi) (Sativa, 2012).

Pada bagian daun rambutan berwujud majemuk menyirip genap berletak selang-seling dengan jumlah anak daun 2 sampai 4 pasang, bertangkai dan pertulangan menyirip, serta ujungnya yang tumpul terkadang meruncing. Pada dasarnya memiliki warna hijau muda sampai hijau tua tergantung dengan jenisnya (Ilham, 2010). Daun rambutan merupakan daun tidak lengkap sebab hanya mempunyai tangkai daun dan helaian daun, dengan kata lain disebut daun bertangkai. Daun yang berbentuk silindris dan permukaan pada daunnya yang licin mengkilat (Anggraini, 2018).

### **2.1.2.2 Batang (*caulis*)**

Batang adalah suatu bagian dari tumbuhan yang menyokong dan memproduksi tunas, bunga, daun, dan buah. Batang sebagai alat transportasi yang membawa air serta mineral dari akar ke daun untuk menghasilkan karbohidrat dan makanan (Anggraini, 2018). Pada pohon rambutan bisa bertumbuh sampai 25 m di habitat aslinya, namun saat dibudidayakan tingginya hanya mencapai 5 sampai 9 m (Syukriah and Pranggarani, 2016).

Batang rambutan berwarna kecoklatan sampai sedikit putih kecoklatan, memiliki batang berbentuk tidak pipih atau gilig, berkayu keras, dan tumbuh dengan kuat. Percabangan sangat banyak, bersemi secara horizontal, namun terkadang memiring ke bagian atas (Ilham, 2010).

### **2.1.2.3 Akar (*radix*)**

Akar merupakan organ pada tumbuhan yang tersusun dari berbagai jaringan yang berbeda (Ai and Torey, 2013). Tanaman rambutan mempunyai akar tunggang

yang bercabang-cabang dan berada dipermukaan tanah yang dapat mencapai 6 m (Saputro, 2010).

#### **2.1.2.4 Bunga (*flos*)**

Bunga dari tanaman rambutan yaitu berbunga majemuk dan tersusun dalam karangan. Pada umumnya tumbuhan yang baru berbunga akan menghasilkan bunga jantan kemudian diikuti dengan bunga betina putik. Penyerbukannya dilakukan oleh berbagai jenis lebah, tetapi yang paling sering adalah klanceng. Rambutan berbunga pada akhir musim kemarau. Bunga tanaman rambutan terdiri dari kelopak (*calix*), tajuk atau mahkota bunga (*corolla*), benang sari (*stamen*), dan putik (*pistillum*) (Anggraini, 2018). Bunga dalamnya berambut halus, berwarna hijau kekuningan, dan berbentuk tandan yang teratur dari karangan serta berdiameter yaitu 5 mm atau lebih kecil. Bunga jantan dan betina dalam satu untai biasanya terpisah (Ilham, 2010).

#### **2.1.2.5 Buah (*fructus*) dan biji (*semen*)**

Buah rambutan terbungkus oleh kulit yang mempunyai rambut dibagian luarnya, mempunyai *endocarp* yang berwarna putih menutupi daging buah, dan mempunyai dinding buah tebal. Buahnya berbentuk bulat sampai melonjong, umumnya kulit buahnya berwarna hijau saat muda dan kuning sampai kemerahan saat sudah masak (Anggraini, 2018). Daging buah berair dengan warna putih transparan dekat dengan kulit biji. Rambutan memproduksi buah pada musim hujan (Ilham, 2010).

Biji pada buah rambutan berbentuk lonjong, keras, terkadang kulit biji ada yang sangat mudah mengelupas dari kotiledon dan ada juga yang jarang terkelupas, serta kulit biji tipis berkayu (Ilham, 2010).

#### **2.1.3 Klasifikasi**

Daun rambutan memiliki klasifikasi tanaman sebagai berikut (Anggraini, 2018):

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Magnoliophyta
Class	: Magnoliopsida
Ordo	: Sapindales

Family : Sapindaceae  
Genus : Nephelium  
Species : *Nephelium lappaceum* L.

#### 2.1.4 Khasiat

Daun digunakan untuk mengatasi diare dan menghitamkan rambut, kegunaan kulit buah rambutan digunakan untuk mengatasi disentri dan demam, kulit kayu digunakan untuk mengatasi sariawan, akar digunakan untuk mengatasi demam, dan bijinya untuk mengatasi kencing manis (*diabetes melitus*) (Maradona, 2013).

Efek antibakteri yang dihasilkan dari tanaman rambutan karena terdapat senyawa tanin yang mempunyai sifat adstrigen dan saponin yang dapat digunakan sebagai antibakteri terhadap bakteri *Salmonella typhi*, salah satu bakteri yang menyerang gastrointestinal dan setelah tertelan akan menimbulkan gejala diare hebat (Kusumaningrum, 2012). Pembuatan sebuah formulasi infusa dari daun rambutan dengan dosis 10 g memperoleh nilai rata-rata diameter zona hambat sebesar 4,34 mm, sehingga diketahui bahwa infusa daun rambutan aktif menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* secara *in vitro* (Jayanti *et al.*, 2017).

Pada daun rambutan juga digunakan sebagai pewarna rambut, hasil penelitian Ernist (2017) menunjukkan bahwa perendaman rambut uban selama 4 jam dengan konsentrasi serbuk daun rambutan 5% menunjukkan warna yang stabil pada 1 sampai 15 kali pencucian. Dimana stabil yang dimaksudkan adalah stabil terhadap sinar matahari dan tidak menyebabkan iritasi di kulit. Jadi, serbuk daun rambutan dengan beberapa bahan tambahan seperti pembangkit warna pirogalol 1%, tembaga sulfat (II) 1%, xanthan gum 0,5%, dan air sebagai pelarut dapat diformulasikan ke dalam sediaan pewarna rambut yang sudah memberikan warna hitam pada konsentrasi 5% dari serbuk daun rambutan (Ernist, 2017).

Pada penelitian lain menyatakan bahwa ekstrak etanol kulit buah rambutan yang dilakukan pada mencit yang diinduksi aloksan mempunyai khasiat menurunkan kadar glukosa dalam darah dan meregenerasi jaringan pulau pankreas karena adanya kandungan senyawa flavonoid dan tanin (Aldina, 2015).

### 2.1.5 Kandungan kimia

Pada tanaman rambutan menyimpan kandungan kimia yang berbeda-beda. Seperti daun dan kulit buah rambutan yang mengandung senyawa tanin dan saponin terbanyak serta terdapat senyawa golongan polifenol. Biji rambutan mengandung senyawa fenol, flavonoid, dan tanin (Apriliana and Hawarima, 2016). Kulit batang mengandung tanin, saponin, zat besi, dan flavonoid. Buahnya mengandung karbohidrat, protein, fosfor, besi, lemak, kalsium, dan vitamin C (Jayanti *et al.*, 2017).

Rambutan merupakan varietas tumbuhan yang mampu digunakan atau dikembangkan sebagai obat herbal. Karena pada rambutan banyak mengandung metabolit sekunder yang mempunyai banyak aktivitas farmakologi dalam mengatasi berbagai macam penyakit. Dengan terdapatnya efek yang lebih besar antar senyawa metabolit sekunder menyebabkan adanya efek farmakologi (Sadino, 2017). Estrak etanol daun rambutan mengandung kadar total fenol tertinggi sebesar 29,46 g GAE/100 g (Sukowati, 2015). Senyawa fenolik dalam tumbuhan dapat berupa fenol sederhana yaitu antrakuinon, asam fenolat, kumarin, flavonoid, lignin, dan tanin (Bakara, 2020). Ekstrak daun rambutan mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu flavonoid, saponin, dan tanin (Pratiwi, 2015).

#### 2.1.5.1 Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa yang terdapat pada tanaman yang mempunyai struktur kimia C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> yang tersusun oleh 15 atom karbon sebagai inti dasarnya (Sumadi, 2011). Flavonoid adalah senyawa yang paling kuat dan sebagai antioksidan paling efektif digunakan pada manusia. Kegunaan flavonoid sebagai antioksidan, anti aterosklerosis, antiplatelet, antivirus, antiinflamasi, antiarthritis, dan antidiare (Pratiwi, 2015). Senyawa ini merupakan sebuah zat berwarna merah, ungu, dan biru serta sebagian ditemukan pada tumbuhan dengan zat berwarna kuning (Rachmawan and Dalimunthe, 2017). Flavonoid akan mengalami penurunan kadar senyawa pada suhu mendekati 80°C, karena titik didih senyawa flavonoid mendekati suhu 80°C (Wahyusi *et al.*, 2020).

Flavonoid terdapat di sebagian besar tumbuhan dan tersusun pada gula yang berperan sebagai glikosida. Senyawa-senyawa flavonoid yang biasa ditemukan

dialam yaitu flavon, flavanol dan antosianidin (Noer *et al.*, 2018). Sebagian besar senyawa flavonoid yang banyak ditemukan dialam adalah glikosida. Glikosida merupakan campuran dari gula dan suatu alkohol yang saling berikatan melalui ikatan glikosida. Gula yang terikat diflavonoid cenderung menyebabkan senyawa flavonoid menjadi senyawa polar dan larut dalam pelarut polar misalnya air, etanol, metanol, butanol, aseton, dimetilsulfoksida, dan dimetilformamida (Apriliana and Hawarima, 2016).

Sifat fisika dan kimia senyawa flavonoid adalah larut dalam air, sedangkan pada bentuk glikosida yang termetilasi larut dalam eter (Koirewoa *et al.*, 2012). Saat menjadi glikosida ataupun aglikon, senyawa flavonoid tidak dapat larut dalam petroleum eter (Wahyusi *et al.*, 2020).

Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri yaitu dengan mendenaturasi protein sel bakteri, merusak membran sitoplasma, dan menghambat metabolisme energi bakteri dengan menghambat penggunaan oksigen oleh bakteri (Sapara *et al.*, 2016).

#### **2.1.5.2 Saponin**

Saponin merupakan senyawa aktif permukaan yang sangat mudah terdeteksi dengan kemampuannya saat membentuk busa. Bagian ikatan glikosida yang ditemukan didalam saponin menyebabkan senyawa ini bersifat polar (Baud *et al.*, 2014). Saponin mempunyai rumus molekul  $C_{27}H_{42}O_3$  dan mempunyai titik didih yang sangat tinggi, sampai mencapai  $158^{\circ}C$ . Saponin mempunyai densitas  $0,5 \text{ g/cm}^3$  pada suhu  $20^{\circ}C$  (Santosa *et al.*, 2018).

Sifat fisika dan kimia senyawa saponin adalah dapat membentuk kristal berwarna kuning dan amorf, berbau menyengat, mempunyai rasa sangat ekstrim dari sangat pahit sampai sangat manis. Saponin disebut juga *nonvolatilem* dan sangat larut dalam air panas ataupun dingin serta alkohol, tetapi membentuk busa koloidal dalam air dan mempunyai sifat deterjen yang baik (Rahbiatul A., 2017).

Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri yaitu dengan menghambat fungsi membran sel sehingga merusak permeabilitas atau kebocoran sel membran yang mengakibatkan dinding sel menjadi rusak, dan menurunkan tegangan permukaan dinding sel sehingga ketika terjadi interaksi dinding sel maka akan

pecah dan membuat zat bakteri akan masuk ke dalam sel dengan mudah serta mengganggu metabolisme sampai akhirnya bakteri akan mati (Dwicahyani *et al.*, 2018). Selain itu senyawa saponin dapat menghambat sintesis protein karena terakumulasi dan menyebabkan kerusakan pada komponen penyusun sel bakteri (Hasibuan, 2016).

### 2.1.5.3 Tanin

Tanin disebut juga dengan asam tanat atau galotanat dan mempunyai rumus kimia  $C_{76}H_{52}O_{46}$  (Megawanto, 2018). Senyawa tanin merupakan senyawa yang bersifat polar karena adanya gugus OH (Baud *et al.*, 2014). Tanin mempunyai titik didih  $1271^{\circ}\text{C}$  (Putri, 2016). Tanin merupakan suatu golongan senyawa polifenol yang banyak dijumpai pada tanaman. Tanin sebagai senyawa yang mempunyai berat molekul yang sangat besar yakni lebih dari  $1000\text{ g/mol}$ , serta membentuk senyawa kompleks dengan protein (Noer *et al.*, 2018). Tanin akan larut dalam air, metanol, gliserol, hidroalkoholik, dan propilenglikol. Praktis tidak larut dalam benzena, kloroform, eter, petroleum, dan karbon disulfida (Apriliana and Hawarima, 2016). Umumnya tanin tersebar pada bagian tanaman spesifik seperti pada bagian kulit kayu, batang, daun, serta buahnya. Tanin mempunyai khasiat sebagai astringent, antidiare, antibakteri, antioksidan, dan antihiperurisemia (Amelia, 2015).

Sifat fisika dan kimia senyawa tanin adalah dimana sifat fisika tanin ialah berbentuk serpihan mengkilat dengan warna kekuningan sampai coklat muda ataupun serbuk amorf, tidak berbau, atau sedikit mempunyai bau yang khas, dan mempunyai rasa sepat (Amelia, 2015). Sifat kimia tanin ialah jika dicampur ke dalam air akan membentuk koloid, jika dicampur dengan alkaloid dan gelatin akan terjadi endapan, dapat mengendapkan protein dari larutannya, dan tanin akan terurai menjadi *pirogallo*, *pirokatekol*, dan *floroglusinol* jika dipanaskan pada suhu  $99^{\circ}\text{C}$  sampai  $102^{\circ}\text{C}$  (Sibuea, 2015).

Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri yaitu dengan menyebabkan sel bakteri menjadi pecah atau rusak (lisis) hal ini terjadi dikarenakan tanin mempunyai target terhadap dinding polipeptida dinding sel bakteri oleh sebab itu pembentukan dinding sel mulai terganggu menjadi kurang sempurna kemudian sel bakteri akan

mati, menginaktifkan enzim-enzim esensial bakteri, dan mengganggu jalannya protein pada lapisan dalam sel (Sapara *et al.*, 2016).

## **2.2 Simplisia**

### **2.2.1 Pengertian simplisia**

Simplisia adalah bahan alamiah yang digunakan sebagai obat, bahan ini belum menyelesaikan tahap apapun, dan bisa digunakan bahan lain yang telah dikeringkan (Huda *et al.*, 2019). Simplisia ada beberapa jenis yaitu simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia pelikan atau mineral (Utami *et al.*, 2013).

#### **2.2.1.1 Simplisia nabati**

Simplisia nabati sendiri merupakan simplisia yang didalamnya terdapat simplisia tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Isi sel yang secara spontan keluar dari tumbuhan atau isi selnya dengan cara tertentu dipisahkan dari tumbuhannya dan belum berupa senyawa murni inilah yang dimaksud eksudat tumbuhan (Ulfah, 2016).

#### **2.2.1.2 Simplisia hewani**

Simplisia hewani merupakan suatu simplisia yang berupa hewan utuh, sebagian hewan, atau zat-zat berguna yang dihasilkan dari hewan, dan belum termasuk zat kimia murni (Utami *et al.*, 2013).

#### **2.2.1.3 Simplisia pelikan (mineral)**

Simplisia pelikan (mineral) merupakan simplisia yang berupa bahan pelikan (mineral) yang belum mengalami proses pengolahan dengan cara yang sederhana serta belum berupa zat kimia murni (Utami *et al.*, 2013).

### **2.2.2 Syarat simplisia**

Beberapa persyaratan mutu dari simplisia menurut Badan POM RI, 2014; Hana, 2010; dan Kementerian Kesehatan RI, 2011 antara lain:

1. Simplisia bebas dari serangga atau kotoran hewan.
2. Tidak mengandung bahan lain atau berbahaya.
3. Bahan baku simplisia harus mengandung kadar air kurang dari 10%.

4. Pada daun tanaman herba harus dipanen sebelum tanaman berbunga, kecuali jika ditentukan lain. Sebisa mungkin daun dipanen dari tanaman dewasa.
5. Pengawet tidak diperbolehkan pada serbuk dengan bahan baku simplisia. Sediaan yang diperbolehkan mengandung pengawet adalah serbuk bahan baku ekstrak, sediaan obat dalam misalnya rajangan yang diseduh dengan air panas.

### **2.2.3 Tahap pembuatan simplisia**

Secara umum pembuatan simplisia melalui tahapan sebagai berikut (Rizqa, 2010):

#### **a. Pengumpulan bahan baku**

Kadar suatu senyawa yang terdapat dalam suatu simplisia berbeda-beda tergantung dari waktu panen, bagian tanaman yang dipakai, umur tanaman, dan lingkungan tempat bertumbuhnya. Waktu panen sangatlah erat hubungannya dengan pembentukan senyawa aktif didalam bagian tanaman. Senyawa aktif akan terbentuk secara maksimal didalam bagian tanaman atau pada umur tertentu. Misalnya pada daun yang diolah menjadi simplisia merupakan yang paling umum digunakan sebagai bahan baku ramuan obat. Simplisia ini dapat berupa lembaran daun tunggal atau majemuk. Biasanya daun digunakan sebagai simplisia dalam bentuk segar atau dikeringkan.

#### **b. Sortasi basah**

Sortasi basah dilakukan dengan tujuan untuk menghilangkan kotoran-kotoran atau bahan asing lainnya dari bahan simplisia. Bahan asing seperti tanah, rumput, kerikil, daun yang telah rusak, serta kotoran lainnya harus dihilangkan. Pada tanah mengandung jenis mikroba yang berjumlah sangat tinggi. Oleh sebab itu pembersihan simplisia dapat mengurangi jumlah mikroba awal.

#### **c. Pencucian bahan**

Pencucian dilakukan untuk menghilang pengotor yang menempel pada simplisia. Pencucian dilakukan menggunakan air bersih seperti dari mata air, air dari perusahaan air minum (PAM), dan air sumur. Pada simplisia yang mengandung senyawa yang mudah larut dalam air disarankan waktu untuk mencucinya sesingkat

ungkinan. Harus dilakukan pencucian dengan air bersih, jika air yang digunakan kotor maka jumlah mikroba pada permukaan simplisia dapat menambah dan air yang ada dipermukaan bahan akan mempercepat pertumbuhan bakteri.

#### **d. Perajangan**

Proses perajangan berbagai jenis bahan simplisia bertujuan untuk mempercepat proses pengeringan, pengepakan, dan penghalusan. Tanaman yang baru diambil tidak boleh langsung dirajang, namun harus dijemur selama 1 hari dalam keadaan utuh. Pisau digunakan sebagai alat perajangan, atau bisa menggunakan alat mesin perajang khusus, dan menggunakan potongan dengan ukuran khusus yang diinginkan.

#### **e. Pengeringan**

Pengeringan bertujuan untuk memperoleh suatu simplisia yang tidak mudah rusak sehingga didapatkan simplisia yang bertahan dengan waktu lama. Penurunan mutu dan kerusakan simplisia dapat dicegah dengan mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatik. Pengeringan simplisia dilakukan dengan bantuan sinar matahari atau alat pengering seperti oven. Hal yang perlu diperhatikan dalam proses pengeringan simplisia adalah kelembapan udara, suhu, aliran udara, waktu pengeringan, dan luas permukaan bahan simplisia. Faktor tersebut harus diperhatikan agar didapatkan simplisia kering yang tidak mudah rusak selama penyimpanan.

#### **f. Sortasi kering**

Sortasi kering merupakan proses setelah pengeringan yaitu tahap akhir simplisia. Tujuan dari proses adalah untuk memisahkan benda asing misalnya bagian yang tidak diinginkan dan pengotor lain yang masih tertinggal pada simplisia kering. Proses ini dilakukan sebelum simplisia dikemas untuk disimpan.

#### **g. Pengepakan dan penyimpanan**

Simplisia dapat mengalami kerusakan atau berubah mutunya karena berbagai faktor yaitu cahaya, oksigen, reaksi kimia intern, dehidrasi, penyerapan air, pengotor, serangga, dan kapang. Kerusakan inilah dapat mengakibatkan hilangnya mutu simplisia dan tidak memenuhi syarat yang ditentukan. Oleh sebab itu, penyimpanan simplisia perlu diperhatikan yaitu dari cara pengepakan,

pembungkusan, pewadahan, cara sortasi, pemeriksaan mutu, dan cara pengawetannya. Penyebab dari rusaknya simplisia yang utama adalah air dan kelembaban.

#### **2.2.4 Pembuatan serbuk simplisia**

Simplisia merupakan bahan alam yang dikeringkan dan digunakan sebagai pengobatan serta belum mengalami pengolahan, kecuali dikatakan lain suhu pengeringan tidak lebih dari 60°C. Serbuk simplisia merupakan suatu sediaan obat tradisional yang berbentuk butiran homogen dengan derajat halus yang sesuai dan terbuat dari simplisia atau kombinasi dari ekstrak yang cara penggunaannya diseduh dengan air panas (Badan POM, 2014).

Lumbanraja *et al.* (2019) menyatakan bahwa pada randemen ekstrak daun bidara yang dihasilkan dengan perbedaan ukuran serbuk 40 mesh, 60 mesh, dan 80 mesh, bahwa ukuran partikel bahan dengan ayakan 80 mesh menghasilkan nilai rendemen tertinggi. Oleh karena itu, dapat disimpulkan semakin besar nomor mesh yang digunakan untuk pengayakan akan semakin besar pula nilai rendemennya. Pada penelitian ini menggunakan ayakan dengan ukuran 80 mesh.

### **2.3 Ekstraksi dan Ekstrak**

Ekstraksi adalah proses penarikan suatu zat dari sumber campuran dengan suatu pelarut cair sehingga zat akan terpisah dari komponen lain yang tidak larut dalam pelarut. Tujuan dari proses ekstraksi adalah untuk memisahkan satu bahan dari campuran bahan dengan bantuan pelarut (Utomo, 2016). Simplisia yang lunak seperti rimpang, akar, dan daun mudah diserap oleh pelarut sehingga proses ekstraksinya tidak perlu diserbuk sampai halus. Sedangkan pada simplisia yang bertekstur keras seperti biji, kulit kayu, dan kulit akar akan susah diserap oleh pelarut sehingga perlu diserbuk sampai benar-benar halus. Selain sifat fisik dan senyawa aktif dari simplisia, senyawa yang terdapat dalam simplisia misalnya protein, lemak, gula, dan karbohidrat juga harus diperhatikan (Maradona, 2013).

Ekstrak adalah sediaan kering, kental, atau cair yang dibuat dengan menyari simplisia nabati atau hewani dengan cara yang sesuai (Riwandy *et al.*, 2014). Ekstrak dikelompokkan berdasarkan sifatnya, yaitu (Hidayat and Kuswandi, 2012):

**a. Ekstrak cair**

Ekstrak cair merupakan suatu ekstrak dari hasil penyarian bahan alam yang masih mengandung larutan penyari. Ekstrak cair merupakan sediaan cair simplisia nabati yang mengandung etanol sebagai pelarut atau sebagai pengawet atau sebagai pelarut dan pengawet.

**b. Ekstrak kental**

Ekstrak kental merupakan suatu ekstrak yang telah mengalami proses penguapan yang sudah tidak mengandung pelarut lagi. Namun, konsistensinya tetap cair pada suhu kamar.

**c. Ekstrak kering**

Ekstrak kering merupakan suatu ekstrak yang sudah mengalami proses penguapan dan tidak lagi mengandung pelarut serta berwujud padat. Ekstrak kering biasanya higroskopis oleh karena itu, harus dihaluskan dan dicampur sebisa mungkin dalam kondisi bebas lembab.

**2.3.1 Metode ekstraksi**

Berikut ini metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut yang dibagi menjadi dua yaitu dengan cara panas dan cara dingin. Metode dengan cara panas dapat dijelaskan sebagai berikut:

**a. Soxhletasi**

*Soxhletasi* adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang benar-benar baru, dan menggunakan alat soklet yang dapat dilakukan ekstraksi terus-menerus menggunakan jumlah pelarut yang stabil dengan hasil pendingin (Ulfah, 2016). Prinsip metode *soxhletasi* adalah penarikan senyawa kimia yang dilakukan dengan cara berulang-ulang sehingga hasil yang didapatkan sempurna (Anam *et al.*, 2014).

**b. Refluks**

Refluks adalah ekstraksi dengan menggunakan pelarut pada titik suhu didihnya, selama waktu tertentu, dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Ulfah, 2016). Prinsip dari metode refluks ialah pelarut yang digunakan akan mengalami penguapan pada suhu tinggi, tetapi akan didinginkan kembali dengan kondensor sehingga uap yang tadi berbentuk uap akan perlahan mengembun pada kondensor dan turun lagi ke dalam wadah reaksi, jadi

larutan penyari akan tetap ada selama proses ekstraksi berlangsung (Susanty and Bachmid, 2016).

#### **c. Infus**

Infus adalah ekstraksi dengan pelarut udara pada suhu 90°C selama 15 menit. Infus adalah ekstraksi menggunakan pelarut udara pada suhu di mana bejana infus tercelup dalam penangas udara mendidih, suhu yang digunakan (96-98°C) selama waktu tertentu (15-20 menit) (Ulfah, 2016). Prinsip metode infusa ialah dapat menyari senyawa simplisia dengan pelarut air pada waktu yang singkat (Hamad *et al.*, 2017).

#### **d. Dekok**

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama ( $\geq 30^\circ\text{C}$ ) dan suhu sampai titik didih udara. Dekok adalah ekstraksi dengan suhu udara 90°C selama 30 menit. Metode ini digunakan untuk ekstraksi konstituen yang larut dalam udara dan konstituen yang stabil terhadap panas (Ulfah, 2016). Prinsip metode ekstraksi dekok sama dengan metode infusa, yang membedakan hanya pada proses ekstraksi metode dekok lebih lama (Rahmatika, 2015).

#### **e. Digesti**

Digesti adalah maserasi kinetik pada suhu lebih tinggi dari suhu kamar, yaitu dilakukan pada suhu 40-50°C. Digesti adalah maserasi dengan pengadukan terus-menerus pada suhu lebih tinggi dari suhu ruang (umumnya 25-30°C) (Ulfah, 2016).

Sedangkan metode dengan cara dingin dapat dijelaskan sebagai berikut:

#### **f. Maserasi**

Maserasi merupakan penyarian simplisia menggunakan larutan penyari dengan beberapa kali penggojokan atau pengadukan pada suhu kamar (Ilham, 2010). Cairan penyari yang biasa digunakan seperti air, etanol, metanol, etanol-air, atau pelarut lainnya (Putri, 2014). Keuntungan ekstraksi dengan cara maserasi adalah pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana, sedangkan kerugiannya yakni cara pengerjaannya lama, membutuhkan pelarut yang banyak, dan penyarian kurang sempurna. Dalam suatu metode maserasi untuk ekstrak cair, serbuk halus atau kasar dari tanaman obat yang telah dilarutkan dengan pelarut

dalam wadah berwarna coklat dan ditutup dengan baik, dengan pengadukan yang sering, hingga terlarutnya zat. Metode ini cocok digunakan untuk senyawa yang termolabil (Ilham, 2010).

Metode maserasi mempunyai prinsip yaitu cairan pelarut akan menembus ke dinding sel, sehingga zat aktif akan terlarut dengan adanya suatu perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif didalam sel dan diluar sel. Jadi, larutan dengan konsentrasi tinggi akan terdorong keluar sel (Puspitasari and Prayogo, 2017). Banyak senyawa yang terekstraksi dengan metode cara dingin, walaupun beberapa senyawa memiliki kelarutan terbatas pada pelarut suhu kamar (Salamah *et al.*, 2017).

Remaserasi merupakan salah satu metode modifikasi dari maserasi dan suatu metode ekstraksi dengan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan ekstrak, pelarut yang kedua ditambahkan sebanyak penambahan pelarut pertama. Keuntungan dari penyarian remaserasi ialah cara pengerjaan mudah dan peralatan yang digunakan sangat sederhana (Ningsih *et al.*, 2015). Remaserasi mempunyai prinsip yang hampir sama dengan maserasi, yakni merendam simplisia didalam pelarut sampai waktu tertentu yang disertai dengan pengadukan (Pratiwi, 2010).

Siswoyo *et al.* (2018) menyatakan bahwa hasil rendemen dari metode remaserasi telah menghasilkan nilai rendemen sebesar 15,52% sedangkan pada hasil rendemen dari metode maserasi menghasilkan nilai rendemen sebesar 11,74%. Rendemen ekstrak hasil remaserasi lebih tinggi dibandingkan dengan rendemen ekstrak hasil maserasi, hal ini disebabkan karena pada saat remaserasi menggunakan pelarut baru jadi konsentrasi antara pelarut dengan sel berbeda jauh sehingga menghasilkan ekstrak yang lebih tinggi (Pratiwi, 2010).

#### **g. Perkolasi**

Perkolasi merupakan cara penyarian dengan metode dingin dan dilakukan dengan penyarian simplisia yang sudah disari menggunakan pelarut baru sampai menghasilkan yang sempurna, pada hakikatnya pengerjaannya pada suhu kamar (Ulfah, 2016). Prinsip ekstraksi dengan metode perkolasi ialah menarik metabolit

sekunder dengan pelarut yang selalu baru secara berkelanjutan (Rusmawijayanto *et al.*, 2019).

#### **h. Fraksinasi**

Fraksinasi merupakan suatu proses pemisahan senyawa-senyawa berdasarkan pada tingkat kepolarannya (Wardhani and Supartono, 2015). Ekstrak awal adalah suatu campuran yang berasal dari berbagai senyawa, akan sulit dipisahkan dengan pemisahan tunggal untuk mengetahui senyawa tunggalnya. Oleh sebab itu, perlu dilakukannya pemisahan ke dalam fraksi yang mempunyai polaritas dan ukuran molekul yang sama (Cahyani, 2018). Fraksinasi dapat dilakukan dengan metode ekstraksi cair-cair, metode ini dilakukan berdasarkan perbedaan kelarutan senyawa diantara dua pelarut yang tidak saling bercampur (Hermawan *et al.*, 2016). Fraksinasi dengan cara ekstraksi cair-cair bersifat sederhana, bersih, cepat, dan mudah (Suryaku, 2017).

Fraksinasi mempunyai prinsip yaitu proses penarikan senyawa pada suatu ekstrak dengan menggunakan dua macam pelarut yang tidak bercampur, memakai pelarut yang mewakili beberapa sifat polaritas, seperti methanol dan air untuk menarik senyawa polar, etil asetat untuk menarik senyawa semi polar, serta n-heksan untuk menarik senyawa non polar dan lemak. Dari proses ini sifat kepolaran dari senyawa yang akan dipisahkan, sebagaimana diketahui bahwa senyawa yang bersifat polar akan terlarut pada pelarut polar sedangkan senyawa non polar akan terlarut dalam pelarut non polar juga (Suryaku, 2017).

Sulistiyarningsih *et al.* (2017) menyatakan bahwa fraksi etil asetat yang merupakan fraksi semi polar ialah fraksi paling aktif untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa multiresisten*. Konsentrasi daya antibakterinya dikategorikan kuat dengan diameter zona hambat yang lebih besar daripada fraksi air dan fraksi n-heksan. Fraksi etil asetat mempunyai daya hambat yang paling besar, karena fraksi tersebut mampu menarik senyawa yang paling aktif sebagai antibakteri. Selain itu, pada proses skrining fraksi etil asetat daun rambutan (*Nephelium lappaceum L.*) dapat menarik senyawa flavonoid, saponin, dan tanin yang mempunyai aktivitas antibakteri sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

## 2.4 Pelarut

Pada umumnya pelarut adalah suatu cairan yang berupa zat murni ataupun zat campuran. Sedangkan untuk zat yang terlarut berupa gas, padat, dan cairan lainnya. Terdapat dua persyaratan saat pemilihan pelarut yang akan digunakan yaitu harus mempunyai daya larut yang tinggi dan pelarut harus bersifat inert, agar tidak ada reaksi yang terjadi dengan komponen lain (Putri *et al.*, 2019). Faktor yang berpengaruh pada proses ekstraksi salah satunya ialah jenis pelarut yang dipakai dan mutu pelarut (Rifai *et al.*, 2018).

Pemilihan pelarut yang sesuai merupakan faktor terpenting dalam proses ekstraksi. Proses ekstraksi menggunakan pelarut berbasis pada sifat kepolaran zat dalam pelarut saat ekstraksi. Senyawa yang polar hanya larut pada pelarut polar misalnya, etanol, metanol, dan butanol. Pada campuran non polar hanya larut pada pelarut non polar seperti eter, kloroform, dan n-heksan (Kasminah, 2016). Beberapa pelarut yang digunakan untuk ekstraksi misalnya air, etanol, kloroform, n-heksan, etil asetat, dan *Dimethylsulfoxid* (DMSO).

### 2.4.1 Air

Air merupakan pelarut universal yang sering digunakan. Biasanya digunakan untuk mencari produk tumbuhan dengan aktivitas antimikroba. Air dapat melarutkan senyawa fenolik yang mempunyai aktivitas sebagai antioksidan (Kasminah, 2016). Air atau disebut dengan *aquadestillata* dan air suling mempunyai rumus molekul H<sub>2</sub>O (Kristijarti and Arlene, 2012).

Air merupakan pelarut yang sangat polar digunakan untuk menyari senyawa-senyawa organik polar sehingga cocok digunakan sebagai pelarut polar dalam proses fraksinasi. Pelarut air dipilih karena air dapat melarutkan misalnya garam alkaloid, asam organik, glikosida, tanin, protein, gom, dan pati (Andhini, 2017). Pelarut Air mempunyai keuntungan dimana relatif murah, mudah didapat, tidak menguap, dan tidak mudah terbakar. Namun tidak bisa dihindari pada pelarut air yaitu kemungkinan dapat terjadi reaksi hidrolisa, dapat ditumbuhi jamur dan mikroba, serta untuk pengeringan dibutuhkan waktu lama (Sa`adah and Nurhasnawati, 2015).

Suryaku, (2017) menyatakan bahwa fraksi air daun ungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan metode difusi (*Kirby Bauer*).

#### **2.4.2 Etanol**

Etanol yang mempunyai sinonim *aethanolum* merupakan campuran etil alkohol dan air. Etanol mengandung tidak kurang dari 93,3% b/b dan tidak lebih dari 94,9% v/v dengan rumus molekul  $C_2H_6O$ . Etanol adalah cairan tidak berwarna atau jernih, mudah menguap walaupun pada suhu rendah, mendidih pada suhu  $78^{\circ}C$ , bau khas, mempunyai rasa terbakar pada lidah, dan mudah terbakar (Kementerian Kesehatan RI, 2020).

Ekstraksi menggunakan pelarut etanol menunjukkan aktivitas yang lebih tinggi daripada ekstraksi menggunakan pelarut air. Hal ini berhubungan dengan adanya jumlah polifenol yang lebih tinggi pada ekstrak dengan pelarut etanol dibandingkan dengan air. Konsentrasi tinggi dari senyawa flavonoid terdeteksi dengan etanol 70% dikarenakan polaritasnya lebih tinggi daripada pelarut air. Etanol dapat melarutkan alkaloid basa, glikosida, kurkumin, minyak menguap, kumarin, steroid, flavonoid, dan klorofil. Etanol sangat efektif digunakan ekstraksi karena akan menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal, dimana zat pengganggu dalam skala kecil yang dapat masuk dalam cairan pengekstraksi (Kasminah, 2016).

Luginda *et al.* (2018) menyatakan bahwa ekstrak etanol daun beluntas dengan konsentrasi 70% lebih banyak mendapatkan nilai rata-rata kadar senyawa daripada ekstrak etanol 97%. Syamsul *et al.* (2020) menunjukkan bahwa hasil rendemen ekstrak daun jambu mawar yang menggunakan pelarut etanol 70% mendapatkan % rendemen yang lebih tinggi daripada dengan ekstrak etanol 90%. Persentase rendemen yang diperoleh dari ekstrak oleoresin daun kayu manis dengan ekstrak etanol 70% juga mendapatkan % rendemen yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak etanol 96%. Perbedaan polaritas antara etanol 70% dengan 96% ini menjadi penyebab terjadinya perbedaan % rendemen yang dihasilkan dari suatu ekstraksi (Khasanah *et al.*, 2018).

### 2.4.3 Kloroform

Kloroform adalah pelarut yang mempunyai sifat semi polar dan biasa digunakan untuk mencari senyawa seperti tanin dan terpenoid (Kasminah, 2016). Kloroform yang mempunyai nama lain *chloroform* dengan rumus molekul  $\text{CHCl}_3$ . Kloroform berbentuk cairan jernih, mudah mengalir, tidak berwarna, bau eter, dan rasa manis disertai rasa membakar. Sukar larut dalam air, dapat bercampur dengan etanol, dengan eter, benzene, heksana, dan dengan lemak serta dengan minyak menguap (Kementerian Kesehatan RI, 2020).

### 2.4.4 n-Heksan

n-Heksan merupakan senyawa karbon yang bisa digunakan sebagai solven. Solven pada umumnya adalah zat berupa senyawa karbon cair baik jenis alifatik maupun aromatik. n-Heksan merupakan hidrokarbon alkana yang mempunyai rumus kimia  $\text{C}_6\text{H}_{14}$ . Seluruh isomer n-heksan sering digunakan sebagai pelarut organik yang bersifat inert karena sifat non polarnya (Utomo, 2016).

n-Heksan mempunyai sifat sangat tidak polar, volatil, mempunyai bau khas yang menyengat (Kasminah, 2016). n-Heksan merupakan hasil penyulingan dari minyak tanah yang sudah bersih terdiri atas campuran rangkaian hidrokarbon, bersifat mudah terbakar. n-Heksan larut dalam alkohol, benzene, kloroform, dan eter, serta tidak larut pada air (Suryaku, 2017). Senyawa yang dapat larut dalam pelarut n-heksan ialah senyawa yang bersifat non polar seperti terpenoid, triterpenoid, sterol, dan fenil propanoid (Andhini, 2017).

Ambarsari (2013) menyatakan bahwa pelarut n-heksan yang digunakan pada fraksi ekstrak etanol daging buah sirsak (*Annona muricata* L.) mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, sedangkan pada bakteri *Staphylococcus aureus* tidak mampu dihambat pertumbuhannya oleh fraksi n-heksan. Hasil uji bioautografi terhadap *Pseudomonas aeruginosa* diperoleh hasil senyawa yang positif terhadap bakteri ialah golongan senyawa steroid dan alkaloid, serta hasil uji bioautografi menunjukkan senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri pada fraksi n-heksan daging buah sirsak yaitu senyawa alkaloid, steroid, dan triterpenoid,

### 2.4.5 Etil asetat

Etil asetat merupakan larutan bening, tidak berwarna, berbau khas, zat berupa larutan polar yang volatil, dan toksisitas rendah. Etil asetat mempunyai rumus molekul  $C_4H_8O_2$  (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1979). Larut dalam 15 bagian air, dapat bercampur dengan etanol 95%, dan eter. Dalam pembuatan etil asetat biasanya dilakukan dengan proses esterifikasi (Lidiawati *et al.*, 2018).

Etil asetat pelarut dengan karakteristik semi polar (Kasminah, 2016). Etil asetat mudah terbakar dan menguap, maka penyimpanannya dalam wadah tertutup baik dan terhindar dari sinar matahari. Senyawa yang larut dalam pelarut ini yaitu senyawa fenolik seperti fenol-fenol, asam fenolat, fenil propanoid, antrakuinon, dan xantan (Andhini, 2017).

### 2.4.6 Dimethylsulfoxide (DMSO)

*Dimethylsulfoxide* (DMSO) merupakan senyawa organosulfur yang mempunyai rumus kimia  $(CH_3)_2SO$ . Larutan ini merupakan pelarut organik yang dapat melarutkan senyawa polar, non polar, dan larut dalam pelarut organik seperti air, alkohol, ester, dll. *Dimethylsulfoxide* (DMSO) mempunyai ciri-ciri yaitu tidak berwarna, tidak berbau, dan sedikit higroskopik (Insani, 2020). Pelarut *Dimethylsulfoxide* (DMSO) sebagai kontrol negatif pada uji aktivitas antibakteri daun ungu dengan konsentrasi 5% tidak menunjukkan adanya zona hambat bakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (Suryaku (2017).

## 2.5 Bakteri

### 2.5.1 Definisi bakteri

Bakteri atau disebut dengan *bakterion* yang mempunyai arti tongkat atau batang. Bakteri merupakan suatu nama yang digunakan untuk menyebut sekelompok mikroorganisme bersel satu, tidak berklorofil, berkembangbiak dengan pembelahan diri (aseksual), dan bentuknya yang kecil maka hanya tampak dengan mikroskop (Rahmadani, 2015). Bakteri merupakan sel prokariot yang khas, uniseluler, dan tidak mengandung struktur yang memenuhi membran di dalam

sitoplasmanya. Bakteri memiliki ukuran yang bervariasi namun memiliki diameter sekitar 0,5-1,0  $\mu\text{m}$  dan panjangnya 1,5-2,5  $\mu\text{m}$  (Effendi *et al.*, 2014).

### **2.5.2 Penggolongan bakteri**

Berdasarkan pewarnaan Gram, bakteri digolongkan menjadi dua bagian yaitu (Ramadhan, 2015):

#### **1. Bakteri Gram positif**

Bakteri Gram positif yaitu bakteri yang mampu mengikat zat warna pertama atau kristal violet akan memberikan warna ungu dan sesudah mengalami proses pencucian dengan alkohol, warna ungu tersebut akan tetap kelihatan. Kemudian ditambahkan zat warna kedua atau safranin, warnanya akan bertahan. Contoh dari bakteri Gram positif adalah *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Streptococcus pneumoniae*, dan *Streptococcus agalactiae*.

#### **2. Bakteri Gram negatif**

Bakteri Gram negatif yaitu bakteri yang kehilangan warna dari kristal violet ketika pencucian dengan alkohol dan setelah diberikan warna kedua atau safranin, bakteri akan menimbulkan warna merah muda. Contoh dari bakteri Gram negatif adalah *Salmonella species*, *Salmonella typhi*, *Salmonella dysenteriae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas aeruginosa*.

Berdasarkan bentuk morfologinya bakteri dapat digolongkan menjadi tiga golongan yaitu:

#### **1. Golongan basil**

Basil disebut juga *bacillus* merupakan bakteri yang berbentuk seperti batang atau silinder, membelah dalam satu bidang, basil dapat berupa batang tunggal, dan berpasangan atau berbentuk rantai pendek maupun panjang (Ramadhan, 2015). Ukuran bakteri basil ada yang lebarnya 0,2  $\mu\text{m}$  sampai 2,0  $\mu\text{m}$  sedangkan untuk panjangnya ada yang 1  $\mu\text{m}$  sampai 15  $\mu\text{m}$  (Rahmadani, 2015).

#### **2. Golongan kokus**

Kokus adalah suatu bakteri yang berbentuk bulat, hidupnya ada yang sendiri dan ada yang berpasangan, kubus atau membentuk rantai panjang, dan bergantung dengan caranya membelah diri kemudian melekat satu sama lain setelah

pembelahan (Ramadhan, 2015). Bakteri golongan kokus tidak sebanyak golongan basil. Ukuran bakteri kokus ada yang berdiameter 0,5  $\mu\text{m}$  dan ada juga yang berdiameter 2,5  $\mu\text{m}$  (Rahmadani, 2015).

### 3. Golongan spiral

Pada kelompok bakteri ini terdiri atas beranekaragam bentuk bakteri berbentuk tabung dan melingkar (Ramadhan, 2015). Bakteri golongan ini membengkok atau serupa seperti spiral. Golongan ini tidak banyak terdapat jika dibandingkan dengan bakteri golongan kokus maupun golongan basil (Rahmadani, 2015).

Pada penelitian ini digunakan satu spesies bakteri uji yang telah diketahui bersifat patogen terhadap manusia. Bakteri uji yang digunakan adalah bakteri kelompok Gram positif yaitu bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (Suryaku, 2017).

## 2.6 Identifikasi Bakteri

Menurut Khaira (2019) ada beberapa cara untuk identifikasi bakteri sebagai berikut:

### a. Pemeriksaan Mikroskopis

Pemeriksaan ini untuk mengamati pergerakan, dan pembelahan secara biner, mengamati bentuk dan ukuran sel yang alami, serta pada saat mengalami fiksasi panas serta selama proses pewarnaan mengakibatkan beberapa perubahan.

### b. Pembiakan Bakteri

Pembenihan atau media yaitu campuran bahan-bahan tertentu yang dapat menumbuhkan bakteri, jamur ataupun parasit, pada derajat keasaman dan inkubasi tertentu. Pembiakan diperlukan untuk mempelajari sifat bakteri untuk melakukan identifikasi, determinasi, atau *differensiasi* jenis-jenis yang ditemukan.

Medium pembiakan terdiri atas:

### 1. Medium pembiakan dasar

Pembiakan dasar adalah medium pembiakan sederhana yang mengandung bahan yang umum diperlukan oleh sebagian besar mikroorganisme dan dipakai sebagai komponen dasar untuk membuat medium pembiakan lain. Medium ini

dibuat dari 3 g ekstrak daging, 5 g pepton, dan 1000 ml air. Medium ini dinamakan juga bulyon nutrisi.

## 2. Medium pembiakan penyubur (*enriched medium*)

Medium pembiakan ini dibuat dari medium pembiakan dasar dengan penambahan bahan lain untuk menyuburkan pertumbuhan bakteri tertentu yang pada medium pembiakan dasar tidak dapat tumbuh dengan baik. Pada medium pembiakan dasar sering ditambahkan seperti darah, serum, cairan tubuh, ekstrak hati, dan juga otak.

Yang termasuk ke dalam media selektif dan differensial antara lain:

### a) Agar garam mannitol

Agar garam mannitol mengandung konsentrasi garam tinggi yaitu 7,5% NaCl, yang dapat menghambat pertumbuhan kebanyakan bakteri kecuali bakteri *Staphylococcus*. Media ini juga menjelaskan fungsi differensial karena mengandung karbohidrat mannitol, dimana beberapa *Staphylococcus* dapat melakukan fermentasi, *phenol red* (pH indikator) digunakan untuk mendeteksi adanya asam hasil fermentasi manitol. *Staphylococcus* ini akan memperlihatkan zona kuning di sekeliling pertumbuhannya sedangkan *Staphylococcus* yang tidak melakukan fermentasi tidak akan menunjukkan perubahan warna.

### b) Agar darah

Darah dimasukkan ke dalam medium untuk memperkaya unsur dalam pembiakan mikroorganisme terpilih seperti *Streptococcus* sp. Darah juga akan memperlihatkan sifat hemolisis yang dimiliki *Streptococcus*.

- 1) Gamma hemolisis: tidak terjadi lisis sel darah merah, tidak adanya perubahan medium di sekitar koloni.
- 2) Alpha hemolisis: terjadi lisis sel darah merah dengan reduksi hemoglobin menjadi metahemoglobin menghasilkan lingkaran kehijauan sekitar pertumbuhan bakteri.
- 3) Beta hemolisis: terjadi lisis sel darah merah dilengkapi kerusakan dan penggunaan hemoglobin oleh mikroorganisme menghasilkan zona bening sekeliling koloni.

c) Agar *McConkey*

Menghambat pengaruh kristal ungu terhadap pertumbuhan bakteri Gram positif, selanjutnya bakteri Gram negatif dapat diisolasi. Medium dilengkapi dengan karbohidrat (laktosa), garam empedu, dan *neutral red* sebagai pH indikator yang mampu membedakan bakteri enterik sebagai dasar kemampuannya untuk memfermentasi laktosa.

c. Uji Biokimia

Sifat metabolisme bakteri dalam uji biokimia biasanya dilihat dari interaksi metabolit-metabolit yang dihasilkan dengan reagen kimia. Selain itu dilihat kemampuannya menggunakan senyawa tertentu sebagai sumber karbon dan sumber energi. Adapun uji biokimia yang sering dilakukan yaitu:

1. SIM (*Sulfat Indol Motility*)

Hasil positif yang diperoleh dengan terlihatnya penyebaran yang berwarna putih seperti akar disekitar inokulasi. Hal ini menunjukkan adanya pergerakan dari bakteri yang diinokulasikan, yang berarti bahwa bakteri ini memiliki flagela. Dari uji juga terlihat ada warna hitam yang berarti bakteri ini menghasilkan Hidrogen Sulfat (H<sub>2</sub>S).

2. TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*)

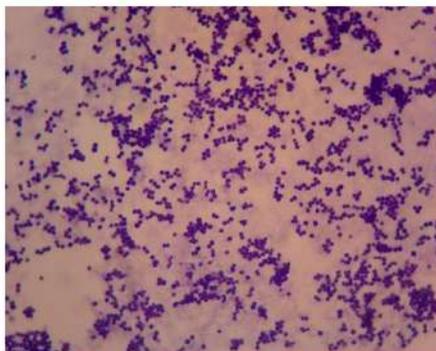
*Triple Sugar Iron Agar* medium biasa digunakan untuk konfirmasi pengujian *Escherichia coli* dan dapat digunakan untuk identifikasi bakteri Gram negatif yang memfermentasi dekstrosa atau laktosa atau juga sukrosa dan produksi Hidrogen Sulfat (H<sub>2</sub>S). Dari fungsi tersebut media ini dapat diusulkan untuk mengidentifikasi bakteri *Salmonella* dan memilahkannya dari *Pseudomonas* yang tumbuh pada media lain *Bismuth Salt Agar* (BSA) dan *Brilliant Green Agar* (BGA). Terjadinya fermentasi dekstrosa oleh *Salmonella* akan menurunkan pH menjadi asam. Kondisi ini akan menyebabkan perubahan *phenol red* (media merah) menjadi kuning. Sedangkan *Pseudomonas* karena tidak mampu memfermentasi dekstrosa, maka media akan tetap berwarna merah. Dengan demikian media ini dapat dengan mudah memilah *Salmonella* dan *Pseudomonas*.

### 3. Simmon Sitrat

Simmon sitrat atau nama lainnya *Simmons Citrate Medium* mengandung amonium dihidrogen fosfat, natrium klorida, natrium sitrat, magnesium sulfat, agar, bromtimol biru, air, dan memiliki pH 6,9.

#### 2.7 *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus* istilahnya "*staphyle*" yang mengartikan kelompok buah anggur dan kokus yang berarti benih bulat, sedangkan *aureus* berasal dari kata "aurum" yang mempunyai arti emas. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif yang tumbuh cepat pada suhu 37°C namun pembentukan pigmen terbaiknya pada temperatur suhu kamar yaitu 20°C sampai 35°C. Bakteri ini ditemukan pada selaput lendir hewan berdarah panas, bisul, kulit dan luka. Dapat menyebabkan penyakit melalui kemampuannya berkembangbiak yang baik dan menyebar luas dalam jaringan (Ilham, 2010; Hasibuan, 2016).



**Gambar 2.2** Bentuk Koloni *Staphylococcus aureus* (Putri, 2017).

*Staphylococcus* masuk ke dalam tubuh melalui saluran pernapasan, folikel rambut, dan tusukan jarum. *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) merupakan bakteri aerob yang salah satu flora normal manusia pada kulit dan selaput mukosa, serta sebuah patogen yang hampir setiap orang pernah mengalami infeksi terhadap bakteri ini. Infeksi yang disebabkan *Staphylococcus aureus* sangatlah bervariasi mulai dari keracunan makanan sampai infeksi kulit ringan hingga berat sehingga dapat mengancam jiwa. Saat bakteri *Staphylococcus aureus* menyebar dan terjadi

bakterimia, maka kemungkinan bisa terjadi infeksi paru-paru sampai meningitis (Triana, 2014).

### 2.7.1 Morfologi

*Staphylococcus aureus* berbentuk bundar pada sel-selnya dan berdiameter 0,5-1,5  $\mu\text{m}$ , terdapat pada tunggal, berpasangan, dan secara khas akan membelah diri lebih dari satu bidang sehingga akan membentuk gerombolan yang tidak teratur. Dinding sel mengandung dua komponen utama antara lain peptidoglikan dan asam teriokat (Ilham, 2010). Pada lempeng agar, koloni bakteri ini berbentuk bundar dengan diameter 1 sampai 2 mm, cembung, buram, mengkilat, serta konsistensinya lunak. Koloni yang dibentuk berwarna abu-abu sampai warna kuning tua kecoklatan, namun koloni bakteri yang masih sangat muda tidak mempunyai warna. Bakteri *Staphylococcus aureus* dapat hidup selama berbulan-bulan dalam media agar miring yang disimpan pada lemari es dan pada suhu kamar. Dapat bertahan juga dalam zat kimia, yakni alkohol 50% sampai 70% dengan waktu 1 jam (Firdaus, 2014).

### 2.7.2 Klasifikasi

Klasifikasi dari bakteri *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut (Pratiwi, 2019):

Divisio : Firmicutes  
Class : Bacilli  
Ordo : Bacillales  
Famili : Staphylococcaceae  
Genus : Staphylococcus  
Species : *Staphylococcus aureus*

## 2.8 Antibakteri

Antibakteri merupakan obat atau senyawa yang dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri khususnya pada bakteri yang merugikan manusia. Kadar minimal yang diperlukan untuk membunuh dan menghambat pertumbuhan bakteri yang dikenal dengan sebutan Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM). Pada antibakteri tertentu aktivitasnya

dapat meningkatkan bakterisid bila kadar antibakteri melebihi Kadar Hambat Minimum (KHM) (Hasibuan, 2016). Bakteriostatik yaitu antibakteri yang hanya menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Bakterisidal adalah antibakteri yang dapat membunuh mikroorganisme (Rahmadani, 2015).

### **2.8.1 Mekanisme kerja antibakteri**

Suatu senyawa yang dapat membunuh atau menekan pada pertumbuhan bakteri disebut antibakteri. Berdasarkan mekanisme kerjanya antibakteri dibagi menjadi lima kelompok, antara lain (Firdaus, 2014):

#### **a. Menghambat metabolisme bakteri**

Asam folat dibutuhkan suatu bakteri agar bisa bertahan hidup. Asam folat diperoleh dari hasil sintesis asam amino benzoat. Obat yang bekerja dengan menghambat metabolisme akan bersaing dengan asam amino benzoat (PABA) yang menghasilkan analog asam folat non fungsional sehingga pertumbuhan bakteri menjadi terganggu, misalnya pada obat sulfonamida.

#### **b. Menghambat sintesis dinding sel bakteri**

Bakteri mempunyai dinding sel yang tersusun dari peptidoglikan. Golongan antibiotik yang menghambat sintesis dinding sel bersifat bakterisidal karena adanya tekanan osmotik dari intra sel lebih tinggi daripada ekstra sel. Terdapat obat yang bekerja menghambat reaksi pertumbuhan dinding sel pada reaksi transpeptidase, misalnya obat penisilin.

#### **c. Mengganggu keutuhan membran sel dari bakteri**

Antimikroba yang mempunyai senyawa ammonium kuartener bila bereaksi dengan fosfat yang terdapat pada fosfolipid akan merusak membran sel dan mengakibatkan protein, asam nukleat, dan yang lainnya akan keluar dari sel bakteri. Golongan obat polimiksin yang merupakan contoh obat yang mengganggu keutuhan membran sel bakteri. Bakteri Gram positif mengandung sedikit fosfor menjadikan antimikroba seperti polimiksin tidak efektif. Sedangkan pada bakteri Gram negatif jika kandungan fosfor menurun maka bakteri tersebut akan resisten.

#### **d. Menghambat sintesis protein sel bakteri.**

tRNA dan mRNA yang dapat membantu sel mikroba untuk mensistensi berbagai protein yang ada diribosom. Pada setiap ribosom mempunyai dua sub unit

yakni ribosom 30 S dan ribosom 50 S, kedua ribosom tersebut akan bersatu membentuk ribosom 70 S agar bisa mensintesis protein. Streptomisin merupakan contoh obat yang berikatan dengan komponen ribosom 30 S menyebabkan kode pada mRNA mengalami kesalahan dibaca oleh tRNA saat sintesis protein. Hal ini menyebabkan pembentukan protein tersebut menjadi tidak sempurna dan non fungsional bagi sel bakteri. Sedangkan pada obat golongan eritromisin, kloramfenikol, dan linkomisin akan berikatan dengan ribosom 50 S.

#### **e. Menghambat sintesis asam nukleat sel bakteri**

Pada antimikroba yang bekerja dengan menghambat sintesis asam nukleat sel bakteri adalah quinolon dan rifampisin. Obat tersebut akan berikatan dengan enzim polimerase-RNA sehingga menghambat sintesis RNA dan DNA sel bakteri.

## **2.9 Metode Uji Aktivitas Antibakteri**

Tujuan dari pengujian antibakteri ialah untuk mengukur respon pertumbuhan populasi mikroorganisme terhadap agen antibakteri dan untuk mengetahui aktivitas dari suatu bakteri terhadap antibakteri secara *in vitro*. Penentuan aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan dua arah yaitu metode difusi dan metode dilusi. Metode yang termasuk ke dalam metode difusi adalah metode cara disk (*disc*), cara parit (*ditch*), cara *E-test*, dan cara sumur (*cup*). Sedangkan yang termasuk ke dalam metode dilusi adalah metode dilusi cair dan metode dilusi padat (Hasibuan, 2016).

### **2.9.1 Metode difusi**

Pada metode difusi ditentukan dengan aktivitas yang didasarkan pada kemampuan difusi dari zat antimikroba dalam lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan mikroba uji. Metode ini yang diperhatikan ialah Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) (Suryaku, 2017). Metode ini dilakukan dengan menanamkan bakteri pada media agar padat tertentu kemudian diletakkan pada *disk* yang sudah mengandung obat kemudian dilihat hasilnya. Diameter zona bening disekitar diukur sebagai kekuatan inhibisi obat melawan bakteri yang diuji (Hasibuan, 2016). Metode difusi dibagi menjadi beberapa cara, yaitu:

#### **a. Cara cakram (*disc*)**

Metode uji aktivitas antibakteri yang dilakukan pada percobaan ini adalah metode uji secara *in vitro* yang merupakan suatu metode uji pada media buatan yang sesuai dengan lingkungan optimal yang diperlukan oleh mikroba untuk tumbuh dan berkembangbiak (Ikrom *et al.*, 2014). Pengujian secara *in vitro* menggunakan metode difusi dengan cara cakram ialah suatu cara yang paling sering digunakan untuk mengetahui kepekaan kuman terhadap berbagai macam obat. Pada metode ini menggunakan suatu kertas cakram yang berfungsi sebagai tempat menampung zat antimikroba. Kertas cakram kemudian diletakkan pada media agar yang telah diinokulasi mikroba uji, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Metode ini mempunyai keuntungan yaitu mudah dilakukan dan tidak memerlukan peralatan khusus, sedangkan kerugiannya ialah tidak dapat diaplikasikan pada mikroorganisme yang tumbuhnya lambat dan mikroorganisme yang bersifat anaerob obligat (Prayoga, 2013).

Ratna *et al.* (2018) menyatakan bahwa ekstrak etanol 70% daun rambutan dengan konsentrasi ekstrak 10% mempunyai efek optimal zona hambat terhadap bakteri *Streptococcus mutans* yaitu 19,64 mm dengan metode difusi menggunakan kertas cakram pada masa inkubasi 1 x 24 jam bersuhu 37°C. Hasil penelitian (Kurniawati, 2015) menunjukkan bahwa metode yang digunakan pada pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol 70% tunas bambu apus menggunakan difusi kertas cakram, diketahui bahwa ekstrak tunas bambu apus yang efektif sebagai antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* yaitu pada konsentrasi 150 mg/ml. Metode ini dipilih karena mudah dilakukan, tidak membutuhkan peralatan khusus, dan relatif murah (Kurniawati, 2015).

#### **b. Cara parit (*ditsh*)**

Metode dengan cara parit merupakan metode suatu lempeng agar yang sudah diinokulasikan dengan bakteri uji yang dibuat sebidang parit atau goresan. Parit tersebut berupa zat antimikroba, kemudian diinkubasi pada waktu dan suhu optimal yang sesuai untuk bakteri. Hasil pengamatannya ada atau tidaknya zona hambat yang terbentuk disekitar parit tersebut (Prayoga, 2013).

### c. Cara *E-test*

Metode *E-test* dilakukan untuk memperkirakan Kadar Hambat Minimum (KHM). Metode yang menggunakan suatu strip plastik yang sudah mengandung agen antibakteri dari kadar terendah sampai tertinggi kemudian diletakkan pada permukaan media agar yang sebelumnya telah ditanami bakteri (Hasibuan, 2016).

### d. Cara sumur (*hole/cup*)

Cara sumuran dilakukan dengan lempeng agar yang sudah diinokulasikan dengan bakteri uji dibuat suatu lubang yang kemudian diisi dengan zat antimikroba uji. Setelah diinkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai dengan mikroba uji, dilakukan pengamatan dengan melihat ada atau tidaknya zona hambat disekeliling lubang (Prayoga, 2013).

**Tabel 2.1** Kategori respon hambat pertumbuhan bakteri (Utami, 2017)

Diameter Zona Hambat	Respon Hambat
>20 mm	Sangat kuat
10-20 mm	Kuat
5-10 mm	Sedang
0-5 mm	Lemah

## 2.9.2 Metode dilusi

Metode dilusi berguna untuk mencari Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dengan mengetahui kadar obat terendah yang dapat menghambat dan membunuh pertumbuhan bakteri. Prinsip dari metode ini ialah senyawa antibakteri diencerkan hingga diperoleh berbagai macam konsentrasi. Kemudian masing-masing konsentrasi ditambahkan suspensi bakteri uji dalam media cair, lalu diinkubasi dan diamati ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri yang ditandai dengan terjadinya kekeruhan. Larutan uji senyawa antibakteri pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa ada pertumbuhan mikroba uji ditetapkan sebagai KHM, selanjutnya dikultur ulang pada media agar tanpa penambahan bakteri uji ataupun senyawa antibakteri, dan diinkubasi selama 18-24 jam. Media agar yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri setelah diinkubasi ditetapkan sebagai KBM (Suryaku, 2017). Macam-macam metode dilusi sebagai berikut:

**a. Metode dilusi cair (*broth dilution test*)**

Metode ini digunakan dengan tujuan untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). Menggunakan suatu cara dengan pembuatan seri pengenceran antibakteri pada media cair yang ditambahkan dengan mikroba uji (Hasibuan, 2016).

**b. Metode dilusi padat (*solid dilution test*)**

Pada metode ini sama dengan metode dilusi cair, tetapi yang membedakan ialah pada penggunaan medianya padat. Pada dilusi padat setiap konsentrasi obat langsung dicampur pada media agar padat setelah itu ditanami dengan bakteri serta diinkubasi (Hasibuan, 2016).

## **2.10 Antibakteri Pembanding**

Suatu substansi kimia yang diperoleh dari atau dibentuk oleh berbagai jenis mikroorganisme (bakteri atau jamur) disebut dengan antibiotik. Pada konsentrasi rendah antibiotik akan menghambat pertumbuhan mikroorganisme yang lain (Hasibuan, 2016). Antibiotik yang digunakan pada penelitian ini adalah kloramfenikol. Kloramfenikol merupakan senyawa antibiotik yang berspektrum luas, efektif untuk bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif (Octaviani *et al.*, 2019). Kloramfenikol ialah sediaan bakteriostatik alamiah yang berasal dari *Streptomyces venezuelae*. Kloramfenikol dipakai untuk pengobatan demam tifoid, infeksi oleh bakteri *Salmonella* atau infeksi lain, dan meningitis yang resisten terhadap penisilin (Pratiwi, 2015). Mekanisme dari kloramfenikol sendiri yaitu menghambat sintesis protein (Kusumawati, 2016). Selain itu, kloramfenikol akan secara reversible berikatan dengan unit 50 S, sehingga akan mencegah ikatan antara asam amino dengan ribosom. Antibiotik ini berikatan secara spesifik dengan akseptor yang merupakan tempat ikatan kritis untuk perpanjangan rantai peptida (Pratiwi, 2019). Kloramfenikol digunakan sebagai kontrol positif pada penelitian ini karena mempunyai mekanisme kerja yang sama terhadap senyawa dalam ekstrak daun rambutan (Rumaolat, 2020).

Elvira *et al.* (2017) menyatakan bahwa hasil uji sensitivitas *Staphylococcus aureus* 100% sensitif terhadap antibiotik kloramfenikol dan vankomisin.

Sedangkan pada antibiotik tetrasiklin resistensinya 19%, dan 50% resisten pada antibiotik eritromisin, serta 100% resisten terhadap antibiotik amoksisilin dan linezolid yang dilakukan menggunakan metode cara difusi dengan cakram *Kirby-Bauer*. Pengujian aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan kontrol positif antibiotik kloramfenikol mendapatkan hasil zona hambat sebesar 21 mm dengan kategori sangat kuat (Hanik, 2012).

Karakteristik kloramfenikol menurut Farmakope Indonesia edisi kelima halaman 684-685 adalah sebagai berikut (Kementerian Kesehatan RI, 2014):

Rumus Kimia :  $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$

Nama umum : Kloramfenikol

Nama lain : *Chloramphenicol, Chloramphenicolum*

Nama Kimia : *D-treo-(-)-2,2-Dikloro-N-[β-hidroksi-α-(hidroksimetil)-p nitrofenetil]asetamida*

BM : 323,13

Suhu lebur : antara 149°C dan 153°C

pH : antara 4,5 dan 7,5

Pemerian : Hablur halus berbentuk jarum atau lempeng memanjang, putih hingga putih kelabu atau putih kekuningan, larutan praktis netral terhadap lakmus P, dan 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 : Kapsul kloramfenikol mengandung kloramfenikol tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 120,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

Penyimpanan : Dalam wadah tertutup rapat dan disimpan ditempat sejuk dan kering.

## 2.11 Hipotesis

Hipotesis adalah jawaban sementara penelitian, patokan duga, atau dalil sementara yang kebenarannya akan dibuktikan dalam penelitian dan pembuktian

dapat dilakukan melalui hasil penelitian sehingga dapat disimpulkan hipotesis benar atau salah dan dapat diterima atau ditolak (Widia, 2017).

- 2.11.1** H<sub>a</sub>: Terdapat aktivitas antibakteri pada fraksi *aquadestilata*, n-heksan, dan etil asetat daun rambutan (*Nephelium lappaceum L.*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara *in vitro*.
- 2.11.2** H<sub>0</sub>: Tidak terdapat aktivitas antibakteri pada fraksi *aquadestilata*, n-heksan, dan etil asetat daun rambutan (*Nephelium lappaceum L.*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara *in vitro*.
- 2.11.3** H<sub>a</sub>: Terdapat fraksi yang memiliki zona hambat kuat sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yaitu fraksi etil asetat (semi polar).
- 2.11.4** H<sub>0</sub>: Tidak terdapat fraksi yang memiliki zona hambat kuat sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yaitu fraksi etil asetat (semi polar).

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Bahan dan Alat**

##### **3.1.1 Bahan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah serbuk daun rambutan (*Nephelium Lappaceum L.*) sebanyak 500 g, pelarut etanol 70%, asam asetat glasial, asam sulfat pekat ( $H_2SO_4$ ), kalium dikromat ( $K_2Cr_2O_7$ ), larutan *ferri klorida* ( $FeCl_3$  1%), magnesium (Mg), asam klorida (HCl pekat), *aquadestilata*, n-heksan, etil asetat, kristal violet, lugol, safranin, *Manitol Salt Agar* (MSA),  $H_2O_2$  3%, *Nutrient Agar* (NA), *Nutrient Broth* (NB), *Dimethylsulfoxide* (DMSO) 5%, antibiotik kloramfenikol 500 mg, bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diperoleh dari laboratorium mikrobiologi klinik Balai Besar Laboratorium Kesehatan (BBLK) Surabaya, dan NaCl 0,9%.

##### **3.1.2 Alat**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah baki, blender, ayakan mesh 80, timbangan digital, bejana maserasi, gelas ukur, batang pengaduk, sudip, aluminium foil, plastik, karet gelang, gelas beker, corong kaca, kertas saring, penjepit, kain lap, oven, cawan porselen, spatula sendok stainless, tabung reaksi beserta raknya, pipet tetes, *hot plate*, kapas, corong pisah, autoklaf (GEA YX2808), erlenmayer, cawan petri, Ose, bunsen, pematik, tali, plastik *wrapping*, inkubator (model DNP *Electro Thermal Incubator*), *Laminar Air Flow* (LAF), kertas cakram, mikropipet, pinset steril, penggaris, gunting, dan *stopwatch*.

#### **3.2 Populasi Penelitian**

Populasi dalam penelitian ini adalah daun rambutan yang terdapat di UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Batu, Kota Batu, Jawa Timur.

#### **3.3 Sampel Penelitian**

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun rambutan sebanyak 500 g yang diperoleh dari UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Batu, Kota Batu, Jawa Timur.

### **3.4 Definisi Operasional**

3.4.1 Daun rambutan (*Nephelium lappaceum L.*) adalah daun dari tanaman rambutan (*Nephelium lappaceum L.*) yang diambil dari UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Batu, Kota Batu, Jawa Timur.

3.4.2 Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 merupakan bakteri Gram positif yang diperoleh dari laboratorium mikrobiologi klinik Balai Besar Laboratorium Kesehatan (BBLK) Surabaya.

### **3.5 Variabel Penelitian**

#### **3.5.1 Variabel bebas**

Variabel bebas merupakan variabel yang sengaja diubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung (Andhini, 2017). Variabel bebas yang digunakan dalam penelitian ini adalah variasi fraksi *aquadestilata*, etil asetat, dan n-heksan dari daun rambutan.

#### **3.5.2 Variabel terikat**

Variabel terikat atau bisa disebut juga variabel dependen merupakan variabel yang dipengaruhi atau yang menjadi akibat karena adanya variabel bebas (Ridha, 2017). Variabel terikat yang digunakan dalam penelitian ini adalah daya hambat fraksi *aquadestilata*, etil asetat, dan n-heksan daun rambutan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

### **3.6 Cara Penelitian**

#### **3.6.1 Determinasi tanaman**

Sampel tanaman daun rambutan (*Nephelium Lappaceum L.*) diidentifikasi di UPT Materia Medica Batu, Kota Batu, Jawa Timur. Tujuan dari determinasi sendiri untuk mengetahui dan memastikan kebenaran identitas tanaman yang akan digunakan dalam penelitian (Saputri and Susiani, 2018).

#### **3.6.2 Pembuatan simplisia**

Sampel daun rambutan (*Nephelium lappaceum L.*) mengumpulkan dan memetik secara langsung dengan mengambil daun tua atau muda secara acak yang sehat dan tidak berjamur, kemudian menyortasi basah lalu menimbanginya (Ilham,

2010). Selanjutnya melakukan pencucian pada daun rambutan sebanyak tiga kali dengan air bersih yang mengalir. Pencucian satu kali dapat menghilangkan 25% dari jumlah mikroba awal dan jika melakukan pencucian sebanyak tiga kali maka jumlah mikroba yang tertinggal hanya 42% dari jumlah mikroba awal (Rahmah, 2019). Proses selanjutnya melakukan pemotongan menggunakan pisau atau alat perajang khusus, lalu mengeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 70°C sampai kering kemudian melakukan sortasi kering.

Tahap berikutnya menghaluskan simplisia yang telah kering menggunakan blender dan mengayak dengan ayakan mesh 80 sehingga memperoleh serbuk halus daun rambutan. Pada proses pengayakan digunakan untuk memudahkan proses ekstraksi dimana semakin kecil ukuran serbuk, maka serbuk yang diperoleh akan semakin halus sehingga semakin besar luas permukaan serbuk yang akan mengalami kontak dengan pelarut sehingga pelarut akan semakin mudah menarik senyawa aktif yang terkandung, begitu juga sebaliknya apabila semakin besar ukuran serbuk, sehingga permukaan yang mengalami kontak dengan pelarut akan semakin kecil jadi senyawa aktif didalam sel yang tertarik akan sedikit (Aji, 2018). Penyimpanan simplisia dalam wadah tertutup baik, menyimpan pada suhu kamar, pada tempat yang kering, dan terlindung dari sinar matahari (Chandradinata, 2011).

### **3.6.3 Uji kadar air serbuk simplisia**

Kadar air merupakan parameter non spesifik untuk menentukan suatu residu air setelah proses pengeringan (Utami *et al.*, 2017). Pada uji kadar air serbuk melakukan dengan memasukkan kurang lebih 10 g serbuk simplisia dan menimbang seksama dalam wadah yang sudah ditara, lalu mengeringkan simplisia pada suhu 105°C selama 5 jam. Kadar air pada simplisia tidak lebih dari 10% (Huda *et al.*, 2019). Persentase kadar air serbuk simplisia dapat dihitung menggunakan rumus sebagai berikut (Pongajow *et al.*, 2015):

$$\% \text{ Kadar air} = \frac{\text{bobot awal} - \text{bobot akhir}}{\text{bobot awal}} \times 100\% \text{ (Pongajow } et al., 2015).$$

Suatu kadar air pada serbuk simplisia mempunyai persyaratan yaitu kurang dari 10% (Badan POM RI, 2014). Apabila kadar air terlalu tinggi (>10%) akan

memudahkan tumbuhnya mikroba yang akan merusak dan mempengaruhi kualitas serbuk simplisia (Hermawan *et al.*, 2016).

#### 3.6.4 Pembuatan ekstrak etanol daun rambutan

Perbandingan antara bahan dengan pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi ialah 1:7,5 (Mandhaki, 2020). Pada pembuatan ekstrak etanol daun rambutan melakukan penimbangan serbuk dengan berat 500 g kemudian memasukkan ke dalam bejana maserasi. Menambahkan serbuk dengan pelarut etanol 70% sebanyak 3,750 ml selama 5 hari (Padmasari *et al.*, 2013). Lalu mengaduk sampai homogen dan menyimpan pada ruangan yang terlindung dari sinar matahari (Susanty and Bachmid, 2016). Selama proses perendaman sehari melakukan 3 kali penggojokkan atau pengadukan selama 15 menit, selanjutnya menyaring filtrat menggunakan kain rangkap dua dan melanjutkan penyaringan dengan kertas saring (Huda *et al.*, 2019). Proses selanjutnya melakukan remaserasi pada semua ampas menggunakan larutan penyari yang baru yaitu dengan etanol 70% sebanyak 3,750 ml atau sampai terendam, perendaman selama 5 hari sambil melakukan pengadukan (Ayuningtyas *et al.*, 2017). Kemudian memisahkan kembali filtrat dengan kain rangkap dua dan melanjutkan penyaringan dengan kertas saring (Christianty *et al.*, 2020). Filtrat hasil saringan digabungkan lalu melakukan penguapan menggunakan oven pada suhu 70°C untuk menghasilkan ekstrak (Dewi, 2020).

Chairunnisa *et al.* (2019) menyatakan bahwa ekstraksi bersuhu tinggi 80°C kadar saponin cenderung mengalami penurunan yakni sebanyak 86 mg/g daripada ekstraksi dengan suhu dibawah 80°C yang menghasilkan kadar saponin dari notoginseng lebih tinggi yaitu 125mg/g. Persentase rendemen ekstrak dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut (Syamsul *et al.*, 2020):

$$\% \text{ Rendemen ekstrak} = \frac{\text{bobot ekstrak yang diperoleh}}{\text{bobot awal serbuk simplisia}} \times 100\% \text{ (Syamsul } et al., 2020).$$

Rendemen ialah perbandingan antara ekstrak yang dihasilkan dengan simplisia awal dan menggunakan satuan persen (%), semakin tinggi nilai rendemen yang

dihasilkan membuktikan bahwa nilai ekstrak yang dihasilkan semakin banyak (Syamsul *et al.*, 2020). Tetapi, kualitas ekstrak yang dihasilkan berbanding terbalik dengan jumlah rendemen yang dihasilkan, semakin tinggi nilai rendemen yang dihasilkan maka semakin rendah mutu yang dihasilkan (Yasi and Harsanti, 2018).

### **3.6.5 Uji bebas etanol ekstrak**

Pengujian bebas etanol ekstrak melakukan pada tabung reaksi dengan cara 2 tetes asam sulfat pekat ( $H_2SO_4$ ) dan 1 ml kalium dikromat ( $K_2Cr_2O_7$ ), lalu menambahkan ke sejumlah ekstrak (Ikhsanudin and Mardhiyah, 2017). Jika terjadi perubahan warna jingga menjadi hijau kebiruan maka sampel positif mengandung etanol (Mauti *et al.*, 2018). Perubahan warna ini terjadi karena setelah penambahan  $H_2SO_4$  pekat dengan tujuan membuat kondisi menjadi asam dengan kalium dikromat yang awalnya berwarna jingga setelah bereaksi, larutan yang mengandung etanol akan berubah menjadi warna hijau kebiruan dikarenakan ion dikromat yang berwarna jingga telah tereduksi menjadi ion kromium yang berwarna hijau (Ramadhani *et al.*, 2020).

### **3.6.6 Fraksinasi**

#### **3.6.6.1 Fraksinasi n-heksan daun rambutan**

Pada ekstrak etanol daun rambutan melakukan proses fraksinasi dengan menimbang ekstrak sebanyak 5 g, melarutkan dalam *aquadestilata* sebanyak 75 ml. Kemudian memasukkan larutan sampel ke dalam corong pisah dan menambahkan pelarut n-heksan sebanyak 25 ml dengan melakukan penggojokkan serta beberapa kali melakukan pembukaan tutup pada corong untuk mengeluarkan udara. Selanjutnya melakukan pendiaman beberapa menit sampai terjadi pemisahan, lalu fraksi n-heksan dipisahkan, menampung hasil fraksi, dan melakukan pengulangan 3 kali (Huda *et al.*, 2019).

#### **3.6.6.2 Fraksinasi etil asetat daun rambutan**

Fraksinasi etil asetat daun rambutan dengan residu n-heksan melakukan fraksinasi kembali dengan menambahkan etil asetat 25 ml, melakukan penggojokkan dengan beberapa kali dengan dilakukan pembukaan tutup pada corong untuk mengeluarkan udara. Selanjutnya melakukan pendiaman beberapa menit sampai terjadi pemisahan. Fraksi dipisahkan antara fraksi *aquadestilata*

dengan fraksi etil asetat, menampung hasil fraksi, melakukan pengulangan 3 kali, serta melakukan pemisahan pada fraksi etil asetat dan fraksi *aquadestilata* (Huda *et al.*, 2019).

### **3.6.6.3 Fraksinasi *aquadestilata* daun rambutan**

Proses selanjutnya membuat fraksi *aquadestilata* dengan menggunakan residu etil asetat dan mendapatkan fraksi *aquadestilata*, kemudian memperoleh semua hasil fraksi dan melakukan penguapan menggunakan oven pada suhu 70°C sampai memperoleh fraksi yang kental dan melakukan skrining fitokimia pada fraksi (Huda *et al.*, 2019).

## **3.6.7 Skrining fitokimia**

### **3.6.7.1 Identifikasi flavonoid**

Mengambil fraksi *aquadestilata*, etil asetat, dan n-heksan sebanyak 0,5 g mencampur dengan 3 ml etanol 70% lalu mengocok, memanaskan kemudian mengocok lagi, selanjutnya menyaringnya, memperoleh filtrat, lalu menambahkan Mg 0,1 g dan 2 tetes HCl pekat, hasil positif menunjukkan adanya senyawa flavonoid dengan terbentuknya warna merah, orange, dan kehijauan (Huda *et al.*, 2019). Perubahan warna yang terjadi disebabkan dengan adanya reduksi dalam flavonoid oleh Mg dan HCl pekat (Fajriaty *et al.*, 2018).

### **3.6.7.2 Identifikasi saponin**

Mengambil fraksi *aquadestilata*, etil asetat, dan n-heksan sebanyak 0,5 g, lalu mendidihkan dan mencampur dengan 10 ml *aquadestilata* dalam penangas air, mengocok filtrat dan mendinginkan selama 15 menit, hasil positif menunjukkan adanya senyawa saponin yaitu pada terbentuknya busa yang stabil (Huda *et al.*, 2019). Terbentuk suatu busa karena adanya glikosida yang mempunyai kemampuan membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lain (Hartati *et al.*, 2019).

### **3.6.7.3 Identifikasi tanin**

Mengambil fraksi *aquadestilata*, etil asetat, dan n-heksan sebanyak 2 g lalu menambahkan etanol sampai terendam semua, kemudian memindahkan 1 ml larutan sampel pada tabung reaksi dengan menambahkan 2 sampai 3 tetes larutan FeCl<sub>3</sub> 1%, hasil positif adanya senyawa tanin ialah terbentuknya warna hitam

kebiruan atau hijau (Huda *et al.*, 2019). Terbentuknya warna ini disebabkan karena setelah penambahan  $\text{FeCl}_3$  tanin akan bereaksi dengan ion  $\text{Fe}^{3+}$  membentuk senyawa kompleks (Hartati *et al.*, 2019).

### **3.6.8 Pembuatan media**

#### **3.6.8.1 Sterilisasi alat dan bahan**

Sterilisasi merupakan suatu proses menghilangkan semua organisme seperti jamur, bakteri, virus, dan protozoa yang mengontaminasi benda (Saputera *et al.*, 2018). Sterilisasi alat dan bahan dilakukan dengan cara menggunakan uap jenuh bertekanan dalam suatu alat yang disebut autoklaf bersuhu  $121^\circ\text{C}$  selama 15 menit. Sterilisasi larutan uji dan media dilakukan memakai erlenmeyer yang tertutup dengan kapas dan dibungkus dengan aluminium foil (Delfiyanti, 2016).

#### **3.6.8.2 Pembuatan media *Nutrient Agar* (NA)**

Pembuatan media *Nutrient Agar* (NA) dilakukan dengan menimbang sebanyak 0,3 g serbuk *Nutrient Agar* (NA) dimasukkan ke dalam erlenmeyer, kemudian menambahkan *aquadestilata* 15 ml dan dipanaskan sampai semua larut dan mendidih. Selanjutnya mensterilkan media agar dengan autoklaf pada suhu  $121^\circ\text{C}$  selama 15 menit, media agar yang sudah siap lalu dituangkan ke cawan petri dan membiarkan memadat sempurna pada suhu ruang (Juariyah and Sari, 2018). Cawan petri terdiri dari berbagai ukuran diameter, cawan petri dengan diameter 15 cm dapat menampung media sebanyak 15 sampai 20 ml sedangkan pada cawan petri yang berdiameter 9 cm dapat menampung media sebanyak 10 ml (Yunilas and Yusni, 2017).

#### **3.6.8.3 Pembuatan media *Nutrient Broth* (NB)**

Pembuatan media *Nutrient Broth* (NB) dengan menimbang serbuk *Nutrient Broth* (NB) sebanyak 0,08 g melarutkan dalam 10 ml *aquadestilata* dan dipanaskan sampai semua larut dan mendidih, selanjutnya mensterilkan dengan autoklaf pada suhu  $121^\circ\text{C}$  selama 15 menit. Proses selanjutnya menuangkan media ke dalam tabung reaksi dan didinginkan (Pratiwi, 2015).

#### **3.6.8.4 Pembuatan media *Manitol Salt Agar* (MSA)**

Pembuatan Media *Manitol Salt Agar* (MSA) dengan menimbang serbuk MSA sebanyak 1,08 g, lalu melarutkan dengan *aquadestilata* sebanyak 10 ml

sampai larut dan memanaskan sampai mendidih. Selanjutnya mensterilkan media dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Media siap dituangkan ke dalam cawan petri dan dibiarkan sampai mengeras (Suhartati, Sulistiani and Nuraini, 2018).

### **3.6.9 Pembuatan larutan uji**

#### **3.6.9.1 Pembuatan larutan uji orientasi ekstrak daun rambutan**

Pembuatan larutan uji orientasi ekstrak daun rambutan dengan mengencerkan ekstrak menggunakan DMSO 5% dengan volume masing-masing 10 ml. Konsentrasi ekstrak yang digunakan yaitu 5%, 10%, dan 15%. Konsentrasi 5% dibuat dengan menimbang ekstrak 0,5 g melarutkan ke dalam 10 ml DMSO 5%, konsentrasi 10% dengan menimbang 1 g ekstrak lalu melarutkan ke dalam 10 ml DMSO 5%, dan konsentrasi 15% dengan menimbang 1,5 g ekstrak yang dilarutkan ke dalam 10 ml DMSO 5%.

#### **3.6.9.2 Pembuatan larutan uji fraksi daun rambutan**

Pembuatan larutan uji masing-masing fraksi daun rambutan dibuat dengan konsentrasi 10% dengan mengencerkan fraksi menggunakan DMSO 5% pada volume masing-masing fraksi 10 ml. Larutan uji fraksi *aquadestilata* 10% dibuat dengan menimbang fraksi *aquadestilata* 1 g lalu melarutkan ke dalam 10 ml DMSO 5%, larutan uji fraksi etil asetat 10% dibuat dengan menimbang fraksi etil asetat 1 g lalu melarutkan ke dalam 10 ml DMSO 5%, dan larutan uji fraksi n-heksan 10% dibuat dengan menimbang fraksi n-heksan 1 g lalu melarutkan ke dalam 10 ml DMSO 5%.

#### **3.6.9.3 Pembuatan larutan kontrol positif**

Pembuatan larutan kontrol positif yang digunakan pada penelitian ini adalah antibiotik kloramfenikol 500 mg. Pembuatan larutan kontrol positif dengan mengambil dan membuka 1 kapsul kloramfenikol 500 mg dan menimbang serbuk 1% dari bobot 1 kapsul kloramfenikol 500 mg yaitu 5 mg selanjutnya melarutkan dengan 100 ml DMSO 5%. Pada penelitian Agustiyanti (2018) kloramfenikol sebagai kontrol positif termasuk kategori sensitif dalam menghambat pertumbuhan bakteri dengan zona hambat 22 mm setelah 24 jam waktu pengamatan.

#### **3.6.9.4 Pembuatan larutan kontrol negatif**

Pembuatan larutan kontrol negatif yang digunakan pada penelitian ini adalah DMSO 5%. Pembuatan DMSO 5% dengan cara melarutkan DMSO sebanyak 5 ml di *add* kan sampai 100 ml dengan *aquadestilata*. *Dimetilsulfoxide* (DMSO) digunakan sebagai kontrol negatif karena untuk membuktikan bahwa pelarut ini tidak mempunyai aktivitas antibakteri terhadap larutan uji. *Dimetilsulfoxide* (DMSO) mempunyai aktivitas antibakteri pada konsentrasi diatas 5% dan pada konsentrasi 2% tidak efektif (Suryaku, 2017).

#### **3.6.10 Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

##### **3.6.10.1 Uji pewarnaan Gram**

Pada kelompok bakteri Gram positif akan mempertahankan zat warna ungu kristal dan tampak berwarna ungu, warna ungu disebabkan karena bakteri mempertahankan warna pertama yaitu gentian violet. Sedangkan pada kelompok bakteri Gram negatif akan terjadi kehilangan warna ungu kristal ketika dicuci dengan alkohol, dan akan tampak berwarna merah (Nasirudin, 2018).

Pengecatan Gram merupakan salah satu pewarnaan yang paling sering digunakan dan dikembangkan oleh Christian Gram. Prosesnya dengan membuat preparat apus bakteri dengan cara, satu Ose biakan bakteri diteteskan pada gelas obyek, kemudian membuat apus setipis mungkin, mengeringkan, dan memfiksasi diatas lampu spiritus, menetes preparat apus dengan pewarna pertama yaitu kristal violet selama 2 menit, membuang warna, menetes lugol selama 1 menit, kemudian melunturkan preparat apus dengan alkohol 95% selama 1 menit, membuang alkohol, selanjutnya mencuci preparat dengan *aquadestilata* dan pemberian warna kontras dengan larutan safranin selama 2 menit, membuang warna dan membersihkan dengan *aquadestilata*, mengeringkan dan mengamati morfologi sel (Nasirudin, 2018). Kemudian dilakukan pengamatan warnanya dibawah mikroskop dengan perbesaran 100x10 (Agustin *et al.*, 2018).

##### **3.6.10.2 Uji *Mannitol Salt Agar* (MSA)**

Suspensi *Staphylococcus aureus* diinokulasi pada permukaan media MSA, kemudian menginkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, koloni bakteri yang tumbuh berwarna kuning dengan zona kuning pada media MSA diduga sebagai

*Staphylococcus aureus* (Darmawi *et al.*, 2019). Zona kuning ini menunjukkan adanya fermentasi *mannitol* yaitu asam yang dihasilkan menyebabkan perubahan *phenol red* pada media yang berubah dari warna merah menjadi berwarna kuning (Dewi, 2013).

#### **3.6.11 Pembuatan suspensi bakteri**

Pembuatan suspensi bakteri dengan mengambil biakan bakteri satu Ose menggunakan Ose steril, mensuspensikan pada tabung yang berisi 5 ml *Nutrient Broth* (NB) dan menginkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C (Nuria *et al.*, 2010). Setelah menjadi suspensi, lalu mengencerkan dengan larutan garam fisiologis (NaCl 0,9%) steril sampai kekeruhannya setara dengan larutan standar Mc. Farland 0,5 (biakan cair yang memiliki populasi  $1 \times 10^7$  CFU/ml sampai  $1 \times 10^8$  CFU/ml) (Kursia *et al.*, 2016).

#### **3.6.12 Peremajaan bakteri uji**

Peremajaan bakteri uji digunakan untuk merawat bakteri agar tetap dalam kondisi baik. Media yang digunakan adalah *Nutrient Agar* (NA) sebanyak 5 ml, memasukkan ke dalam tabung reaksi. Caranya dengan mengambil satu koloni biakan murni *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menggunakan Ose steril dari kultur murninya, kemudian menanamkan dengan menggoreskan Ose pada masing-masing media agar miring yang sudah memadat dan melakukan semua proses di lemari *Laminar Air Flow* (LAF) (Izudin *et al.*, 2020). Proses selanjutnya menginkubasi biakan bakteri uji selama 24 jam dengan suhu 37°C (Kursia *et al.*, 2016). Mc. Farland (biakan cair yang mempunyai kekeruhan setara dengan 0,5 Mc. Farland mempunyai jumlah populasi terbanyak  $1,5 \times 10^8$  *Colony Forming Unit* (CFU)/mL) (Rosmania and Yanti, 2020).

#### **3.6.13 Pengujian aktivitas antibakteri fraksi daun rambutan**

Pada prosedur aktivitas antibakteri fraksi daun rambutan dilakukan menggunakan metode difusi cakram. Pengujiannya dengan menyiapkan media yang sudah diinkubasi dengan bakteri. Fraksi *aquadestilata*, n-heksan, dan etil asetat daun rambutan dengan seri konsentrasi 10% menambahkan pada masing-masing kertas cakram steril dengan jumlah 20  $\mu$ L menggunakan mikro pipet. Kertas cakram steril yang sudah diresapi dengan fraksi daun rambutan diletakkan pada

permukaan media dengan pinset steril dan ditekan perlahan kebawah untuk memastikan kontak antara kertas cakram dengan permukaan media. Kontrol positif digunakan adalah kloramfenikol sedangkan pada kontrol negatif dengan menggunakan *Dimethylsulfoxide* (DMSO) 5%. Cawan petri kemudian dilakukan proses inkubasi dengan waktu 24 jam pada suhu 37°C. Diamati dan diukur diameter zona hambatnya (Maradona, 2013).

#### **3.6.14 Penentuan zona hambat**

Pengukuran zona hambat yang terbentuk diukur diameternya menggunakan alat ukur yaitu mistar berskala dan diperoleh diameter (mm) daerah hambat pertumbuhan bakteri termasuk pada diameter kertas cakram. Dilakukan pengukuran dengan pengulangan 3 kali dari daerah yang berbeda untuk menunjukkan hasil yang akurat (Hidayati *et al.*, 2021)

### **3.7 Analisis Hasil**

Data hasil penelitian aktivitas antibakteri fraksi *aquadestilata*, etil asetat, dan n-heksan daun rambutan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dianalisis menggunakan program komputer *software* SPSS (*Statistical Product and Service Solution*) versi 25. Data penelitian yang diperoleh dilakukan uji statistik berupa uji *One Way Anova*, sebelum dilakukan uji tersebut maka harus dilakukan uji homogenitas dan uji normalitas untuk memastikan data berdistribusi normal (Trisia *et al.*, 2018). Pengolahan datanya dapat dilakukan sebagai berikut:

#### **a. Uji normalitas data**

Uji normalitas adalah uji yang dilakukan untuk memastikan data terdistribusi normal, jadi dapat digunakan dalam statistik parametrik. Pada penelitian ini digunakan uji *Shapiro-Wilk* sebagai uji normalitas data (Mauti *et al.*, 2018).

Perumusan hipotesis:

H<sub>0</sub>: data terdistribusi normal

H<sub>1</sub>: data terdistribusi tidak normal

Pengambilan keputusan:

1) Jika  $p > 0,05$ ; maka H<sub>0</sub> diterima

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

**b. Uji *Kruskal-Wallis***

Uji *Kruskal-Wallis* merupakan sebuah uji yang bertujuan untuk menentukan adanya perbedaan yang signifikan antara dua atau lebih kelompok perlakuan terhadap zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (Febrianasari, 2018).

Perumusan hipotesis:

$H_0$ : Tidak ada perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan terhadap zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

$H_1$ : Ada perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan terhadap zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Pengambilan keputusan:

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

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

**c. Uji *Mann-Whitney***

Uji *Mann-Whitney* digunakan bertujuan untuk menguji signifikansi hipotesis antar dua sampel atau lebih (Sriwidadi, 2011).

Perumusan hipotesis:

$H_0$ : tidak ada perbedaan bermakna

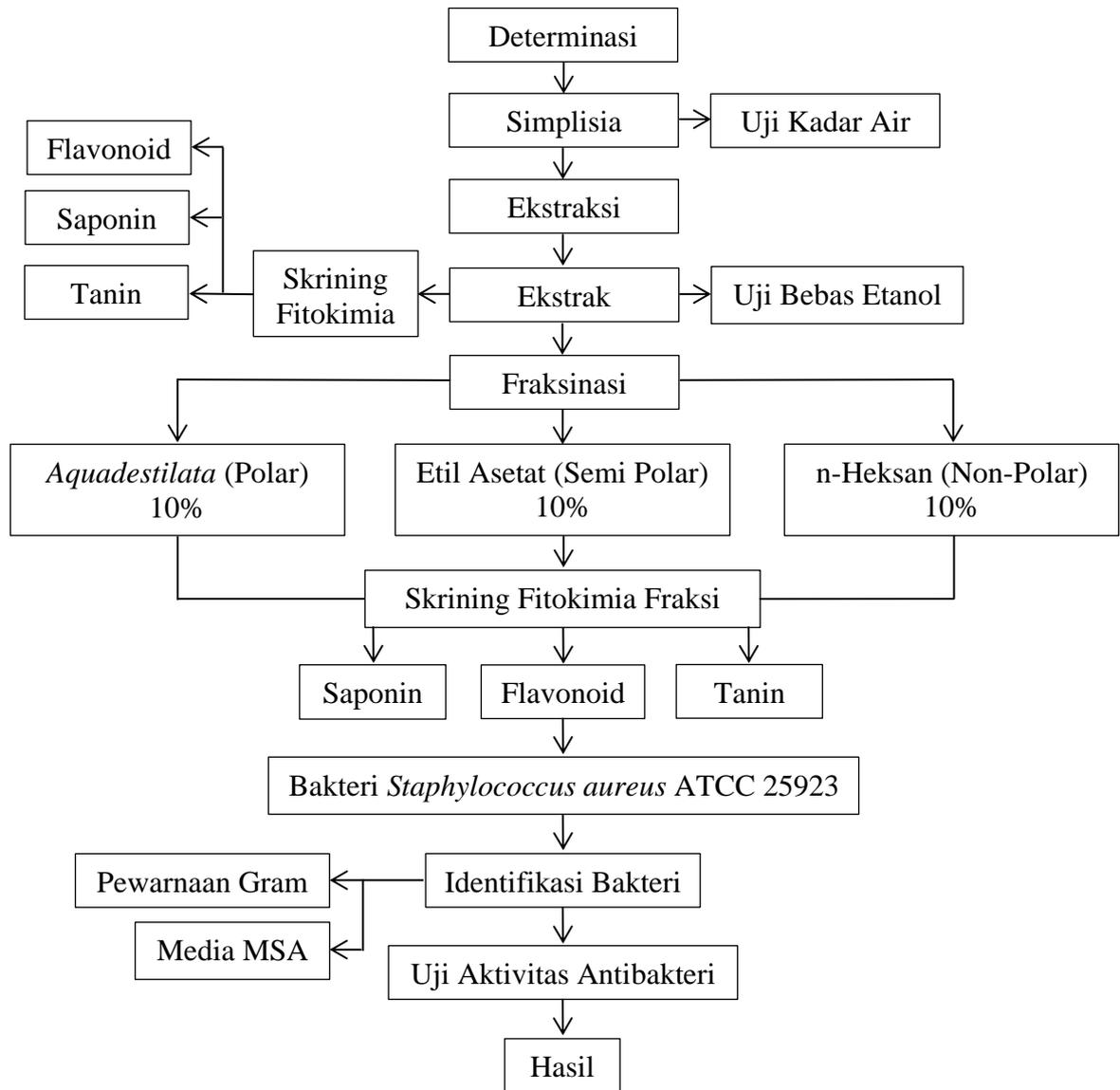
$H_1$ : ada perbedaan bermakna

Pengambilan keputusan:

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

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

### 3.8 Kerangka Penelitian



**Gambar 3.1** Rancangan Penelitian

## BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan untuk mengetahui dan memastikan kebenaran identitas tanaman yang akan digunakan dalam penelitian (Saputri and Susiani, 2018). Tanaman yang digunakan yaitu tanaman rambutan yang telah diidentifikasi di UPT Materia Medica Batu, Kota Batu, Jawa Timur. Hasil determinasi menunjukkan bahwa sampel tanaman rambutan (*Nephelium lappaceum L.*) mempunyai kunci determinasi sebagai berikut 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14a-15b-197b-208b-219b-220b-224b-225b-227b-229b-230a-231a-232a-1b-5a-1b. Hasil determinasi tanaman rambutan (*Nephelium lappaceum L.*) dapat dilihat pada lampiran 1.

### 4.2 Uji Kadar Air Serbuk Simplisia

Pengujian kadar air serbuk simplisia ialah suatu parameter untuk menentukan residu air setelah melalui proses pengeringan (Utami *et al.*, 2017). Suatu kadar air pada serbuk simplisia mempunyai persyaratan yaitu kurang dari 10% (Badan POM RI, 2014).

**Tabel 4.1** Hasil uji kadar air serbuk simplisia daun rambutan

Sampel	Bobot Awal	Bobot Akhir	Hasil
Daun Rambutan ( <i>Nephelium lappaceum L.</i> )	10 g	9,16 g	8,4%

$$\text{Rumus \% Kadar air} = \frac{\text{bobot awal} - \text{bobot akhir}}{\text{bobot awal}} \times 100\% \text{ (Pongajow } et al., 2015).$$

Hasil uji kadar air serbuk simplisia daun rambutan sebesar 8,4% yang berarti <10%. Hasil ini menunjukkan bahwa simplisia yang telah digunakan sudah memenuhi persyaratan uji kadar air yang ditetapkan. Jika kadar air dalam simplisia lebih dari 10% hal ini akan mempercepat pertumbuhan mikroorganisme sehingga terjadi pembusukan, dimana air merupakan salah satu media yang baik untuk

pertumbuhan mikroorganisme sehingga dapat mengakibatkan turunnya kualitas simplisia (Sugiarti and Setyawati, 2017).

### 4.3 Ekstraksi Daun Rambutan

Proses ekstraksi bertujuan untuk menarik semua zat aktif dan komponen kimia yang terdapat dalam simplisia (Pratiwi, 2014). Pada ekstraksi daun rambutan menggunakan metode dengan cara dingin yaitu metode maserasi dan dilanjutkan dengan remaserasi, tujuan dari teknik kombinasi ini untuk pengoptimalan penyarian senyawa metabolit sekunder yang ada pada simplisia daun rambutan. Metode ini dipilih karena mempunyai prosedur dan alat yang sederhana dan tidak menggunakan pemanasan jadi bahan alamnya menjadi tidak terurai (Pratiwi, 2019).

Proses ekstraksi ini menggunakan pelarut etanol 70%, karena efektif dalam menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal sebab maserasi dari bahan kering memerlukan pembasahan terhadap simplisia sehingga lebih optimal dibandingkan etanol 96% karena mengandung komponen air yang lebih banyak (Aldina, 2015). Kemudian dilakukan proses pemekatan dan perhitungan persentase rendemen untuk mengetahui perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan bahan yang diekstrak (Dwicahyani *et al.*, 2018). Hasil persentase rendemen ekstrak daun rambutan dapat dilihat pada Tabel 4.2.

**Tabel 4.2** Hasil rendemen ekstrak daun rambutan

Sampel	Bobot Simplisia	Bobot Ekstrak	Hasil
Daun Rambutan ( <i>Nephelium lappaceum L.</i> )	500 g	38 g	7,6%

$$\text{Rumus \% rendemen ekstrak} = \frac{\text{bobot ekstrak yang diperoleh}}{\text{bobot awal serbuk simplisia}} \times 100\% \text{ (Syamsul } et al., 2020).$$

Hasil rendemen pada Tabel 4.2 menunjukkan bahwa rendemen ekstrak daun rambutan yaitu sebesar 7,6%. Hasil ini menunjukkan bahwa nilai rendemen ekstrak daun rambutan mempunyai kualitas ekstrak yang baik. Hasil penelitian Sulistiyaningsih *et al.* (2017) menunjukkan bahwa rendemen ekstrak etanol daun

rambutan sebesar 23,39%. Pada hasil rendemen penelitian ini diperoleh hasil kecil daripada penelitian sebelumnya, hal ini dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu jenis pelarut, konsentrasi pelarut, ukuran partikel simplisia, dan lamanya waktu ekstraksi (Susanty and Bachmid, 2016). Semakin tinggi nilai rendemen yang dihasilkan membuktikan bahwa nilai ekstrak yang dihasilkan semakin banyak (Syamsul *et al.*, 2020). Tetapi, kualitas ekstrak yang dihasilkan berbanding terbalik dengan jumlah rendemen yang dihasilkan, semakin tinggi nilai rendemen yang dihasilkan maka semakin rendah mutu yang dihasilkan (Yasi and Harsanti, 2018).

#### 4.4 Fraksinasi Daun Rambutan

Proses fraksinasi daun rambutan menggunakan metode partisi cair-cair dengan pelarut n-heksan, etil asetat, dan *aquadestilata*. Pelarut n-heksan sebagai pelarut non polar, etil asetat sebagai pelarut semi polar, dan *aquadestilata* sebagai pelarut polar, maka senyawa non polar akan terekstraksi pada pelarut n-heksana, senyawa semi polar akan terekstraksi pada pelarut etil asetat, dan senyawa polar akan terekstraksi pada pelarut *aquadestilata*. Tujuan dilakukan proses fraksinasi ialah untuk memisahkan golongan senyawa berdasarkan perbedaan polaritasnya (Suryaku, 2017). Hasil fraksinasi daun rambutan dapat dilihat pada Tabel 4.3.

**Tabel 4.3** Hasil rendemen fraksi daun rambutan

Sampel	Bobot Ekstrak	Bobot Fraksi	Hasil
Fraksi <i>Aquadestilata</i>	5 g	3,16 g	63,2%
Fraksi Etil Asetat	5 g	0,52 g	10,4%
Fraksi n-Heksan	5 g	0,71 g	14,2%

Hasil rendemen pada Tabel 4.3 menunjukkan bahwa rendemen dari masing-masing fraksi daun rambutan yang diperoleh mempunyai nilai yang berbeda, hal ini disebabkan karena adanya perbedaan kemampuan larutan penyari dari masing-masing pelarut yang digunakan dalam proses fraksinansi. Hasil penelitian Alfianingsih (2016) menunjukkan bahwa rendemen fraksi daun rambutan dengan pelarut n-heksan, kloroform, dan etanol memperoleh hasil rendemen secara berturut-turut sebesar 38,19%, 13,12%, dan 46,43%. Dari tabel diatas dapat diketahui bahwa senyawa yang terkandung dalam daun rambutan lebih banyak

mengandung senyawa polar sehingga senyawa tersebut terlarut dalam pelarut polar yaitu *aquadestilata* sebesar 63,2%, nilai rendemen fraksi etil asetat sebesar 10,4%, dan fraksi n-heksan daun rambutan mempunyai nilai rendemen sebesar 14,2%. Hal ini disebabkan karena senyawa yang bersifat semi polar dan non polar jumlahnya lebih sedikit pada daun rambutan. Hasil penelitian Sukowati (2015) menunjukkan bahwa daun rambutan mengandung kadar flavonoid total tertinggi sebesar 9,59 g QE/100 g yang terdapat pada daun rambutan. Senyawa tanin pada daun rambutan merupakan senyawa polifenol yang dapat larut ke dalam air (Alfianingsih, 2016). Selain itu, kekuatan kepolaran antara pelarut yang digunakan untuk fraksinasi yaitu berbeda, sehingga senyawa yang polar akan cenderung larut didalam fraksi *aquadestilata* sedangkan senyawa yang kurang polar akan terlarut dalam pelarut yang lainnya (Handayani, 2019).

#### 4.5 Uji Bebas Etanol Ekstrak

Uji bebas etanol bertujuan untuk memastikan bahwa ekstrak yang dihasilkan terbebas dari etanol, karena pelarut tersebut dapat membunuh bakteri sehingga dikhawatirkan mempengaruhi hasil aktivitas antibakterinya (Sumiati, 2014). Hasil uji bebas etanol ekstrak daun rambutan dapat dilihat pada Tabel 4.4.

**Tabel 4.4** Hasil uji bebas etanol ekstrak daun rambutan

Sampel	Pereaksi	Perubahan Warna	Hasil
Daun Rambutan ( <i>Nephelium lappaceum L.</i> )	Asam sulfat + Kalium dikromat	Tidak terbentuk warna jingga, hijau kebiruan	+

Keterangan: (+) bebas etanol dan (-) tidak bebas etanol

Hasil uji bebas etanol pada Tabel 4.4 menunjukkan bahwa ekstrak daun rambutan sudah bebas dari etanol. Pada perlakuan uji bebas etanol menambahkan asam sulfat pekat ke dalam ekstrak dengan tujuan membuat kondisi menjadi asam dengan kalium dikromat yang awalnya berwarna jingga, setelah bereaksi, larutan yang mengandung etanol akan berubah menjadi warna hijau kebiruan dikarenakan ion dikromat yang berwarna jingga telah tereduksi menjadi ion kromium yang berwarna hijau (Ramadhani *et al.*, 2020). Dari hasil uji yang diperoleh bahwa tidak adanya perubahan warna dari jingga menjadi hijau kebiruan, tetapi ekstrak

berwarna hitam kecoklatan sehingga dapat dinyatakan bahwa ekstrak daun rambutan telah bebas dari etanol.

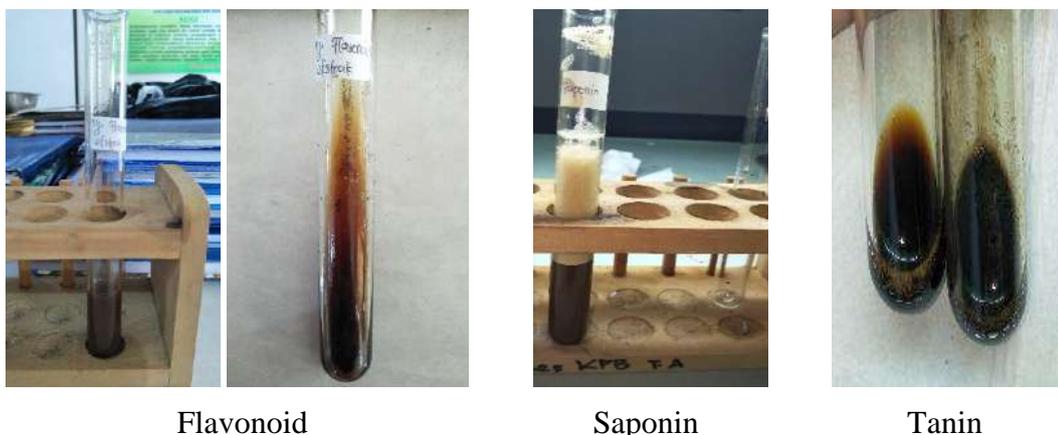
#### 4.6 Skrining Fitokimia Ekstrak dan Fraksi Daun Rambutan

Skrining fitokimia bertujuan untuk mengetahui keberadaan senyawa metabolit sekunder yang ada dalam daun sampel, serta dapat menjadi perlakuan secara kualitatif (Indriyanti *et al.*, 2018). Hasil penelitian Alfianingsih (2016) menunjukkan bahwa fraksi dan ekstrak etanol daun rambutan mempunyai senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, serta steroid dan terpenoid. Terdapat tiga senyawa yang diidentifikasi pada penelitian ekstrak dan fraksi daun rambutan ini yaitu flavonoid, saponin, dan tanin. Hasil skrining fitokimia ekstrak daun rambutan dapat dilihat pada Tabel 4.5 dan hasil skrining fitokimia fraksi daun rambutan dapat dilihat pada Tabel 4.6.

**Tabel 4.5** Hasil skrining fitokimia ekstrak daun rambutan

Golongan Senyawa	Pereaksi	Perubahan Warna	Hasil
Flavonoid	Mg + HCl pekat	Merah kecoklatan	+
Saponin	Ekstrak + <i>Aquadestilata</i>	Busa stabil	+
Tanin	FeCl <sub>3</sub> 1%	Hitam kebiruan	+

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

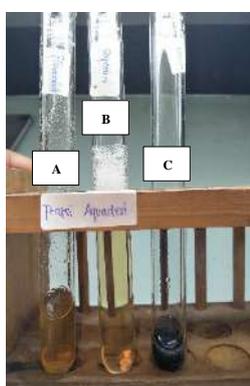


**Gambar 4.1** Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Rambutan

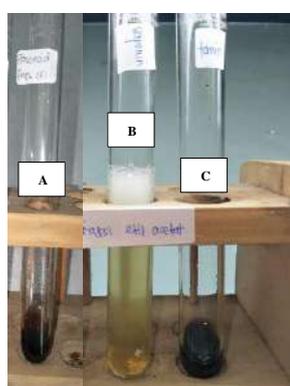
**Tabel 4.6** Hasil skrining fitokimia fraksi daun rambutan

Golongan Senyawa	Perubahan Warna			Hasil		
	<i>Aquadest</i>	Etil asetat	n- Heksan	<i>Aquadest</i>	Etil asetat	n- Heksan
Flavonoid	Orange	Merah kecoklatan	Orange	+	+	+
Saponin	Busa stabil	Busa stabil	Busa stabil	+	+	+
Tanin	Hitam kebiruan	Hitam kebiruan	Hitam kebiruan	+	+	+

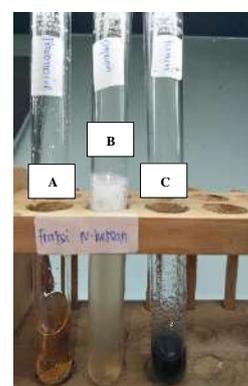
Keterangan: (+) terdapat senyawa dan (-) tidak terdapat senyawa



Fraksi Aquadestilata



Fraksi etil asetat



Fraksi n-heksan

**Gambar 4.2** Skrining Fitokimia Fraksi Daun Rambutan

Keterangan: (a) Flavonoid, (b) Saponin, dan (c) Tanin

Pada uji flavonoid bertujuan untuk mengetahui keberadaan senyawa flavonoid dalam ekstrak dan fraksi daun rambutan. Hasil positif uji flavonoid pada ekstrak dan fraksi daun rambutan berdasarkan tabel dan gambar diatas dengan terbentuknya warna orange, merah hingga merah kecoklatan menunjukkan adanya flavonoid. Hasil penelitian Huda *et al.* (2019) menunjukkan bahwa hasil positif menunjukkan adanya senyawa flavonoid dengan terbentuknya warna merah, orange, dan kehijauan. Perubahan warna yang terjadi ini disebabkan dengan adanya reaksi reduksi dalam flavonoid oleh Mg yang dilakukan dalam suasana asam dengan penambahan HCl pekat (Fajriaty *et al.*, 2018). Hasil penelitian Alfianingsih (2016) menunjukkan bahwa identifikasi senyawa flavonoid fraksi dan ekstrak etanol daun rambutan positif mengandung senyawa flavonoid dengan hasil

pengamatan dengan terbentuknya warna merah, merah kecoklatan, jingga, kuning, hijau jernih, dan terbentuk busa.

Pada uji saponin bertujuan untuk mengetahui keberadaan senyawa saponin dalam ekstrak dan fraksi daun rambutan. Hasil positif uji saponin pada ekstrak dan fraksi daun rambutan berdasarkan tabel dan gambar diatas menunjukkan dengan terbentuknya busa yang stabil. Terbentuknya busa yang stabil berarti positif terdapat senyawa saponin (Huda *et al.*, 2019). Busa yang terbentuk karena adanya glikosida yang mempunyai kemampuan membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lain (Hartati *et al.*, 2019). Hasil penelitian Alfianingsih (2016) menunjukkan bahwa identifikasi senyawa saponin fraksi dan ekstrak etanol daun rambutan positif mengandung senyawa saponin dengan hasil pengamatan coklat, noda berwarna ungu gelap pada saat dilihat dibawah sinar UV, dan ungu menggunakan metode KLT + H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> serta Sinar UV.

Pada uji tanin bertujuan untuk mengetahui keberadaan senyawa tanin dalam ekstrak dan fraksi daun rambutan. Hasil positif uji tanin pada ekstrak dan fraksi daun rambutan berdasarkan tabel dan gambar diatas dengan terbentuknya warna hitam kebiruan. Positif mengandung senyawa tanin ditunjukkan dengan terbentuknya warna hitam kebiruan atau hijau (Huda *et al.*, 2019). Perubahan warna yang terjadi ini disebabkan karena setelah penambahan FeCl<sub>3</sub>, tanin akan bereaksi dengan ion Fe<sup>3+</sup> membentuk senyawa kompleks (Hartati *et al.*, 2019). Uji fitokimia senyawa tanin dengan menggunakan pereaksi FeCl<sub>3</sub> untuk menentukan bahwa sampel mengandung gugus fenol. Terdapatnya gugus fenol ditunjukkan dengan warna hijau kehitaman atau biru tua setelah penambahan FeCl<sub>3</sub>, sehingga apabila uji fitokimia tanin dengan FeCl<sub>3</sub> memberikan hasil positif dimungkinkan pada sampel terdapat senyawa fenol dan dimungkinkan salah satunya ialah tanin (Ergina *et al.*, 2014). Hasil penelitian Alfianingsih (2016) menunjukkan bahwa identifikasi senyawa tanin fraksi dan ekstrak etanol daun rambutan positif mengandung senyawa tanin dengan hasil pengamatan kuning, coklat kehitaman, hitam, dan biru tua.

Berdasarkan Tabel 4.5 hasil skrining fitokimia ekstrak daun rambutan menunjukkan bahwa ekstrak daun rambutan positif mengandung senyawa

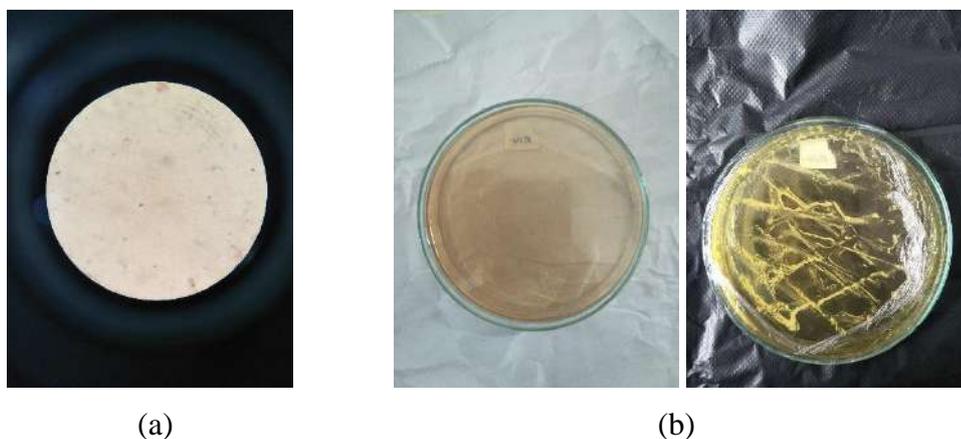
flavonoid, saponin, dan tanin, hal ini diduga sifat senyawa aktif yang terdapat pada daun rambutan yaitu lebih banyak mengandung senyawa polar sehingga senyawa aktif pada daun rambutan menjadi larut dalam larutan penyari. Hasil ini juga didukung oleh penelitian sebelumnya bahwa ekstrak daun rambutan mengandung golongan senyawa flavonoid dengan menggunakan pereaksi yang sama (Alfianingsih, 2016). Selain itu ekstrak daun rambutan juga mengandung golongan senyawa saponin dan tanin dengan menggunakan pereaksi yang sama (Heramuda and Wuryandari, 2018).

Berdasarkan Tabel 4.6 hasil skrining fitokimia fraksi daun rambutan bahwa fraksi *aquadestilata*, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksan positif mengandung senyawa flavonoid, saponin, dan tanin. Hasil penelitian Sukowati (2015) menunjukkan bahwa ekstrak daun rambutan mengandung kadar total fenol yang tinggi salah satunya yaitu senyawa flavonoid. Pada uji saponin penelitian ini mendapatkan hasil bahwa buih yang dihasilkan pada fraksi *aquadestilata* dan fraksi n-heksan adalah sangat stabil, sedangkan fraksi etil asetat buih yang dihasilkan kurang stabil. Busa yang timbul disebabkan karena senyawa saponin mengandung senyawa yang sebagian larut dalam air dan senyawa yang larut dalam pelarut nonpolar sebagai surfaktan yang dapat menurunkan tegangan permukaan (Sulistyarini *et al.*, 2020). Pada hasil penelitian fraksi daun rambutan dapat diketahui bahwa semua fraksi positif mengandung senyawa flavonoid, saponin, dan tanin, hal ini diduga bahwa fraksi daun rambutan lebih banyak mengandung senyawa polar karena hasil rendemen fraksi tertinggi adalah fraksi *aquadestilata* dan hal ini sesuai dengan sifat senyawa aktif yang terdapat pada daun rambutan yang lebih banyak mengandung senyawa polar sehingga senyawa aktif pada daun rambutan relatif larut dalam larutan penyari, sedangkan senyawa aktif yang bersifat semipolar dan nonpolar terdapat dalam jumlah yang lebih kecil karena hasil rendemen fraksi yang dihasilkan dari pelarut etil asetat dan n-heksana lebih rendah. Dari Tabel 4.6 diatas dapat diketahui bahwa hasil skrining fitokimia pada semua fraksi positif mengandung senyawa flavonoid, saponin, dan tanin. Hal ini disebabkan karena pada proses penghomogenan belum sepenuhnya terjadi dua fase dan sudah dialirkan keluar untuk dilakukan pemisahan sehingga proses fraksinasi

kurang maksimal, jadi senyawa aktif yang terkandung didalamnya belum sesuai dengan tingkat kepolaran senyawa (Susantho, 2013).

#### 4.7 Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Identifikasi bakteri bertujuan untuk mengetahui bakteri yang digunakan yaitu bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diperoleh dari laboratorium mikrobiologi Klinik Balai Besar Laboratorium Kesehatan (BBLK) Surabaya. Identifikasi bakteri yang digunakan menggunakan metode uji pewarnaan Gram dan uji *Mannitol Salt Agar* (MSA). Gambar hasil uji identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat dilihat pada Gambar 4.3.



**Gambar 4.3** Hasil Uji Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Keterangan: (a) Uji pewarnaan Gram, (b) Uji *Mannitol Salt Agar* (MSA)

##### 4.7.1 Uji pewarnaan Gram

Uji pewarnaan Gram bertujuan untuk mengamati morfologi sel bakteri dan untuk membedakan antara bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif. Pada Gambar 4.3 (a), memperoleh hasil uji identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 mempunyai morfologi sel bakteri berwarna ungu, berbentuk bulat, dan bergerombol setelah pengamatan dibawah mikroskop. Warna ungu yang dihasilkan dari uji pewarnaan Gram menunjukkan bahwa bakteri tersebut ialah bakteri Gram positif. Warna ungu ini terjadi karena bakteri mempertahankan warna pertama, yaitu kristal violet (cat Gram A). Perbedaan sifat Gram dipengaruhi oleh kandungan pada dinding sel suatu bakteri, pada bakteri Gram positif kandungan

peptidoglikan lebih tebal jika dibanding dengan bakteri Gram negatif (Nasirudin, 2018).

#### **4.7.2 Uji Mannitol Salt Agar (MSA)**

Uji *Mannitol Salt Agar* (MSA) bertujuan untuk mengetahui kemampuan fermentasi *mannitol* pada bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Pada Gambar 4.3 (b), memperoleh hasil uji *Mannitol Salt Agar* (MSA) menunjukkan adanya pertumbuhan koloni berwarna putih kekuningan serta dikelilingi zona kuning. Zona kuning ini menunjukkan adanya fermentasi *mannitol*, yaitu asam yang dihasilkan menyebabkan perubahan *phenol red* pada media yang berubah dari warna merah menjadi berwarna kuning (Dewi, 2013). Produk yang dihasilkan bakteri ini adalah asam organik yang mengubah indikator pH di media MSA, mengubah warna merah pada MSA menjadi kuning cerah. Media MSA mengandung konsentrasi garam NaCl yang tinggi (7,5%-10%) sehingga membuat MSA menjadi media selektif untuk bakteri *Staphylococcus*, karena tingkat NaCl yang tinggi menghambat bakteri yang lainnya tumbuh (Sugireng and Rosdarni, 2020).

#### **4.8 Uji Aktivitas Antibakteri Daun Rambutan**

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan pada ekstrak dan fraksi daun rambutan untuk mengetahui adanya suatu aktivitas antibakteri dari ekstrak dan fraksi daun rambutan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang menggunakan pengujian *in vitro* adalah metode difusi atau metode cakram kertas. *In vitro* merupakan suatu metode uji pada media buatan yang sesuai dengan lingkungan optimal yang diperlukan oleh mikroba untuk tumbuh dan berkembangbiak (Ikrom *et al.*, 2014). Metode ini dipilih karena pengerjaan yang sederhana, mudah, dan cepat karena hanya menggunakan cakram kertas (Jayanti *et al.*, 2017).

Utami (2017) menyatakan bahwa kategori kekuatan daya hambat antibakteri dengan kategori zona hambat 0-5 mm mempunyai kekuatan daya hambat lemah, zona hambat 5-10 mm mempunyai kekuatan daya hambat sedang, zona hambat 10-

20 mm mempunyai kekuatan daya hambat kuat, dan zona hambat >20 mm mempunyai kekuatan daya hambat sangat kuat.

#### 4.8.1 Uji aktivitas antibakteri orientasi ekstrak daun rambutan

Pada pengujian aktivitas antibakteri orientasi ekstrak daun rambutan dilakukan untuk mengetahui konsentrasi yang optimum pada ekstrak, yang selanjutnya dilakukan uji aktivitas antibakteri fraksinasi daun rambutan. Hasil penelitian Rumaolat (2020) menunjukkan bahwa ekstrak daun rambutan dengan konsentrasi ekstrak 20%, 50%, dan 75% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan diameter zona hambat secara berturut-turut adalah 16 mm, 21 mm, dan 26mm.

Konsentrasi ekstrak yang digunakan dalam penelitian ini dengan seri konsentrasi ekstrak 5%, 10%, dan 15%, hal ini dilakukan untuk mengetahui ada atau tidaknya aktivitas antibakteri pada seri konsentrasi yang lebih kecil. Pelarut dan kontrol negatif yang digunakan yaitu *Dimethylsulfoxide* (DMSO) 5%, karena dengan konsentrasi tersebut tidak akan membentuk zona hambat bakteri, pelarut ini mempunyai aktivitas antibakteri pada konsentrasi diatas 5% dan pada konsentrasi 2% tidak efektif (Suryaku, 2017). Kontrol positif yang digunakan adalah kapsul kloramfenikol 500 mg dengan konsentrasi 1%. Penggunaan kontrol positif dengan antibiotik kloramfenikol pada penelitian ini, karena mempunyai mekanisme yang sama dengan senyawa yang terkandung dalam daun rambutan yaitu senyawa flavonoid dan mempunyai khasiat bakteriostatik yang efektif untuk bakteri Gram positif maupun bakteri Gram negatif. Hasil uji aktivitas antibakteri orientasi ekstrak daun rambutan dapat dilihat pada Tabel 4.7.

**Tabel 4.7** Hasil uji aktivitas antibakteri orientasi ekstrak daun rambutan

Sampel	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-rata ± Standart Deviasi
	Replikasi			
	1	2	3	
Ekstrak daun rambutan 5%	9,6	10	9,6	9,73 ± 0,23
Ekstrak daun rambutan 10%	15	16	14,5	15,16 ± 0,76
Ekstrak daun rambutan 15%	13	18	16	15,66 ± 2,51
Kontrol positif kloramfenikol 1%	23	20,5	21	21,50 ± 1,32
Kontrol negatif DMSO 5%	0	0	0	0 ± 0,00

Hasil uji aktivitas antibakteri orientasi ekstrak daun rambutan kemudian dilakukan analisis menggunakan program komputer software SPSS (*Statistical Product and Service Solution*) versi 25. Analisis hasil diawali dengan dilakukan uji normalitas data untuk memastikan data terdistribusi normal menggunakan uji *Shapiro-Wilk*. Hasil uji normalitas menunjukkan nilai *p-value* signifikansi 0,000 ( $< 0,05$ ) pada ekstrak 5% daun rambutan, yang berarti data tidak terdistribusi normal. Hasil uji normalitas data dapat dilihat pada lampiran 11. Karena data tidak terdistribusi normal maka dilakukan uji menggunakan uji nonparametrik yaitu uji *Kruskal-Wallis* dan hasil uji *Kruskal-Wallis* dapat dilihat pada Tabel 4.8.

**Tabel 4.8** Hasil uji *Kruskal-Wallis* orientasi ekstrak daun rambutan

Test Statistics <sup>a,b</sup>	
	Zona hambat
Kruskal-Wallis	12.998
df	4
Asymp. Sig.	.011

Hasil uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan bahwa nilai *p-value* signifikansi 0,011 ( $< 0,05$ ) sehingga dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan terhadap zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Selanjutnya dilakukan uji *Mann-Whitney* yang bertujuan untuk menguji signifikansi hipotesis antar dua sampel (Sriwidadi, 2011). Hasil uji *Mann-Whitney* dapat dilihat pada Tabel 4.9.

**Tabel 4.9** Hasil uji *Mann-Whitney* orientasi ekstrak daun rambutan

Kelompok	Analisis Uji <i>Mann-Whitney</i>				
	Ekstrak 5%	Ekstrak 10%	Ekstrak 15%	K+	K-
Ekstrak 5%		0,046*	0,046*	0,046*	0,034*
Ekstrak 10%	0,046*		0,658	0,050*	0,037*
Ekstrak 15%	0,046*	0,658		0,050*	0,037*
K+	0,046*	0,050*	0,050*		0,037*
K-	0,034*	0,037*	0,037*	0,037*	

Keterangan: (K+) kloramfenikol 1%, (K-) dms0 5%, \**p-value*  $< 0,05$

Berdasarkan pada Tabel 4.9 hasil uji *Mann-Whitney* orientasi ekstrak daun rambutan dapat diketahui bahwa konsentrasi ekstrak 5% mempunyai perbedaan bermakna terhadap kedua konsentrasi ekstrak lain, kontrol positif, dan kontrol

negatif yang dibuktikan dengan nilai *p-value* signifikansi  $< 0,05$ , sedangkan pada konsentrasi ekstrak 10% menunjukkan tidak adanya perbedaan bermakna dengan konsentrasi ekstrak 15%, hal ini menunjukkan bahwa kedua konsentrasi ekstrak tersebut mempunyai kekuatan yang sama dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin tinggi zat aktif yang terkandung di dalamnya, dengan demikian senyawa yang berpotensi sebagai antibakteri semakin banyak sehingga zona hambat yang terbentuk akan semakin luas (Ratna *et al.*, 2018).

Konsentrasi ekstrak 10% sudah memberikan kekuatan hambat yang kuat. Hal ini disebabkan karena konsentrasi tersebut sudah memenuhi persyaratan kepekaan suatu bakteri terhadap senyawa antibakteri dari tanaman, dimana dalam kategori kepekaan bakteri dengan diameter antara 10-20 mm mempunyai kekuatan daya hambat kuat (Utami, 2017). Konsentrasi ekstrak 10% merupakan konsentrasi minimum yang memberikan respon hambat yang kuat sehingga dinyatakan sebagai konsentrasi efektif. Konsentrasi efektif merupakan konsentrasi minimum yang dapat memberikan respon hambat yang kuat (Rastina *et al.*, 2015). Hasil penelitian Ratna *et al.* (2018) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun rambutan konsentrasi 10% merupakan konsentrasi optimum yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*.

Kontrol negatif yang digunakan dalam penelitian ini menunjukkan perbedaan yang bermakna dengan kontrol positif dan berbagai konsentrasi ekstrak daun rambutan lainnya, hal ini dibuktikan dengan nilai *p-value* signifikansi  $< 0,05$ . Dimana kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO 5% yang menunjukkan tidak terbentuknya zona hambat bakteri. Hal tersebut membuktikan bahwa tidak ada pengaruh kontrol negatif sebagai pelarut ekstrak dalam pembentukan zona hambat bakteri (Ratna *et al.*, 2018). Jadi, daya hambat yang dihasilkan tidak dipengaruhi oleh pelarut namun berasal dari aktivitas senyawa yang terdapat pada ekstrak daun rambutan tersebut. Kontrol positif yang digunakan sebagai antibiotik pembanding adalah kloramfenikol konsentrasi 1%. Kontrol positif kloramfenikol pada penelitian ini menghasilkan rata-rata diameter zona hambat sebesar  $21,50 \pm 1,32$  mm yang termasuk kedalam kategori kekuatan daya hambat yang sangat kuat terhadap

bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Hal ini menunjukkan bahwa kontrol positif kloramfenikol mempunyai perbedaan yang bermakna dengan kontrol negatif dan berbagai konsentrasi ekstrak daun rambutan lainnya yang dibuktikan dengan nilai *p-value* signifikansi  $< 0,05$ . Hal tersebut disebabkan karena antibiotik kloramfenikol merupakan antibiotik yang telah terbukti dapat membunuh dan menghambat pertumbuhan bakteri, jadi dibutuhkan konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi agar setara dengan zona hambat antibiotik kloramfenikol (Handayani, 2019).

#### 4.8.2 Uji aktivitas antibakteri fraksi daun rambutan

Pengujian aktivitas antibakteri selanjutnya dilanjutkan ke uji aktivitas antibakteri fraksi daun rambutan. Fraksi yang digunakan yaitu fraksi *aquadestilata*, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksan dengan konsentrasi 10%. Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi daun rambutan dapat dilihat pada tabel 4.10.

**Tabel 4.10** Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi daun rambutan

Sampel	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-rata $\pm$ Standart Deviasi
	Replikasi			
	1	2	3	
Fraksi <i>aquadestilata</i> 10%	11,5	10	10,5	10,66 $\pm$ 0,76
Fraksi etil asetat 10%	13,5	11	10,8	10,83 $\pm$ 2,75
Fraksi n-heksan 10%	9	0	0	3,00 $\pm$ 5,19
Kontrol positif kloramfenikol 1%	23	20,5	21	21,50 $\pm$ 1,32
Kontrol negatif DMSO 5%	0	0	0	0 $\pm$ 0,00

Hasil uji aktivitas antibakteri daun rambutan pada Tabel 4.10 menunjukkan bahwa fraksi daun rambutan mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ditandai dengan terbentuknya zona bening disekitar kertas cakram. Hasil zona hambat kontrol negatif DMSO 5% mempunyai nilai rata-rata sebesar  $0 \pm 0,00$  mm. Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan DMSO 5% sebagai kontrol negatif dan sebagai pelarut yang tidak mempengaruhi aktivitas antibakteri pada fraksi daun rambutan. Pemilihan DMSO 5% sebagai pelarut didasarkan pada kemampuan pelarut untuk melarutkan berbagai senyawa polar maupun non polar dan etil asetat mempunyai aktivitas antibakteri sehingga menggunakan pelarut lain yaitu DMSO 5% sebagai larutan uji. Pelarut ini mempunyai kemampuan menembus membran sel, namun pada penggunaan DMSO

sebagai pelarut, konsentrasi akhirnya tidak boleh lebih dari 5% karena dapat menyebabkan pecahnya membran sel (Andayani *et al.*, 2016). Selain itu, penggunaan DMSO sebagai pelarut uji mengacu pada penelitian Sulistiyaningsih *et al.* (2017), yang menyatakan bahwa ekstrak dan fraksi daun rambutan dilarutkan dengan pelarut *Dimethylsulfoxide* (DMSO).

Penggunaan kontrol positif menggunakan kloramfenikol karena antibiotik ini berspektrum luas, efektif untuk bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif (Octaviani *et al.*, 2019). Selain itu, kloramfenikol mempunyai mekanisme kerja yang sama terhadap senyawa pada daun rambutan yaitu senyawa flavonoid yang berkhasiat sebagai antibakteri (Rumaolat, 2020). Hasil zona hambat kontrol positif mempunyai nilai rata-rata sebesar  $21,50 \pm 1,32$  mm yang termasuk ke dalam kategori zona hambat sangat kuat, hasil tersebut sesuai dengan penelitian Hanik (2012) yang membuktikan bahwa zona hambat kontrol positif kloramfenikol 1% memperoleh hasil diameter zona hambat sebesar 21 mm dengan kategori sangat kuat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

Berdasarkan pada Tabel 4.10 fraksi yang mempunyai zona hambat kuat adalah fraksi teraktif yang dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Fraksi yang mempunyai zona hambat kuat adalah fraksi etil asetat mempunyai nilai rata-rata sebesar  $10,83 \pm 2,75$  mm dengan kategori zona hambat kuat dibandingkan dengan fraksi n-heksan, hal ini menunjukkan bahwa fraksi etil asetat yang teraktif menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, hasil ini didukung oleh penelitian Sulistiyaningsih *et al.* (2017) bahwa fraksi etil asetat merupakan fraksi teraktif sebagai antibakteri dibandingkan dengan fraksi n-heksan. Selain itu, pada proses skrining fraksinasi etil asetat dapat menarik senyawa flavonoid, saponin, dan tanin, yang didukung oleh penelitian sebelumnya bahwa, fraksi etil asetat daun rambutan memiliki aktivitas antibakteri yang berasal dari senyawa flavonoid, polifenol, saponin, dan tanin (Sulistiyaningsih *et al.*, 2017).

Mekanisme kerja senyawa flavonoid sebagai antibakteri dengan merusak dinding atau dengan mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel yang terdiri dari lapisan protein (Sadino, 2017). Senyawa saponin mempunyai

mekanisme kerja sebagai antibakteri dengan menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri (Sari *et al.*, 2017). Senyawa tanin mempunyai mekanisme kerja sebagai antibakteri dengan memiliki target pada polipeptida dinding sel, sehingga menimbulkan lisis dan sel bakteri akan mati (Pratiwi, 2019).

Fraksi *aquadestilata* mempunyai zona hambat yang lebih besar daripada fraksi n-heksan. Hal ini dapat dibuktikan pada analisis hasil bahwa fraksi *aquadestilata* mempunyai perbedaan bermakna terhadap fraksi n-heksan dengan nilai *p-value* signifikansi 0,046 ( $< 0,05$ ). Hal ini dikarenakan kandungan senyawa metabolit sekunder yang mempunyai kemampuan sebagai antibakteri pada fraksi n-heksan lebih sedikit daripada fraksi *aquadestilata* dan faktor lingkungan yang buruk dapat mempengaruhi kandungan metabolit sekunder, dimana faktor lingkungan seperti suhu (temperatur), radiasi, cahaya, udara (terutama oksigen, karbon dioksida, dan uap air), serta kelembaban (Murtihapsari *et al.*, 2021). Hasil penelitian Alfianingsih (2016) menunjukkan bahwa fraksi n-heksan daun rambutan mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu golongan senyawa steroid. Ekstrak daun rambutan mengandung senyawa metabolit sekunder lain yaitu golongan senyawa polifenol, monoterpene dan sesquiterpene (Sulistiyaningsih *et al.*, 2017), serta hidrokuinon (Maradona, 2013).

Analisis hasil diawali dengan dilakukan uji normalitas data untuk memastikan data terdistribusi normal menggunakan uji *Shapiro-Wilk*. Hasil uji normalitas menunjukkan nilai *p-value* signifikansi 0,000 ( $< 0,05$ ) pada fraksi n-heksan, yang berarti data tidak terdistribusi normal. Hasil uji normalitas data dapat dilihat pada lampiran 12. Data kemudian dilakukan uji nonparametrik menggunakan uji *Kruskal-Wallis* dan hasil uji *Kruskal-Wallis* dapat dilihat pada Tabel 4.11.

**Tabel 4.11** Hasil uji *Kruskal-Wallis* fraksi daun rambutan

Test Statistics <sup>a,b</sup>	
	Zona hambat
Kruskal-Wallis	12.894
df	4
Asymp. Sig.	.012

Hasil uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan bahwa nilai *p-value* signifikansi 0,012 ( $< 0,05$ ) sehingga dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan terhadap zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, kemudian dilakukan uji lanjutan yaitu uji *Mann-Whitney*. Hasil uji *Mann-Whitney* fraksi daun rambutan dapat dilihat pada Tabel 4.12.

**Tabel 4.12 Hasil uji *Mann-Whitney***

Analisis Uji <i>Mann-Whitney</i>					
Kelompok	Fraksi n-heksan	Fraksi etil asetat	Fraksi aquadest	K+	K-
Fraksi n-heksan		0,046*	0,046*	0,046*	0,317
Fraksi etil asetat	0,046*		0,275	0,050*	0,037*
Fraksi <i>aquadest</i>	0,046*	0,275		0,050*	0,037*
K+	0,046*	0,050*	0,050*		0,037*
K-	0,317	0,037*	0,037*	0,037*	

Keterangan: (K+) kloramfenikol 1%, (K-) dmsso 5%, \**p-value*  $< 0,05$

Pada uji *Mann-Whitney* bertujuan untuk menguji signifikansi hipotesis antar dua sampel (Sriwidadi, 2011). Fraksi etil asetat pada penelitian ini merupakan fraksi teraktif dengan zona hambat kuat sebagai antibakteri. Berdasarkan Tabel 4.12 menunjukkan bahwa hasil uji *Mann-Whitney* fraksi etil asetat menunjukkan tidak adanya perbedaan bermakna dengan fraksi *aquadestilata*, hal ini dapat dibuktikan dengan nilai *p-value* signifikansi 0,275 ( $> 0,05$ ), sedangkan pada fraksi n-heksan menunjukkan adanya perbedaan bermakna dengan fraksi etil asetat yang dapat dibuktikan dengan nilai *p-value* signifikansi  $< 0,05$ .

Fraksi *aquadestilata* mempunyai zona hambat yang lebih besar daripada fraksi n-heksan, hal ini dapat dibuktikan dengan analisis hasil bahwa nilai *p-value* signifikansi 0,046 ( $< 0,05$ ) yang berartikan ada perbedaan bermakna dengan fraksi n-heksan. Pembentukan aktivitas antibakteri pada fraksi daun rambutan dikarenakan terdapatnya aktivitas antibakteri yang terkandung di dalam fraksi daun rambutan seperti senyawa flavonoid, saponin, dan tanin yang dapat menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Mekanisme senyawa flavonoid sebagai antibakteri yaitu dengan mendenaturasi protein sel bakteri, merusak membran sitoplasma, dan menghambat metabolisme energi bakteri dengan menghambat penggunaan oksigen oleh bakteri (Sapara *et al.*, 2016). Fenol dan protein membentuk ikatan hidrogen yang mengakibatkan struktur protein menjadi rusak. Dimana ikatan hidrogen akan mempengaruhi permeabilitas dinding sel dan membran sitoplasma. Sehingga permeabilitas dinding sel dan membran sitoplasma yang terganggu akan terjadi ketidakseimbangan dalam sel yang menyebabkan sel menjadi lisis (Rijayanti, 2014).

Mekanisme dari saponin sebagai senyawa antibakteri dengan menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel. Saponin menjadi senyawa antibakteri karena zat aktif permukaannya sama dengan detergen, sehingga saponin akan menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri serta merusak permeabilitas membran. Rusaknya membran sel bakteri sangat mengganggu kelangsungan hidup dari bakteri tersebut. Saponin akan berpindah melalui membran luar dan dinding sel yang rentan lalu mengikat membran sitoplasma sehingga mengganggu dan mengurangi kestabilan membran sel. Hal ini menyebabkan sitoplasma bocor keluar dari sel yang mengakibatkan kematian sel (Ernawati and Sari, 2015).

Mekanisme kerja senyawa tanin sebagai antibakteri yaitu dengan cara menyebabkan sel bakteri menjadi lisis. Hal ini dikarenakan pada senyawa tanin mempunyai target dinding polipeptida dinding sel bakteri sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna, sehingga sel bakteri akan mati. Selain itu, tanin memiliki kemampuan untuk menginaktifkan enzim bakteri serta mengganggu jalannya protein pada lapisan dalam sel (Sapara *et al.*, 2016).

Fraksi daun rambutan yang diujikan dalam penelitian ini belum setara dengan aktivitas antibakteri antibiotik kloramfenikol 1%, hal ini ditunjukkan dengan nilai *p-value* signifikansi  $< 0,05$  dikarenakan konsentrasi fraksi daun rambutan yang digunakan kurang tinggi sehingga belum setara dengan kontrol positif kloramfenikol 1%. Hasil uji *Mann-Whitney* dapat dilihat pada Lampiran 12.

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1 Kesimpulan**

Berdasarkan hasil dan pembahasan dalam penelitian ini dapat diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

1. Fraksi *aquadestilata*, fraksi etil asetat, dan fraksi n- heksan daun rambutan mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang ditandai dengan terbentuknya zona bening disekitar kertas cakram.
2. Fraksi etil asetat daun rambutan merupakan fraksi teraktif dengan zona hambat rata-rata sebesar  $10,83 \pm 2,75$  mm dengan kategori hambat kuat yang mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

#### **5.2 Saran**

- 5.2.1 Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan metode isolasi yang berbeda.
- 5.2.2 Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan bakteri lain yang dapat menyebabkan infeksi.
- 5.2.3 Perlu dilakukan skrining fitokimia metabolit sekunder golongan lain pada setiap fraksi daun rambutan.
- 5.2.4 Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan membuat sediaan daun rambutan untuk mengetahui efektivitas dari daun rambutan sebagai antibakteri.
- 5.2.5 Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang uji kadar senyawa fitokimia dari fraksi daun rambutan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adawiyah, R., 2017, Analisis Kadar Saponin Ekstrak Metanol Kulit Batang Kemiri (*Aleurites moluccana* (L.) Willd) dengan Metode Gravimetri, *Skripsi*, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
- Agustin, B. A., Puspawaty, N., and Rukmana, R. M., 2018, Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Etanolik Daun Beluntas (*Pluchaea indica* Less.) dan Meniran (*Phyllanthus niruri* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Biomedika*, 11 (2), 80-87.
- Agustiyanti, R., 2018, Uji Daya Hambat Buah Sawo (*Manilkara zapota*) terhadap Bakteri *Salmonella typhi*, *Karya Tulis Ilmiah*, Jurusan Analisis Kesehatan, Politeknik Kesehatan Kendari.
- Ai, N. S., and Torey, P., 2013, Karakter Morfologi Akar sebagai Indikator Kekurangan Air pada Tanaman (*Root morphological characters as water-deficit indicators in plants*), *Jurnal Bioslogos*, 3 (1), 32–39.
- Aji, P. D. T., 2018, Pengaruh Ukuran Partikel Simplisia terhadap Kadar Genistein pada Ekstrak Tempe, *Skripsi*, Program Studi S1 Farmasi, Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta.
- Aldina, P., 2015, Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Kulit Buah Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) terhadap Kadar Glukosa Darah dan Histologi Pankreas Mencit yang di Induksi Alokstan, *Skripsi*, Bagian Farmasi Klinik dan Komunitas, Fakultas Farmasi, Universitas Jember.
- Alfianingsih, S., 2016, Aktivitas Antibakteri Fraksi n-Heksan, Kloroform, dan Etanol dari Ekstrak Etanol Daun Rambutan (*Nephelium lappaceum*, L.) terhadap Bakteri *Escherichia coli*, *Karya Tulis Ilmiah*, Akademi Analisis Farmasi dan Makanan, Putra Indonesia Malang.
- Ambarsari, M. A., 2013, Aktivitas Antibakteri Fraksi n-Heksan Ekstrak Etanol Daging Buah Sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella sonnei* dan serta Bioautografinya, *Naskah Publikasi*, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Amelia, F. R., 2015, Penentuan Jenis Tanin dan Penetapan Kadar Tanin dari Buah Bungur Muda (*Lagerstroemia speciosa* Pers.) secara Spektrofotometri dan Pemanganometri, *Calyptra: Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya*, 4 (2), 1–20.
- Anam, C., Agustini, T. W., and Romadhon, 2014, Pengaruh Pelarut yang berbeda pada Ekstraksi *Spirulina Platensis* Serbuk sebagai Antioksidan dengan Metode Soxhletasi, *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan*, 3 (4), 106–112.
- Andayani, R., Mubarak, Z., and Rinanda, D. R., 2016, Aktivitas Antibakteri Tepung Cacing Tanah (*Lumbricus rubellus*) terhadap *Enterococcus faecalis* secara *In Vitro*, *Journal Of Syiah Kuala Dentistry Society*, 1 (2), 201-210.
- Andhini, N. F., 2017, Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi n-Heksana, Etil Asetat dan Air dari Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922, *Skripsi*, Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi, Surakarta.

- Andriyani, D., Utami, P. I., and Dhiani, B. A., 2010, Penetapan Kadar Tanin Daun Rambutan (*Nephelium lappaceum L.*) secara Spektrofotometri Ultraviolet Visibel. *Pharmacy*, 07 (02), 1–11.
- Anggraini, N., 2018, Efektivitas Kulit Buah Rambutan (*Nephelium lappaceum L.*) sebagai Larvasida terhadap Larva Nyamuk *Aedes aegypti*, *Skripsi*, Fakultas Tarbiyah dan Keguruan, Universitas Islam Negeri Raden Intan, Lampung.
- Apriliana, E., and Hawarima, V., 2016, Kandungan Buah Rambutan (*Nephelium lappaceum L.*) sebagai Antibakteri terhadap *E.coli* Penyebab Diare. *Majority*, 5 (2), 126–130.
- Artini, Astuti, and Warditiani, 2013, Uji Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Rimpang Bangle (*Zingiber purpureum Roxb.*), *Jurnal Farmasi Udayana*, 2 (4), 1–7.
- Astuti, V. F., 2014, Aktivitas Antibakteri Ekstrak Air dan Ekstrak Etanol Daun Ilalang (*Imperata cylindrica L.*) terhadap *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* multiresisten, *Naskah Publikasi*, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Ayuningtyas, N. D., Sudarsono, A. P. P., and Hapsari, A. Y., 2017, Optimasi Formula Peel-Off Ekstrak Etanol 70% Bunga Rosela (*Hibiscus Sabdariffa L.*) dengan Kombinasi Carbomer dan Polivinil Alkohol, *Bharmada: Jurnal Ilmu dan Teknologi Kesehatan*, 8 (2).
- Badan POM RI, 2014, *Persyaratan Mutu Obat Tradisional*, Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia, Jakarta.
- Bakara, L. B., 2020, Isolasi dan Identifikasi Turunan Senyawa Fenolik dari Bunga Kaktus Pakis Giwang (*Euphorbia milii DESMOUL.*), *Skripsi*, Program Studi S1 Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sumatera Utara, Medan.
- Baud, G. S., Sangi, M. S., and Koleangan, H. S. J., 2014, Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Batang Tanaman Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli L.*) dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT), *Jurnal Ilmiah Sains*, 14 (2), 107-112.
- Cahyani, L. D., 2018, Fraksi Senyawa Antituberkulosis dari Ekstrak Larut nHeksan Daun Jati Merah (*Tectona grandis L F*), *Skripsi*, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
- Chairunnisa, S., Wartini, N. M., and Suhendra, L., 2019, Pengaruh Suhu dan Waktu Maserasi terhadap Karakteristik Ekstrak Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana L.*) sebagai Sumber Saponin, *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 7 (4), 551–560.
- Chandradinata, I. P., 2011, Perbandingan Angka Lempeng Total (ALT) Simplisia Rimpang Temulawak (*Curcuma Rhizoma*) dalam Jamu Godhog dari Empat Pasar di Kotamadya Yogyakarta dengan yang di Olah sesuai Cara Pembuatan Simplisia yang Baik, *Skripsi*, Fakultas Farmasi, Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta.
- Christianty, F. M., Holiday, D., Fajrin, F. A., Salsabina, M. C. A., and Roni, A., 2020, Profil Lipid dan Gambaran Histopatologi Aorta Tikus Hiperlipidemia dengan Pemberian Ekstrak Kopi Hijau, *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 18 (1), 21–27.
- Darmawi, Zahra, A. F., Salim, M. N., Dewi, M., Abrar, M., Syafruddin, and Adam,

- M., 2019, *Isolation, Identification and Sensitivity Test of Staphylococcus aureus on Post Surgery Wound of Local Dogs (Canis familiaris)*, *Jurnal Medika Veterinaria*, 13 (1), 37–46.
- Delfiyanti, F., 2016, Identifikasi Pengaruh Sterilisasi Uap dan Sterilisasi Radiasi terhadap Sifat Reologi Polimer (Karbopol, Na-CMC, Natrium Alginat, Tragakan, *Xanthan Gum*), *Skripsi*, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Program Studi Farmasi, Jakarta.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1979, *Farmakope Indonesia*, Edisi Ketiga, Jakarta.
- Dewi, A. K., 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*, 31 (2), 138–150.
- Dewi, N. P., 2020, Uji Kualitatif dan Kuantitatif Metabolit Sekunder Ekstrak Etanol Daun Awar-Awar (*Ficus septica* Burm.f) dengan Metode Spektrofotometer UV-VIS, *Acta Holist. Pharm*, 2 (1), 16–24.
- Dwichehyani, T., Sumardianto, and Rianingsih, L., 2018, Uji Bioaktivasi Ekstrak Teripang Keling *Holothuria atra* sebagai Antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, *J. Peng. & Biotek. Hasil Pi.*, 7 (1), 15–24.
- Effendi, F., P. Roswiem, A., and Stefani, E., 2014, Uji Aktivitas Antibakteri Teh Kombucha Probiotik terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, *Fitofarmaka: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 4 (2), 1–9.
- Elvira, Puspawati, N., and Wibawa, D. A. A., 2017, Identifikasi *Staphylococcus aureus* dan Uji Sensitivitas terhadap Antibiotik dari Sampel Darah Pasien Sepsis di RSUD Dr. Moewardi, *Biomedika*, 10 (1), 24–29.
- Ergina, Nuryanti, S., and Pursitasari, I. D., 2014, Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder pada Daun Palado (*Agave angustifolia*) yang di Ekstraksi dengan Pelarut Air dan Etanol, *Jurnal Akademika Kimia*, 3 (3), pp. 165–172.
- Ernawati, and Sari, K., 2015, Kandungan Senyawa Kimia dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Alpukat (*Persea americana* P.Mill) terhadap Bakteri *Vibrio alginolyticus*, *Jurnal Kajian Veteriner*, 3 (2), 203–211.
- Ernist, J., 2017, Penggunaan Daun Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) sebagai Penghitam Rambut dalam Sediaan Pewarna Rambut, *Skripsi*, Program Sarjana Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Sumatera Utara, Medan.
- Fajriaty, I., Hariyanto, and Setyaningrum, R., 2018, Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis dari Ekstrak Etanol Daun Bintangur (*Calophyllum soulattri* Burm. F.), *Jurnal Pendidikan Informatika dan Sains*, 7 (1), 54–67.
- Febrianasari, F., 2018, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kirinyu (*Chromolaena odorata*) terhadap *Staphylococcus aureus*, *Skripsi*, Program Studi Pendidikan Biologi, Jurusan Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta.
- Firdaus, T., 2014, Efektifitas Ekstrak Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia*) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Skripsi*, Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran dan Ilmu

- Kesehatan, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Hamad, A., Jumitera, S., Puspawiningtyas, E., and Hartanti, D., 2017, Aktivitas Antibakteri Infusa Kemangi (*Ocimum basilicum* L.) pada Tahu dan Daging Ayam Segar, *Inovasi Teknik Kimia*, 2 (1), 1–8.
- Hana, N., 2010, Formulasi Tablet Hisap Ekstrak Etanol Gambir (*Uncaria gambir* Roxb) dengan Variasi Konsentrasi *Polyvinyl Pyrrolidone* (PVP) sebagai Pengikat dan Pengaruhnya terhadap Kadar CD4 dalam Darah, *Skripsi*, Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Handayani, K., 2019, Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Batang Pepaya (*Carica Papaya* Linn.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Skripsi*, Program Studi S1 Farmasi, Stikes Karya Putra Bangsa, Tulungagung.
- Hanik, I., 2012, Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Etanol Kulit Buah Delima (*Punica granatum* L.) dan Kloramfenikol terhadap *Staphylococcus aureus*, *Naskah Publikasi*, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.
- Hartati, Syamsuddin, and Karim, H., 2019, Pengaruh Jenis Pelarut terhadap Kandungan Senyawa Metabolit Sekunder Klika Kayu Jawa (*Lannea coromandelica*), *Jurnal Sainsmat*, 8 (2), 19–27.
- Hasibuan, S. A., 2016, Perbandingan Daya Hambat Ekstrak Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* Linn) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* secara *In Vitro*, *Skripsi*, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung, Bandar Lampung.
- Heramuda, G. I., and Wuryandari, W., 2018, Mutu Fisik Sirup Ekstrak Daun Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.), *Doctoral Dissertation*, Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang, 1–10.
- Hermawan, D. S., Lukmayani, Y., and Dasuki, U. A., 2016, Identifikasi Senyawa Flavonoid pada Ekstrak dan Fraksi yang Berasal dari Buah Berenuk (*Crescentia cujete* L.), Dalam *Prosiding Farmasi*, 2 (2), 253–259.
- Hidayat, M. A., and Kuswandi, B., 2012, *Obat Sintetik dan Obat Herbal (Kimia Farmasi)*, 1–44.
- Hidayati, S., Lumbessy, S. Y., and Azhar, F., 2021, Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kitolod (*Isotoma longiflora*) terhadap Bakteri *Vibrio* sp. Penyebab Vibriosis pada Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*), *Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi*, 9 (1), 86–95.
- Huda, C., Putri, A. E., and Sari, D. W., 2019, Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi dari Maserat *Zibethinus folium* terhadap *Escherichia coli*, *Jurnal Sain Health*, 3 (1), 7–14.
- Ikhsanudin, A., and Mardhiyah, S., 2017, Formulasi dan Uji Antijerawat Gel Ekstrak Etanol 70% Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi* Linn.) terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes*, *Medula*, 5 (1), 416–426.
- Ikrom, Asih, D., Wira, R., Perkasa, B., Tiara, R., and Wasito, 2014, Studi *In Vitro* Ekstrak Etanol Daun Kamboja (*Plumeria alba*) sebagai *Anti Aeromonas hydrophila*, *Jurnal Sain Veteriner*, 32 (1), 105–116.
- Ilham, I. A., 2010, Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Metanol Larut Heksan dan

- tidak Larut Heksan Daun Rambutan (*Nephelium lappaceum* L) terhadap Beberapa Mikroba Patogen, *Skripsi*, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
- Indriyanti, E., Purwaningsih, Y., and Wigati, D., 2018, Skrining Fitokimia dan Standarisasi Ekstrak Kulit Buah Labu Kuning (*Cucurbita moschata*), *Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta*, 20–25.
- Insani, F., 2020, Uji Potensi Antibakteri Minyak Atsiri Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*) terhadap Aktivitas Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus epidermidis*, Terdapat di: <http://eprints.poltekkesjogja.ac.id/3163/> [Diakses pada 26 Desember 2020].
- Izudin, I., Regar, R., Wahyuningsih, A., and Nurrosyidah, I., H., 2020, Daya Hambat *Lactobacillus Reuteri* terhadap *Escherichia Coli* dan *Staphylococcus Aureus* secara *In Vitro*, *Journal of Pharmaceutical Care Anwar Medika (J-PhAM)*, 2 (2), 66–71.
- Jayanti, T. D., Ariyanti, and Masruriati, E., 2017, Uji Aktivitas Antibakteri Infusa dan Sirup Daun Rambutan (*Nepheliumlappaceum* Linn) terhadap Bakteri *Salmonella Typhi* secara *In Vitro*, *Jurnal Farmasetis*, 6 (2), 71–76.
- Juariyah, S., and Sari, W. P., 2018, Pemanfaatan Limbah Cair Industri Tahu sebagai Media Alternatif Pertumbuhan *Bacillus sp*, *Jurnal analisis Kesehatan Klinikal Sains*, 6 (1), 24–29.
- Kasminah, 2016, Aktivitas Antioksidan Rumput Laut *Halymenia durvillaei* dengan Pelarut Non Polar, Semi Polar dan Polar, *Skripsi*, Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Airlangga, Surabaya.
- Kementerian Kesehatan RI, 2011, *Pedoman Umum Panen dan Pasca Panen Tanaman Obat*, Tawangmangu.
- Kementerian Kesehatan RI, 2014, *Farmakope Indonesia Edisi V: Volume 2*, Jakarta.
- Kementerian Kesehatan RI, 2020, *Farmakope Indonesia Edisi VI*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Khaira, N., 2019, Gambaran Hasil Bakteri pada Telapak Tangan Sebelum dan Sesudah Penggunaan *Handsanitizer*, *Karya Tulis Ilmiah*, Program Studi Diploma Tiga Teknologi Laboratorium Medik, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Perintis Padang, Padang.
- Khasanah, L. U., Utami, R., Manuhara, G. J., Fattahillah, Q., and Setyowati, F. P., 2018, Pengaruh Perlakuan Pendiaman dan Konsentrasi Etanol terhadap *Oleoresin* Daun dan Kulit Batang Kayu Manis (*Cinnamomum Burmanii*), Dalam *Prosiding Seminar Nasional seri 8 “Mewujudkan Masyarakat Madani dan Lestari” Yogyakarta*, 101–116.
- Koirewoa, Y. A., Fatimawali, and Wiyono, W. I., 2012, Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dalam Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.), 47–52.
- Kristijarti, A. P., and Arlene, A., 2012, Isolasi Zat Warna Ungu pada *Ipomoea batatas* Poir dengan Pelarut Air, *Laporan Kegiatan Penelitian*, Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat, Universitas Katolik Prahayangan, Bandung.
- Kumayas, A. R., Wewengkang, D. S., and Sudewi, S., 2015, Aktifitas Antibakteri dan Karakteristik Gugus Fungsi dari *Tunikata Polycarpa Aurata*,

- PHARMACON Jurnal Ilmiah Farmasi – UNSRAT*, 4 (1), 32–44.
- Kurniawati, E., 2015, Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Tunas Bambu Apus terhadap Bakteri *Escherichia Coli* dan *Staphylococcus Aureus* secara *In Vitro*, *Jurnal Wiyata*, 2 (2), 193–199.
- Kursia, S., Lebang, J. S., Taebe, B., Burhan, A., Rahim, W. O. R., and Nursamsiar, 2016, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*, *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 3 (2), 72–77.
- Kusumaningrum, Y. N., 2012, Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Rambutan (*Nephelium lappaceum*) terhadap *Staphylococcus aureus* & *Escherichia coli*, *Skripsi*, Departemen Biokimia, Fakultas Matematika, dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Kusumawati, E., 2016, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack) RM Smith) terhadap Bakteri *Bacillus cereus* dan *Escherichia coli* menggunakan Metode Difusi Sumur, *Polhasains: Jurnal Sains dan Terapan Politeknik Hasnur*, 04 (1), 26–33.
- Lake, W. K., Hamid, I. S., Saputro, A. L., Plumeriastuti, H., Yustinasari, L. R., and Yunita, M. N., 2019, Uji Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak n-Heksana dan Kloroform Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* secara *In Vitro*, *Jurnal Medik Veteriner*, 2 (1), 60–65.
- Lidiawati, T. E., Saleh, C., and Alimuddin, 2018, Sintesis Etil Asetat dari Hasil Fermentasi Kulit Singkong (*Manihot Esculenta* L) dengan Asam Asetat menggunakan Katalis Asam, Dalam *Prosiding Seminar Nasional Kimia 2018 Kimia FMIPA UNMUL*, 82–86.
- Luginda, R. A., Lohita, B., and Indriani, L., 2018, Pengaruh Variasi Konsentrasi Pelarut Etanol terhadap Kadar Flavonoid Total Daun Beluntas (*Pluchea indica* (L.) Less) dengan Metode *Microwave – Assisted Extraction* (MAE).
- Lumbanraja, I. M., Wartini, N. M., and Suhendra, L., 2019, Pengaruh Jenis Pelarut dan Ukuran Partikel Bahan terhadap Karakteristik Ekstrak Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana* L.) sebagai Sumber Saponin, *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 7 (4), 541–550.
- Mandhaki, N., 2020, Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Kakao (*Theobroma cacao* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara *In Vitro*, *Skripsi*, Program Studi S1 Farmasi, Stikes Karya Putra Bangsa, Tulungagung.
- Maradona, D., 2013, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Durian (*Durio zibhetinus* L.), Daun Lengkek (*Dinocarpus longan* Lour.), Daun Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, *Skripsi*, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Program Studi Farmasi, Jakarta.
- Mauti, I. M., Rini, D. I., and Rante, S. D. T., 2018, Uji *In Vitro* Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 70% Biji Pepaya (*Carica papaya* L) terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli*, *Cendana Medical Journal*, 15 (3), 317–326.
- Megawanto, 2018, Pengaruh Penambahan *Filler* terhadap Kadar Flavonoid dan Tanin Total Bubuk Ekstrak Kunir Putih (*Curcuma manggo* Val.), Terdapat

- di: <http://eprints.mercubuana-yogya.ac.id/4098/8/BAB%20II.pdf> [Diakses pada 24 Oktober 2020].
- MenKes, 2017, *Formularium Ramuan Obat Tradisional Indonesia, Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor HK.01.07/MENKES/187/2017 tentang Formularium Ramuan Obat Tradisional Indonesia*, Jakarta.
- Murthihapsari, Roreng, M. K., Parubak, A., and Rahman, A., 2021, Uji Aktivitas Antimalaria dari *Spons Xestospongia* sp. Asal Pulau Yapen secara *In Vivo*, *Jurnal Kelautan Tropis*, 24 (2), 177–184.
- Nasirudin, 2018, Isolasi dan Identifikasi Bakteri dari Swab Mata Gajah Sumatera (*Elephas maximus sumatranus*) dan Sensitivitasnya terhadap Berbagai Jenis Antibiotika, Dalam *Velabo: Buletin Laboratorium Veteriner Edisi I*, 1–45.
- Ningsih, G., Utami, S. R., and Nugrahani, R. A., 2015, Pengaruh Lamanya Waktu Ekstraksi Remaserasi Kulit Buah Durian terhadap Rendemen Saponin dan Aplikasinya sebagai Zat Aktif Anti Jamur, *Konversi*, 4 (1), 8–16.
- Noer, S., Pratiwi, R. D., and Gresinta, E., 2018, Penetapan Kadar Senyawa Fitokimia (Tanin, Saponin dan Flavonoid) sebagai Kuersetin Pada Ekstrak Daun Inggu (*Ruta angustifolia* L.), *Jurnal Eksakta: Jurnal Ilmu-ilmu MIPA*, 18 (1), 19–29.
- Nuria, M. C., Astuti, E. P., and Sumantri, 2010, *Antibacterial Activities of Ethyl Acetate Fraction of Methanol Extract from Sosor Bebek Leaves (Kalanchoe pinnata Pers.)*, *Mediagro: Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian*, 6 (2), 51–61.
- Nurlaela, Karim, A., and Dalming, T., 2018, Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Tammate (*Lannea coromandelica*) terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Escherichia coli*, *Media Farmasi*, 15 (2), 59–65.
- Octaviani, M., Fadhli, H., and Yuneistya, E., 2019, Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol dari Kulit Bawang Merah (*Allium cepa* L.) dengan Metode Difusi Cakram, *Pharmaceutical Sciences and Research*, 6 (1), 62–68.
- Padmasari, P., Astuti, K., and Warditiani, N., 2013, Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 70% Rimpang Bangle (*Zingiber purpureum* Roxb.), *Jurnal Farmasi Udayana*, 1–7.
- Pongajow, N. J., Djarkasi, G. S. S., and Mandey, L. C., 2015, Pendugaan Umur Simpan Halua Kenari menggunakan Metode *Accelerated Sheft Life Testing* (ASLT) Model *Arrhenius* pada UKM Kepulauan Sitaro, *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan*, 3 (2), 36–47.
- Pratiwi, 2014, Skrining Uji Efek Antimitosis Ekstrak Daun Botto-Botto (*Chromolaena odorata* L.) menggunakan Sel Telur Bulubabi (*Tripneustus gratilla* L.), *Naskah Publikasi*, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Negeri Alauddin Makassar.
- Pratiwi, B. E., 2015, Isolasi dan Skrining Fitokimia Bakteri Endofit dari Daun Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) yang Berpotensi sebagai Antibakteri, *Skripsi*, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Program Studi Farmasi, Jakarta.
- Pratiwi, E., 2010, Perbandingan Metode Maserasi, Remaserasi, Perkolasi dan Reperkolasi dalam Ekstraksi Senyawa Aktif *Andrographolide* dari Tanaman Sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm.F.) Nees), *Skripsi*,

- Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Pratiwi, M. N., 2019, Aktivitas Antibakteri Fraksi Buah Jambu Wer (*Prunus persica* (L.) Batsch) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Skripsi*, Jurusan Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang.
- Prayoga, E., 2013, Perbandingan Efek Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) dengan Metode Difusi *Disk* dan Metode Sumuran terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Skripsi*, Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Purnomo, R. A., 2016, Analisis Statistik Ekonomi dan Bisnis dengan SPSS, *Penerbit WADE GROUP*, Ponorogo.
- Puspitasari, A. D., and Proyogo, L. S., 2017, Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokletasi terhadap Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura*), *Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta*, 1–8.
- Putri, A. H., Nahari, A., and Ramadhani, A., 2019, Kelarutan Dua Cairan yang Saling Bercampur Sebagian.
- Putri, D. A., 2014, Pengaruh Metode Ekstraksi dan Konsentrasi terhadap Aktivitas Jahe Merah (*Zingiber officinale var rubrum*) sebagai Antibakteri *Escherichia coli*, *Skripsi*, Program Studi Pendidikan Kimia, Jurusan Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Bengkulu.
- Putri, H. S., 2017, Sensitivitas Bakteri *Staphylococcus aureus* Isolat dari Susu Mastitis terhadap Beberapa Antibiotika, *Skripsi*, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga, Surabaya.
- Putri, M. S. H., 2016, Pengaruh H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dan KOH pada Analisis Cr (III) menggunakan Asam Tanat secara Spektrofotometri Ultraungu – Tampak, *Skripsi*, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
- Rachmawan, A., and Dalimunthe, C. I., 2017, Prospek Pemanfaatan Metabolit Sekunder Tumbuhan sebagai Pestisida Nabati untuk Pengendalian Patogen pada Tanaman Karet, *Warta Per karetan*, 36 (1), 15–28.
- Rahmadani, F., 2015, Uji Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Etanol 96% Kulit Batang Kayu Jawa (*Lannea coromandelica*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Helicobacter pylori*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Skripsi*, Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Jakarta.
- Rahmah, N., 2019, Uji Aktivitas Antibakteri Sediaan Pasta Gigi Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus acidophilus* dan *Staphylococcus aureus*, *Skripsi*, Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Farmasi dan Kesehatan, Institut Kesehatan Helvetia, Medan.
- Rahmatika, P., 2015, Ekstraksi dan Uji Stabilitas Antioksidan Krokot (*Portulaca oleracea* L.) sebagai Penangkap Radikal Bebas, Terdapat di: <http://eprints.umm.ac.id/35837/> [Diakses pada 6 Oktober 2020].
- Ramadhan, A., 2015, Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa-Senyawa Hasil Modifikasi

- Struktur Etil p-Metoksisinamat melalui Reaksi Esterifikasi terhadap Bakteri Gram Negatif dan Gram Positif, *Skripsi*, Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Jakarta.
- Ramadhani, M. A., Hati, A. K., Lukitasari, N. F., and Jusman, A. H., 2020, Skrining Fitokimia dan Penetapan Kadar Flavonoid Total serta Fenolik Total Ekstrak Daun Insulin (*Tithonia diversifolia*) dengan Maserasi menggunakan Pelarut Etanol 96%, *Indonesian Journal of Pharmacy and Natural Product*, 03 (01), 8–18.
- Rastina, Sudarwanto, M., and Wientarsih, I., 2015, Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kari (*Murraya koenigii*) terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas sp*, *Jurnal Kedokteran Hewan*, 9 (2), 185–188.
- Ratna, Base, N. H., and Husnul, K. R., 2018, Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) terhadap *Streptococcus mutans*.
- Ratnasari, D., 2017, Daya Hambat Ekstrak Daun Jarak Pagar (*Jatropha curca* L.) terhadap Pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa*, Terdapat di: <http://repository.unimus.ac.id/1240/> [Diakses pada 31 Oktober 2020].
- Ridha, N., 2017, Proses Penelitian, Masalah, Variabel, dan Paradigma Penelitian, *Jurnal Hikmah*, 14 (1), 62–70.
- Rifai, G., Widarta, I. W. R., and Nocianitri, K. A., 2018, Pengaruh Jenis Pelarut dan Rasio Bahan dengan Pelarut terhadap Kandungan Senyawa Fenolik dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Alpukat (*Persea Americana* Mill.), *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 7 (2), 22–32.
- Rijayanti, R. P., 2014, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mangga Bacang (*Mangifera foetida* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* secara *In Vitro*, *Naskah Publikasi*, Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura.
- Riwandy, A., Didit, A. and Lia, Y. B., 2014, Aktivitas Ekstrak Air Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans* *In Vitro*, *Dentino, Jurnal Kedokteran Gigi*, 2 (1), 60–64.
- Rizqa, O. D., 2010, Standardisasi Simplisia Daun *Justicia gendarussa* Burm f. dari berbagai Tempat Tumbuh, *Skripsi*, Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga, Departemen Farmakognosi dan Fitokimia, Surabaya.
- Rosmania and Yanti, F., 2020, Perhitungan Jumlah Bakteri di Laboratorium Mikrobiologi menggunakan Pengembangan Metode Spektrofotometri, *Jurnal Penelitian Sains*, 22 (2), 77-86.
- Rumaolat, W., 2020, Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Daun Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*, *2-TRIK: Tunas-Tunas Riset Kesehatan*, 10 (5), 93-97.
- Rusmawijayanto, T., Luliana, S., and Isnindar, 2019, Profil Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Etanol Daun Senggani (*Melastoma malabathricum* L.) Metode Perkolasi, *Jurnal.untan.ac.id*, 4 (1).
- Sa`adah, H., and Nurhasnawati, H., 2015, Perbandingan Pelarut Etanol dan Air pada Pembuatan Ekstrak Umbi Bawang Tiwai (*Eleutherine americana* Merr) menggunakan Metode Maserasi, *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 1 (2), 149-153.

- Sadino, A., 2017, Review: Aktivitas Farmakologis, Senyawa Aktif dan Mekanisme Kerja Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.), *Journal Farmaka*, 15 (3), 16-26.
- Safitri, M. A. C., 2020, Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Batang Pepaya (*Carica papaya* Linn.) terhadap Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 secara *In Vitro*, *Skripsi*, Program Studi S1 Farmasi, Stikes Karya Putra Bangsa, Tulungagung.
- Salamah, N., Rozak, M., and Abror, M. Al, 2017, Pengaruh Metode Penyarian terhadap Kadar Alkaloid Total Daun Jembirit (*Tabernaemontana sphaerocarpa*. BL) dengan Metode Spektrofotometri Visibel, *Pharmaciana*, 7 (1), 113-122.
- Santosa, H., Sari, W., and Handayani, N. A., 2018, Ekstraksi Saponin dari Daun Waru berbantu Ultrasonik suatu Usaha untuk mendapatkan Senyawa Penghambat berkembangnya Sel Kanker, *Jurnal Inovasi Teknik Kimia*, 3 (2), 12-16.
- Sapara, T., Waworuntu, O., and Juliatri, 2016, Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Pacar Air (*Impatiens Balsamina* L.) terhadap Pertumbuhan *Porphyromonas Gingivalis*, *Pharmakon: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 5 (4), 10-17.
- Saputera, N., Rif'at, Nurkamalia, Zuraidah, Qamariah, Hidayatullah, R., 2018, Rancang Bangun Alat Sterilisasi Kesehatan Berbasis *Smart Relay Zelio* Sr2 B121JD, Dalam *Prosiding SNRT (Seminar Nasional Riset Terapan)*, 20-34.
- Saputri, R., and Susiani, E. F., 2018, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Buah dan Biji Buah Kalangkala (*Litsea angulata*) Asal Kalimantan Selatan, *Borneo Journal of Pharmacy*, 1 (2), 81-84.
- Saputro, H. A., 2010, Budidaya Rambutan di Kebun Benih Hortikultura Ranukitri Pendem Mojogedang Karanganyar, *Tugas Akhir*, Program DIII Agribisnis Holtikultural, Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Sari, R., Muhani, M., and Fajriaty, I., 2017, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Gaharu (*Aquilaria microcarpa* Baill.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Proteus mirabilis*, *Pharm Sci Res*, 4 (3), 143-154.
- Sativa, N. A., 2012, Morfologi dan Klasifikasi Daun, *Laporan Penelitian*, Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang.
- Sibuea, F. S. Y., 2015, Ekstraksi Tanin dari Kluwak (*Pangium edule* R.) menggunakan Pelarut Etanol dan Aquades dan Aplikasinya sebagai Pewarna Makanan, *Tugas Akhir*, Program Studi Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Negeri Semarang.
- Siswoyo, E., Masturah, R., and Fahmi, N., 2018, Bio-Pestisida berbasis Ekstrak Tembakau dari Limbah Puntung Rokok untuk Tanaman Tomat (*Lycopersicum esculentum*), *Jurnal Presipitasi: Media Komunikasi dan Pengembangan Teknik Lingkungan*, 15 (2), 94-99.
- Solikhah, A. M., Darmawati, S., and Prastiyanto, M. E., 2018, Analisis Profil Protein *Staphylococcus aureus* *MULTIDRUG RESISTANCE* (MDR) dengan SDS-PAGE, *Manuscript*, Program Studi D IV Analisis Kesehatan, Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah

Semarang.

- Sriwidadi, T., 2011, Penggunaan Uji *Mann-Whitney* pada Analisis Pengaruh Pelatihan Wiraniaga dalam Penjualan Produk Baru, *Binus Business Review*, 2 (2), 751–762.
- Sugiarti, L., and Setyawati, T., 2017, Karakteristik Mutu Simplisia Rimpang Jahe di PJ.Cap Klanceng Kudus, *Jurnal Keperawatan dan Kesehatan*, 2 (5), 43–95.
- Sugireng, and Rosdarni, 2020, Deteksi MRSA (*Methicilin Resistant Staphylococcus aureus*) dengan Metode PCR Pada Pasien Ulkus Diabetikum, *Jurusan Biologi: Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Alauddin Makassar*, 6 (1), 31–35.
- Suhartati, Sulistiani, and Nuraini, A., 2018, Pemanfaatan Serbuk Kacang Kedelai (*Glycine max*) sebagai Bahan Pembuatan Media *Manitol Salt Agar* (MSA) untuk Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus*, Dalam *Prosiding Seminar Nasional dan Diseminasi Penelitian Kesehatan STIKes Bakti Tunas Husada Tasikmalaya*, 1 (1), 163–167.
- Sukowati, A., 2015, Aktivitas Antioksidan beberapa Ekstrak Daun Lima Varietas Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) dan Korelasinya dengan Kandungan Total Flavonoid, Fenol, dan Karotenoid, *Tesis*, Program Studi Magister Farmasi, Institusi Teknologi Bandung.
- Sulistiyaningasih, S., Mudin, N., Wicaksono, I. A., and Budiman, A., 2017, *Antibacterial Activity of Ethanol Extract and Fraction of Rambutan Leaf (Nephelium lappaceum) Against Pseudomonas aeruginosa multiresistant*, *National Journal of Physiology, Pharmacy and Pharmacology*, 8 (2), 257–261.
- Sulistiyarini, I., Sari, D. A., and Wicaksono, T. A., 2020, Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Batang Buah Naga (*Hylocereus polyrhizus*), *Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta*, 5 (1), 56–62.
- Sulvita, N., 2018, Efektivitas Minyak Habbatussauda (*Nigellasativa*) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.
- Sumadi, R. S., 2011, Identifikasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi teraktif Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.), *Skripsi*, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret Surakarta.
- Sumiati, E., 2014, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kloroform dan Ekstrak Etanol Biji Bidara Laut (*Strychnos ligustrina* Bl) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Salmonella thypi*, *Biogenesis: Jurnal Ilmiah Biologi*, 2 (1), 1–10.
- Suryaku, N. I., 2017, Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi n-Heksan, Etil Asetat dan Air dari Ekstrak Etanolik Daun Ungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Skripsi*, Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi, Surakarta.
- Suryani, N. C., Permana, D. G. M., and Jambe, A., 2015, Pengaruh Jenis Pelarut terhadap Kandungan Total Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Matoa (*Pometia pinnata*).
- Susantho, T. J., 2013, Fraksinasi Ekstrak Buah Keben (*Barringtonia asiatica*)

- Susanty, and Bachmid, F., 2016, Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Refluks terhadap Kadar Fenolik dari Ekstrak Tongkol Jagung (*Zea mays L.*), *Jurnal Konversi*, 5 (2), 87–93.
- Syamsul, E. S., Amanda, N. A. and Lestari, D., 2020, Perbandingan Ekstrak Lamur *Aquilaria malaccensis* dengan Metode Maserasi dan Refluks, *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*, 2 (2), 97–104.
- Syamsul, E. S., Anugerah, O. and Supriningrum, R., 2020, Penetapan Rendemen Ekstrak Daun Jambu Mawar (*Syzygium jambos L. Alston*) berdasarkan Variasi Konsentrasi Etanol dengan Metode Maserasi, *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*, 2 (3), 147–157.
- Syukriah, F., and Pranggarani, L., 2016, Implementasi Teknologi *Augmented Reality* 3D pada Pembuatan Organologi Tumbuhan, *Jurnal Ilmiah FIFO*, 8 (1), 23-32.
- Triana, D., 2014, Frekuensi  $\beta$ -Lactamase Hasil *Staphylococcus aureus* secara Iodometri di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, *Journal Gradien*, 10 (2), 992–995.
- Trisia, A., Philyria, R. and Toemon, A. N., 2018, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kalanduyung (*Guazuma ulmifolia Lam.*) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan Metode Difusi Cakram (*Kirby-Bauer*), *Anterior Jurnal*, 17 (2), 136-143.
- Ulfah, S., 2016, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Rambutan (*Nephelium lappaceum Linn*) dengan Metode DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil), *Skripsi*, Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Jakarta.
- Utami, M., Widiawati, Y., and Hidayah, H. A., 2013, Keragaman dan Pemanfaatan Simplisia Nabati yang diperdagangkan di Purwokerto.
- Utami, N. A., 2017, Uji Daya Hambat Bakteriostatik dari Ekstrak Tomat (*Lycopersicon esculentum Mill*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus epidermis*, *Skripsi*, Program Studi Pendidikan Biologi, Jurusan Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta.
- Utami, Y. P., Umar, A. H., Syahrini, R., and Kadullah, I., 2017, Standardisasi Simplisia dan Ekstrak Etanol Daun Leilem (*Clerodendrum minahassae Teijsm. & Binn.*), *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences*, 2 (1), 32–39.
- Uthia, R., Arifin, H. and Efrianti, F., 2017, Pengaruh Hasil Fraksinasi Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum sanctum L.*) terhadap Aktivitas Susunan Saraf Pusat pada Mencit Putih Jantan, *Farmasi Higea*, 9 (1), 85–95.
- Utomo, S., 2016, Pengaruh Konsentrasi Pelarut (n-Heksana) terhadap Rendemen Hasil Ekstraksi Minyak Biji Alpukat untuk Pembuatan Krim Pelembab Kulit, *Jurnal Konversi*, 5 (1), 39–47.
- Wahyusi, K. N., Irnawati, N. D. and Astari, R. Z., 2020, Koefisien Perpindahan Massa Ekstraksi Flavonoid dari Buah Pare dengan Pelarut Etanol, 40-44.
- Wardhani, R. A. P. and Supartono, 2015, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Rambutan (*Nephelium lappaceum L.*) pada Bakteri, *IJCS - Indonesia Journal of Chemical Science*, 4 (1), 47–51.

- Wayahdi, M. R., 2019, Analisis Metode Bayes dalam Identifikasi Varietas Buah Rambutan, *Dalam Prosiding Seminar Nasional Teknologi Informatika*, 2, 35–41.
- Widia, L., 2017, Hubungan Antara Status Pekerjaan Ibu dengan Pemberian ASI Eksklusif pada Bayi Usia 6-12 Bulan di Bidan Praktik Mandiri (BPM) Noor Dwi Lestari Amd.Keb Desa Blok C I Madu Retno Kecamatan Karang Bintang Kabupaten Tanah Bumbu, *Jurnal Darul Azhar*, 2 (1), 40–46.
- Wijayanti, T. R. A., and Safitri, R., 2018, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi* Linn) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus* Penyebab Infeksi Nifas, *Care: Jurnal Ilmiah Ilmu Kesehatan*, 6 (3), 277–285.
- Yasi, R. M., and Harsanti, R. S., 2018, Pengaruh Variasi Konsentrasi Ekstrak Daun Kelor (*Moringa aloifera*) terhadap Kematian Larva *Aedes aegypti*, *Dalam Seminar Nasional Program Studi Agribisnis Fakultas Pertanian Universitas Jember*, 696–701.
- Yunilas, and Yusni, E., 2017, *Penuntun Praktikum (Mikrobiologi Akuatik)*, Penebar Fakultas Pertanian, Universitas Sumatera Utara.

## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Hasil Determinasi Tanaman Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.)

**PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR**  
**DINAS KESEHATAN**  
**UPT LABORATORIUM HERBAL MATERIA MEDICA BATU**  
Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396, e-mail: [materiamedicabatu@jatimprov.go.id](mailto:materiamedicabatu@jatimprov.go.id)  
**KOTA BATU 65313**

Nomor : 074/ 043/ 102.7-A/ 2021  
Sifat : Biasa  
Perihal : Determinasi Tanaman Rambutan

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : AYU NATALIA  
NIM : 1713206002  
Fakultas : FARMASI, STIKES KARYA PUTRA BANGSA TULUNGAGUNG

1. Perihal determinasi tanaman rambutan

Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)
Sub kingdom	: Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi	: Spermatophyta (Menghasilkan biji)
Divisi	: Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Sub divisi	: Angiospermae.
Kelas	: Dicotyledonae
Bangsa	: Sapindales
Suku	: Sapindaceae
Marga	: Nephelium
Jenis	: <i>Nephelium lappaceum</i> L.
Nama Umum	: Sumatera: rambutan, rambot, rambut, rambuteun, rambuta, jailan, folui, bairabit, puru biancak, p. biawak, hahujam, kakapas, likis, takujung alu. Jawa: rambutan, corogol, tundun, bunglon, buwa buluwan. Nusa Tenggara: buluan, rambuta. Kalimantan: rambutan, siban, banamon, beriti, sanggalaong, sagalong, beliti, malit, kayokan, bengayau, puson. Sulawesi: rambutan, rambuta, rambusa, barangkasa, bolangat, balatu, balatung, walatu, wayatu, wilatu, wulangas, lelamu, lelamun, toleang. Maluku: rambutan, rambuta.

Kunci Determinasi : 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14a-15b-197b-208b-219b- 220b-224b-225b-227b-229b-230a-231a-232a-1b-5a-1b.

2. Morfologi : Habitus: Pohon, tinggi ±15 m. Batang: Tegak, berkayu, bulat, percabangan simpodial, putih. Daun: Tunggal, tersebar, lonjong, tepi rata, ujung dan pangkal runcing, pertulangan menyirip, panjang 10- 20 cm, lebar 5-10 cm, tangkai silindris, hijau. Bunga: Majemuk, bentuk karang, berkelamin dua, di ujung batang, kelopak bentuk cawan, putik kecil, kepala sari butar, putih kehijauan. Buah: Buni, bulat, daging buah putih bening, kulit berambut kaku, masih muda hijau setelah tua merah atau kuning. Biji: Bulat telur, kuning. Akar: Tunggang, coklat.

3. Bagian yang digunakan : Daun.

4. Penggunaan : Penelitian

5. Daftar Pustaka

- Syamsuhidayat, Sri sugati dan Hutapea, Johny Ria. 1995. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia III*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Badan Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan.
- Van Steenis, CGGJ. 2008. *FLORA: untuk Sekolah di Indonesia*. Pradnya Paramita, Jakarta.

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

Batu, 14 Januari 2021

  
KEMENTERIAN KESEHATAN RI  
PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR  
UPT LABORATORIUM HERBAL  
MATERIA MEDICA BATU  
ACHMAD MURUR, SKM, M.Kes.  
Pembina  
NIP. 19680203 199203 1 004

**Lampiran 2. Surat Keterangan Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**



**KEMENTERIAN KESEHATAN RI**  
**DIREKTORAT JENDERAL PELAYANAN KESEHATAN**  
**BALAI BESAR LABORATORIUM KESEHATAN SURABAYA**  
 Jalan Karangmenjangan No. 18 Surabaya - 60286  
 Telepon Pelayanan : (031) 5020306, TU : (031) 5021451; Faksimili : (031) 5020388  
 Website : bbklsurabaya.id; Surat elektronik : bbklsurabaya@yahoo.co.id



---

Surabaya, 24 Maret 2021

Berikut ini lampiran surat keterangan strain bakteri yang dibeli oleh :

Nama : Monica Vabella Damayanti  
 Institusi : STIKES Karya Putra Bangsa Tulungagung  
 Tanggal permintaan : 24 Februari 2021  
 Keperluan : Penelitian Tugas Akhir  
 Keterangan dan Hasil Uji Biokimia bakteri :

Bakteri : *Staphylococcus aureus*  
 ATCC : ATCC 25923  
 Passage : #3

Hasil Uji Biokimia bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 :

No	Jenis Uji	Hasil
1	Pengecatan Gram	Gram positif coccus bergerombol
2	Glukose	Positif (+)
3	Sukrose	Positif (+)
4	Manitol	Positif (+)
5	Katalase	Positif (+)
6	Koagulase	Positif (+)
7	DNase	Positif (+)
8	Haemolisa	$\beta$ Haemolitik



Manajer Teknis  
**dr. Titiok S. M. Ked Klin, Sp.MK**  
 NIP. 198207262010122002

---



Manajemen  
 Sistem  
 ISO 9001:2015

www.nia.go.id  
 021-52000000



### Lampiran 3. Dokumentasi Penelitian

#### 1. Pembuatan ekstrak dan fraksi daun rambutan



Daun Rambutan Penimbangan Serbuk  
Simplisia

Maserasi Daun Rambutan



Remaserasi Daun Rambutan



Proses Penyaringan Ekstrak



Ekstrak Kering Daun Rambutan



Proses Fraksinasi Ekstrak dengan Pelarut *Aquadestilata* dan n-Heksan



Proses Fraksinasi Ekstrak dengan Pelarut *Aquadestilata* dan Etil Asetat

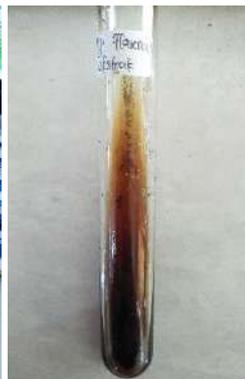


Hasil Fraksinasi

## 2. Hasil skrining fitokimia dan hasil uji bebas etanol ekstrak daun rambutan



Flavonoid



Saponin



Tanin



Bebas Etanol

### 3. Hasil skrining fitokimia fraksi daun rambutan

*Aquadestilata*

Etil Asetat

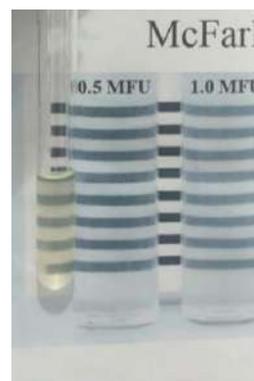


n-Heksan

### 4. Pembuatan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

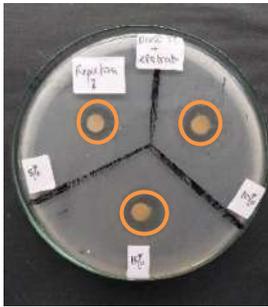


Peremajaan Bakteri

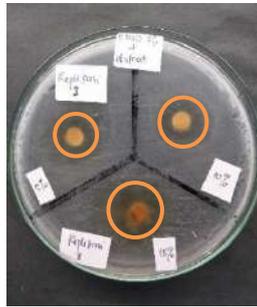


Suspensi Bakteri

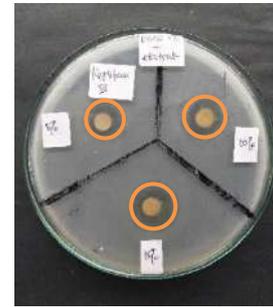
5. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak daun rambutan



Replikasi I

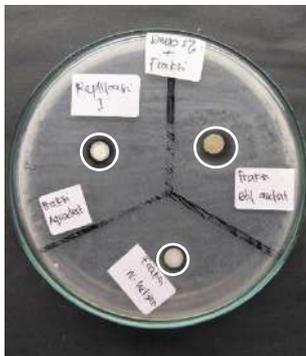


Replikasi II

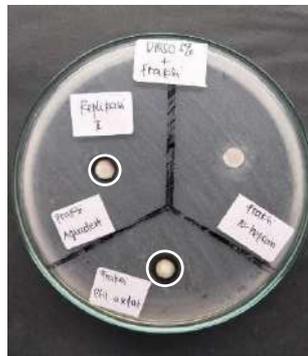


Replikasi III

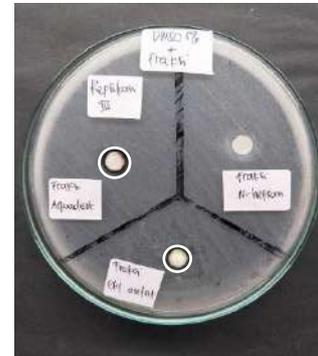
6. Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi daun rambutan



Replikasi I

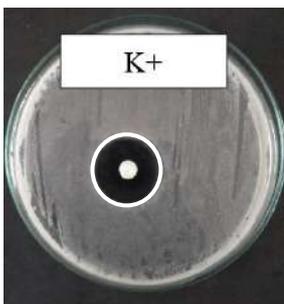


Replikasi II

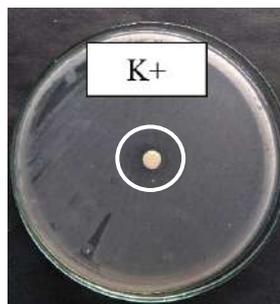


Replikasi III

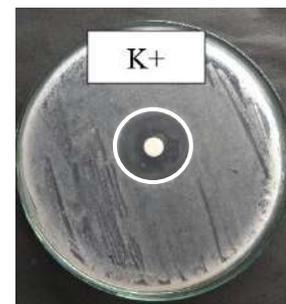
7. Hasil uji aktivitas antibakteri kontrol positif dan kontrol negatif



Replikasi I



Replikasi II



Replikasi III



Kontrol Negatif DMSO 5%

#### Lampiran 4. Perhitungan Pembuatan Media Pertumbuhan Bakteri

1. Pembuatan media *Nutrient Broth* (NB)

$$\begin{aligned} \text{Gram} &= \frac{\text{Mr}}{1000} \times \text{volume} \\ &= \frac{8}{1000} \times 10 \text{ ml} \\ &= 0,08 \text{ g} \end{aligned}$$

2. Pembuatan media *Nutrient Agar* (NA)

$$\begin{aligned} \text{Gram} &= \frac{\text{Mr}}{1000} \times \text{volume} \\ &= \frac{20}{1000} \times 15 \text{ ml} \\ &= 0,2 \text{ g} \end{aligned}$$

#### Lampiran 5. Pembuatan Seri Konsentrasi Larutan Uji

1. Konsentrasi 5% =  $\frac{5}{100} \times \text{volume}$ 

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

2. Konsentrasi 10% =  $\frac{10}{100} \times \text{volume}$ 

$$\begin{aligned} &= \frac{10}{100} \times 10 \text{ ml} \\ &= 1 \text{ g} \end{aligned}$$

3. Konsentrasi 15% =  $\frac{15}{100} \times \text{volume}$ 

$$\begin{aligned} &= \frac{15}{100} \times 10 \text{ ml} \end{aligned}$$

$$= 1,5 \text{ g}$$

### Lampiran 6. Perhitungan Hasil

#### 1. Uji kadar air serbuk simplisia

Sampel	Bobot Awal	Bobot Akhir	Hasil
Daun Rambutan ( <i>Nephelium lappaceum L.</i> )	10 g	9,16 g	8,4%

$$\begin{aligned} \text{Rumus \% kadar air} &= \frac{\text{bobot awal} - \text{bobot akhir}}{\text{bobot awal}} \times 100\% \\ &= \frac{10 \text{ g} - 9,16 \text{ g}}{10 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 8,4\% \end{aligned}$$

#### 2. Rendemen ekstrak

Sampel	Bobot Simplisia	Bobot Ekstrak	Hasil
Daun Rambutan ( <i>Nephelium lappaceum L.</i> )	500 g	38 g	7,6%

$$\begin{aligned} \text{Rumus \% rendemen ekstrak} &= \frac{\text{bobot ekstrak yang diperoleh}}{\text{bobot awal serbuk simplisia}} \times 100\% \\ &= \frac{38 \text{ g}}{500 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 7,6\% \end{aligned}$$

#### 3. Rendemen fraksi

Sampel	Bobot Ekstrak	Bobot Fraksi	Hasil
Fraksi <i>Aquadestilata</i>	5 g	3,16 g	63,2%
Fraksi Etil Asetat	5 g	0,52 g	10,4%
Fraksi n-Heksan	5 g	0,71 g	14,2%

$$\text{Rumus \% rendemen fraksi} = \frac{\text{bobot fraksi}}{\text{bobot ekstrak}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \% \text{ rendemen fraksi } \textit{aquadestilata} &= \frac{3,16 \text{ g}}{5 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 63,2\% \end{aligned}$$

$$\% \text{ rendemen fraksi etil asetat} = \frac{0,52 \text{ g}}{5 \text{ g}} \times 100\%$$

$$= 10,4\%$$

$$\% \text{ rendemen fraksi n-heksan} = \frac{0,71 \text{ g}}{5 \text{ g}} \times 100\%$$

$$= 14,2\%$$

**Lampiran 7.** Hasil uji aktivitas antibakteri orientasi ekstrak daun rambutan

Sampel	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-rata ± Standart Deviasi
	Replikasi			
	1	2	3	
Ekstrak daun rambutan 5%	9,6	10	9,6	9,73 ± 0,23
Ekstrak daun rambutan 10%	15	16	14,5	15,16 ± 0,76
Ekstrak daun rambutan 15%	13	18	16	15,66 ± 2,51
Kontrol positif kloramfenikol 1%	23	20,5	21	21,50 ± 1,32
Kontrol negatif DMSO 5%	0	0	0	0 ± 0,00

**Lampiran 8.** Hasil uji *Mann-Whitney* orientasi ekstrak daun rambutan

Analisis Uji <i>Mann-Whitney</i>					
Kelompok	Ekstrak 5%	Ekstrak 10%	Ekstrak 15%	K+	K-
Ekstrak 5%		0,046*	0,046*	0,046*	0,034*
Ekstrak 10%	0,046*		0,658	0,050*	0,037*
Ekstrak 15%	0,046*	0,658		0,050*	0,037*
K+	0,046*	0,050*	0,050*		0,037*
K-	0,034*	0,037*	0,037*	0,037*	

**Lampiran 9.** Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi daun rambutan

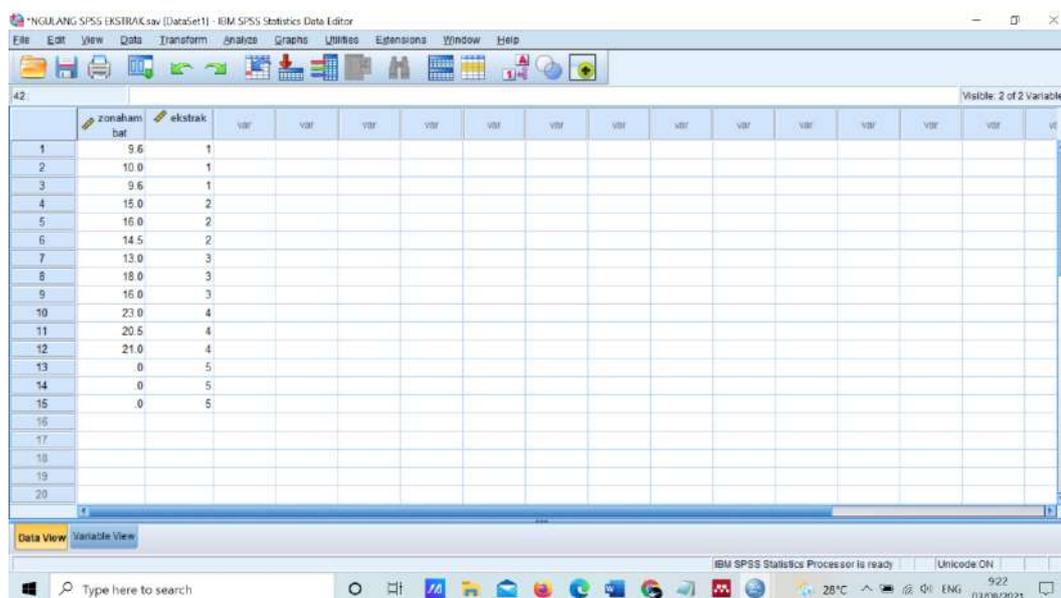
Sampel	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-rata ± Standart Deviasi
	Replikasi			
	1	2	3	
Fraksi <i>aquadestilata</i> 10%	11,5	10	10,5	10,66 ± 0,76
Fraksi etil asetat 10%	13,5	11	10,8	10,83 ± 2,75
Fraksi n-heksan 10%	9	0	0	3,00 ± 5,19
Kontrol positif kloramfenikol 1%	23	20,5	21	21,50 ± 1,32
Kontrol negatif DMSO 5%	0	0	0	0 ± 0,00

**Lampiran 10.** Hasil uji *Mann-Whitney* fraksi daun rambutan

Analisis Uji <i>Mann-Whitney</i>					
Kelompok	Fraksi n-heksan	Fraksi etil asetat	Fraksi aquadest	K+	K-
Fraksi n-heksan		0,046*	0,046*	0,046*	0,317
Fraksi etil asetat	0,046*		0,275	0,050*	0,037*
Fraksi <i>aquadest</i>	0,046*	0,275		0,050*	0,037*
K+	0,046*	0,050*	0,050*		0,037*
K-	0,317	0,037*	0,037*	0,037*	

**Lampiran 11.** Hasil analisis data orientasi ekstrak daun rambutan

1. Tabel input data



## 2. Tabel uji normalitas

		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Zona hambat	Ekstrak 5%	.385	3	.	.750	3	.000
	Ekstrak 10%	.253	3	.	.964	3	.637
	Ekstrak 15%	.219	3	.	.987	3	.780
	Kontrol positif kloramfenikol 1%	.314	3	.	.893	3	.363
	Kontrol negatif DMSO 5%	.	3	.	.	3	.

a. Lilliefors Significance Correction

Analisis:

a. Jika  $p\text{-value} > 0,05$ : Data berdistribusi normal

b. Jika  $p\text{-value} < 0,05$ : Data berdistribusi tidak normal

Kesimpulan: Berdasarkan analisis dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk* didapatkan hasil bahwa ekstrak 5% daun rambutan memperoleh nilai  $p\text{-value}$  signifikansi 0,000 ( $< 0,05$ ) sehingga dapat disimpulkan bahwa data penelitian ini berdistribusi tidak normal.

3. Tabel uji *Kruskal-Wallis*

		Ranks	
		N	Mean Rank
Zona hambat	Ekstrak 5%	3	5.00
	Ekstrak 10%	3	9.17
	Ekstrak 15%	3	9.83
	Kontrol positif kloramfenikol 1%	3	14.00
	Kontrol negatif DMSO 5%	3	2.00
	Total	15	

Test Statistics <sup>a,b</sup>	
	Zona hambat
Kruskal-Wallis	12.998
df	4
Asymp. Sig.	.011

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Ekstrak

Analisis:

a. Jika p-value > 0,05: Tidak ada perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan terhadap zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

b. Jika p-value < 0,05: Ada perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan terhadap zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Kesimpulan: Berdasarkan analisis dengan menggunakan uji *Kruskal-Wallis* didapatkan hasil signifikansi 0,011 (< 0,05) sehingga dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan terhadap zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

#### 4. Tabel uji *Mann-Whitney*

##### a. Ekstrak 5% dan ekstrak 10%

		Ranks		
		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona hambat	Ekstrak 5%	3	2.00	6.00
	Ekstrak 10%	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics <sup>a</sup>	
	Zona hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.993
Asymp. Sig. (2-tailed)	.046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: Ekstrak

b. Not corrected for ties.

## b. Ekstrak 5% dan ekstrak 15%

		<b>Ranks</b>		
	Ekstrak	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona hambatan	Ekstrak 5%	3	2.00	6.00
	Ekstrak 15%	3	5.00	15.00
	Total	6		

<b>Test Statistics<sup>a</sup></b>	
	Zona hambatan
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.993
Asymp. Sig. (2-tailed)	.046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: Ekstrak

b. Not corrected for ties.

## c. Ekstrak 5% dan kontrol positif kloramfenikol 1%

		<b>Ranks</b>		
	Ekstrak	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona hambatan	Ekstrak 5%	3	2.00	6.00
	Kontrol positif kloramfenikol 1%	3	5.00	15.00
	Total	6		

<b>Test Statistics<sup>a</sup></b>	
	Zona hambatan
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.993
Asymp. Sig. (2-tailed)	.046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: Ekstrak

b. Not corrected for ties.

## d. Ekstrak 5% dan kontrol negatif DMSO 5%

		<b>Ranks</b>		
	Ekstrak	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona hambatan	Ekstrak 5%	3	5.00	15.00
	Kontrol negatif DMSO 5%	3	2.00	6.00
	Total	6		

<b>Test Statistics<sup>a</sup></b>	
	Zona hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.121
Asymp. Sig. (2-tailed)	.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: Ekstrak

b. Not corrected for ties.

**e. Ekstrak 10% dan ekstrak 15%**

<b>Ranks</b>				
	Ekstrak	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona hambat	Ekstrak 10%	3	3.17	9.50
	Ekstrak 15%	3	3.83	11.50
	Total	6		

<b>Test Statistics<sup>a</sup></b>	
	Zona hambat
Mann-Whitney U	3.500
Wilcoxon W	9.500
Z	-.443
Asymp. Sig. (2-tailed)	.658
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.700 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: Ekstrak

b. Not corrected for ties.

**f. Ekstrak 10% dan kontrol positif kloramfenikol 1%**

<b>Ranks</b>				
	Ekstrak	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona hambat	Ekstrak 10%	3	2.00	6.00
	Kontrol positif kloramfenikol 1%	3	5.00	15.00
	Total	6		

<b>Test Statistics<sup>a</sup></b>	
	Zona hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: Ekstrak

b. Not corrected for ties.

**g.** Ekstrak 10% dan kontrol negatif DMSO 5%

		<b>Ranks</b>		
	Ekstrak	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona hambat	Ekstrak 10%	3	5.00	15.00
	Kontrol negatif DMSO 5%	3	2.00	6.00
	Total	6		

<b>Test Statistics<sup>a</sup></b>	
	Zona hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.087
Asymp. Sig. (2-tailed)	.037
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: Ekstrak

b. Not corrected for ties.

**h.** Ekstrak 15% dan kontrol positif kloramfenikol 1%

		<b>Ranks</b>		
	Ekstrak	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona hambat	Ekstrak 15%	3	2.00	6.00
	Kontrol positif kloramfenikol 1%	3	5.00	15.00
	Total	6		

<b>Test Statistics<sup>a</sup></b>	
	Zona hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: Ekstrak

b. Not corrected for ties.

i. Ekstrak 15% dan kontrol negatif DMSO 5%

		Ranks		
	Ekstrak	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona hambat	Ekstrak 15%	3	5.00	15.00
	Kontrol negatif DMSO 5%	3	2.00	6.00
	Total	6		

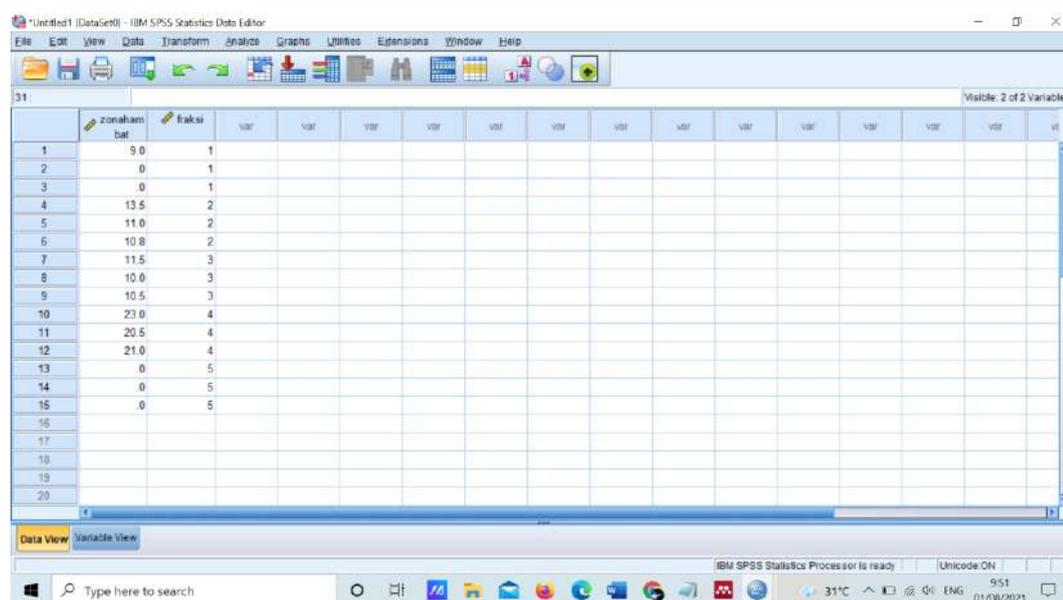
Test Statistics <sup>a</sup>	
	Zona hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.087
Asymp. Sig. (2-tailed)	.037
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: Ekstrak

b. Not corrected for ties.

## Lampiran 12. Hasil analisis data fraksi daun rambutan

### 1. Tabel input data



The screenshot shows the IBM SPSS Statistics Data Editor interface. The data table has 20 rows and 2 columns: 'zonahambat' and 'fraksi'. The data is as follows:

Row	zonahambat	fraksi
1	9.0	1
2	.0	1
3	.0	1
4	13.5	2
5	11.0	2
6	10.8	2
7	11.5	3
8	10.0	3
9	10.5	3
10	23.0	4
11	20.5	4
12	21.0	4
13	.0	5
14	.0	5
15	.0	5
16		
17		
18		
19		
20		

## 2. Tabel uji normalitas

		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Zona hambat	Fraksi n-heksan	.385	3	.	.750	3	.000
	Fraksi etil asetat	.362	3	.	.805	3	.127
	Fraksi aquadestilata	.253	3	.	.964	3	.637
	Kontrol positif kloramfenikol 1%	.314	3	.	.893	3	.363
	Kontrol negatif DMSO 5%	.	3	.	.	3	.

a. Lilliefors Significance Correction

Analisis:

a. Jika  $p\text{-value} > 0,05$ : Data berdistribusi normal

b. Jika  $p\text{-value} < 0,05$ : Data berdistribusi tidak normal

Kesimpulan: Berdasarkan analisis dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk* didapatkan hasil fraksi n-heksan signifikansi 0,000 ( $< 0,05$ ) sehingga dapat disimpulkan bahwa data penelitian ini berdistribusi tidak normal.

3. Tabel uji *Kruskal-Wallis*

		Ranks	
		N	Mean Rank
Zona hambat	Fraksi n-heksan	3	4.00
	Fraksi etil asetat	3	10.33
	Fraksi aquadestilata	3	8.67
	Kontrol positif kloramfenikol 1%	3	14.00
	Kontrol negatif DMSO 5%	3	3.00
	Total	15	

Test Statistics <sup>a,b</sup>	
	Zona hambat
Kruskal-Wallis	12.894
df	4
Asymp. Sig.	.012

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Fraksi

Analisis:

a. Jika  $p\text{-value} > 0,05$ : Tidak ada perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan terhadap zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

b. Jika  $p\text{-value} < 0,05$ : Ada perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan terhadap zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Kesimpulan: Berdasarkan analisis dengan menggunakan uji *Kruskal-Wallis* didapatkan hasil signifikansi 0,012 ( $< 0,05$ ) sehingga dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan terhadap zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

#### 4. Tabel uji *Mann-Whitney*

##### a. Fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat

		Ranks		
Zona hambat	Fraksi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	Fraksi n-heksan	3	2.00	6.00
	Fraksi etil asetat	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics <sup>a</sup>	
	Zona hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.993
Asymp. Sig. (2-tailed)	.046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 <sup>b</sup>

- a. Grouping Variable: Fraksi  
b. Not corrected for ties.

b. Fraksi n-heksan dan fraksi *aquadestilata*

		<b>Ranks</b>		
Zona	Fraksi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	Fraksi n-heksan	3	2.00	6.00
hambat	Fraksi aquadestilata	3	5.00	15.00
	Total	6		

<b>Test Statistics<sup>a</sup></b>	
	Zona hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.993
Asymp. Sig. (2-tailed)	.046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 <sup>b</sup>

- a. Grouping Variable: Fraksi  
b. Not corrected for ties.

c. Fraksi n-heksan dan kontrol positif kloramfenikol 1%

		<b>Ranks</b>		
Zona	Fraksi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	Fraksi n-heksan	3	2.00	6.00
hambat	Kontrol positif kloramfenikol 1%	3	5.00	15.00
	Total	6		

<b>Test Statistics<sup>a</sup></b>	
	Zona hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.993
Asymp. Sig. (2-tailed)	.046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 <sup>b</sup>

- a. Grouping Variable: Fraksi  
b. Not corrected for ties.

## d. Fraksi n-heksan dan kontrol negatif DMSO 5%

		<b>Ranks</b>		
Zona	Fraksi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	Fraksi n-heksan	3	4.00	12.00
hambat	Kontrol negatif DMSO 5%	3	3.00	9.00
Total		6		

<b>Test Statistics<sup>a</sup></b>	
	Zona hambat
Mann-Whitney U	3.000
Wilcoxon W	9.000
Z	-1.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	.317
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.700 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: Fraksi

b. Not corrected for ties.

## e. Fraksi etil asetat dan kontrol positif kloramfenikol 1%

		<b>Ranks</b>		
Zona	Fraksi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	Fraksi etil asetat	3	2.00	6.00
hambat	Kontrol positif kloramfenikol 1%	3	5.00	15.00
Total		6		

<b>Test Statistics<sup>a</sup></b>	
	Zona hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: Fraksi

b. Not corrected for ties.

## f. Fraksi etil asetat dan kontrol negatif DMSO 5%

		Ranks		
Zona	Fraksi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	Fraksi etil asetat	3	5.00	15.00
hambat	Kontrol negatif DMSO 5%	3	2.00	6.00
Total		6		

Test Statistics <sup>a</sup>	
	Zona hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.087
Asymp. Sig. (2-tailed)	.037
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: Fraksi

b. Not corrected for ties.

g. Fraksi *aquadestilata* dan kontrol positif kloramfenikol 1%

		Ranks		
Zona	Fraksi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	Fraksi <i>aquadestilata</i>	3	2.00	6.00
hambat	Kontrol positif kloramfenikol 1%	3	5.00	15.00
Total		6		

Test Statistics <sup>a</sup>	
	Zona hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: Fraksi

b. Not corrected for ties.

h. Fraksi *aquades tilata* dan kontrol negatif DMSO 5%

		<b>Ranks</b>		
Zona	Fraksi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
hambat	Fraksi aquadestilata	3	5.00	15.00
	Kontrol negatif DMSO 5%	3	2.00	6.00
	Total	6		

<b>Test Statistics<sup>a</sup></b>	
	Zona hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.087
Asymp. Sig. (2-tailed)	.037
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: Fraksi

b. Not corrected for ties.

## Lampiran 13. Jadwal penelitian

JADWAL KEGIATAN		Tahun 2020 Bulan Ke-					Tahun 2021 Bulan Ke-								TEMPAT	
		8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8		
1.	Pengajuan Judul	√														Stikes Kartrasa
2.	Studi Pustaka		√	√	√	√										Stikes Kartrasa
3.	Tahap Persiapan						√									
	a. Determinasi tanaman						√									UPT Materia Medica Batu
	b. Pembuatan serbuk							√								Lab Botani Kartrasa
	c. Maserasi							√								Lab Botani Kartrasa
4.	Tahap Penelitian							√								
	a. Pembuatan ekstrak							√								Lab Botani Kartrasa
	b. Pembuatan fraksi								√							Lab Botani Kartrasa
	c. Skrining fitokimia								√							Lab Botani Kartrasa
	d. Identifikasi bakteri <i>S.aureus</i>								√							Lab Mikrobiologi Kartrasa
	e. Pengujian aktivitas antibakteri									√						Lab Mikrobiologi Kartrasa
5.	Tahap Penyelesaian										√					
	a. Analisis dan pengolahan data										√					Lab Botani Kartrasa
	b. Penyusunan laporan akhir											√	√			Lab Botani Kartrasa
	c. Pengumpulan laporan akhir													√		Prodi S1 Farmasi