

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOLIK
KULIT BATANG KEPUH (*Sterculia foetida* L.)
TERHADAP *Salmonella typhi* DAN
*Staphylococcus aureus***

TUGAS AKHIR

Untuk memenuhi sebagian persyaratan sebagai
Sarjana Sains Terapan



Oleh :
Klara Cisandia Putri
06130198N

**PROGRAM STUDI D-IV ANALIS KESEHATAN
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

LEMBAR PENGESAHAN

Tugas Akhir:

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOLIK KULIT
BATANG KEPUH (*Sterculia foetida* L.)
TERHADAP *Salmonella typhi* DAN
*Staphylococcus aureus***

Oleh :
Klara Cisandia Putri
06130198N

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji
pada tanggal 20 Juli 2017

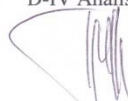
Nama	Tanda Tangan	Tanggal
Dra. Nony Puspawati, M.Si		25 . 07 . 2017
Rahmat Budi Nugroho, S.Si., M.Si		25 . 07 . 2017
Rizal Maarif Rukmana., S.Si., M.Si		26 . 07 . 2017
Guruh Sri Pamungkas, S.Pt., M.Si		29 . 07 . 2017

Mengetahui,
Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan



Prof. Dr. Marsetyawan HNES., M.Sc. Ph.D.
NIDN. 0029094802

Ketua Program Studi
D-IV Analisis Kesehatan



Tri Mulyowati, S.KM., M.Sc
NIS. 01.2011.153

LEMBAR PERSETUJUAN

Tugas Akhir:

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOLIK KULIT
BATANG KEPUH (*Sterculia foetida* L.)
TERHADAP *Salmonella typhi* DAN
*Staphylococcus aureus***

Oleh :
Klara Cisandia Putri
06130198N

Surakarta, 8 Juli 2017

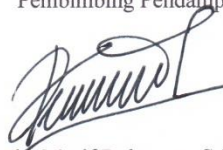
Menyetujui Untuk Ujian Sidang Tugas Akhir

Pembimbing Utama



Guruh Sri Pamungkas, S.Pt., M.Si
NIS.01201303251170

Pembimbing Pendamping



Rizal Ma'arif Rukmana, S.Si., M.Si
NIS. 01201310161180

PERSEMBAHAN

Dengan segala kerendahan dan kebanggaan ku persembahkan tugas akhir ini untuk :

1. Allah SWT dan Nabi Muhammad SAW yang telah menjadi inspirasiku.
2. Ibu dan bapakku tercinta yang telah memberikan dukungan yang luar biasa baik materi maupun nonmateri dan kasih sayang yang berlimpah untukku.
3. Teman-temanku Narinda, Lusy, Nurrita, Rosya, Aolinda, Mega, Lili, yang telah banyak membantu dalam proses penelitian hingga selesainya tugas akhir.
4. Teman-teman D-IV Analis Kesehatan yang aku sayangi, serta semua pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu untuk semua bantuan dan dukungannya.

PERNYATAAN

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

Apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian/karya ilmiah/skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, 8 Juni 2017



Klara Cisandia Putri

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas segala rahmat, hidayah dan inayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul “ **UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOLIK KULIT BATANG KEPUH (*Sterculia foetida* L.) TERHADAP *Salmonella typhi* DAN *Staphylococcus aureus* ”. Skripsi ini disusun dan diajukan Untuk memenuhi sebagian persyaratan memperoleh gelar Sarjana Sains Terapan pada Fakultas Ilmu Kesehatan di Universitas Setia Budi Surakarta.**

Semua dukungan, bimbingan dan bantuan dari berbagai pihak sangat membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi ini, maka penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA., selaku Rektor Universitas Setia Budi
2. Prof. dr. Marsetyawan HNES., M.Sc. Ph.D. selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Setia Budi Surakarta.
3. Guruh Sri Pamungkas, S.Pt, M.Si selaku pembimbing utama yang telah meluangkan waktu, perhatian dan keikhlasannya dalam memberikan ilmu dan bimbingan sehingga terselesaikannya skripsi ini.
4. Rizal Ma'arif Rukmana, S.Si, M.Si. selaku pembimbing pendamping yang telah banyak membantu penulis dalam memberikan masukan dan bimbingan dalam menyelesaikan skripsi ini.
5. Segenap dosen, karyawan dan staf laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi yang telah banyak membantu demi kelancaran skripsi ini.

6. Tim penguji skripsi, penulis mengucapkan terimakasih atas masukan, kritik dan saran dalam penyusunan skripsi ini.
7. Perpustakaan Universitas Setia Budi.
8. Kedua orang tua dan keluarga yang senantiasa memberi dukungan dan semangat.
9. Semua pihak terkait yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam menyusun skripsi ini, untuk itu kritik dan saran dari pembaca yang bersifat membangun sangat penulis harapkan. Akhirnya penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi siapa saja yang mempelajarinya.

Surakarta, Juni 2017

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL DEPAN	
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
INTISARI	xiii
ABSTRACT	xiv
BAB I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Perumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	5
D. Manfaat Penelitian	5
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	6
A. Tinjauan Pustaka	6
1. Tanaman Kepuh	6
1.1 Sistematika Tanaman	6
1.2 Deskripsi Tanaman	6
1.3 Manfaat Tanaman	7
1.4 Kandungan Kimia	7
2. Simplisia	10
3. Metode Ekstraksi	11
3.1 Pengertian	11
3.2 Metode Ekstraksi	11

3.3 Pelarut	12
4. Bakteri	13
4.1 <i>Salmonella typhi</i>	13
4.2 <i>Staphylococcus aureus</i>	16
5. Aktivitas Antibakteri	20
5.1 Pengujian Aktivitas Antibakteri	20
5.2 Metode Pengujian Aktivitas Antibakteri	20
5.3 Antibiotik	21
B. Landasan Teori	22
C. Hipotesis	25
BAB III. METODE PENELITIAN	26
A. Waktu dan Tempat penelitian	26
B. Populasi dan Sampel	26
C. Bahan dan Alat	27
D. Variabel Penelitian	28
E. Posedur Penelitian	29
F. Teknik Analisis Data	37
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	38
A. Pembuatan Simplisia.....	38
B. Ekstraksi	39
C. Isolasi dan Identifikasi <i>Salmonella typhi</i>	40
D. Isolasi dan Identifikasi <i>Staphylococcus aureus</i>	45
E. Pengujian Aktivitas Antibakteri	48
BAB V PENUTUP	55
A. Kesimpulan	55
B. Saran	55
DAFTAR PUSTAKA	56
LAMPIRAN	61

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Mikroskopis <i>Salmonella typhi</i>	41
Gambar 2. Koloni <i>Salmonella typhi</i> di media SSA.....	41
Gambar 3. Koloni <i>Salmonella typhi</i> di media BSA	42
Gambar 4. Koloni <i>Salmonella typhi</i> di media MCA.....	43
Gambar 5. Uji Biokimia <i>Salmonella typhi</i>	44
Gambar 6. Mikroskopis <i>Staphylococcus aureus</i>	45
Gambar 7. Koloni <i>Staphylococcus aureus</i> di media VJA	46
Gambar 8. Uji katalase.....	47
Gambar 9. Uji koagulase	47
Gambar 10. Uji Aktivitas Antibakteri <i>Salmonella typhi</i>	49
Gambar 11. Uji Aktivitas Antibakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	50
Gambar 12. Grafik rerata diameter zona hambat dengan konsentrasi ekstrak	51
Gambar 13. Pohon Kepuh	63
Gambar 14. Kulit Batang Kepuh	63
Gambar 15. Kulit Batang Kepuh yang sudah dikeringkan	63
Gambar 16. Serbuk Kulit Batang Kepuh	63
Gambar 17. Penampung air berskala	64
Gambar 18. Perkolasi	65
Gambar 19. Hasil Perkolasi	65
Gambar 20. Ekstrak	65
Gambar 21. Autoclave	68
Gambar 22. Konsentrasi Ekstrak	69
Gambar 23. Uji Aktivitas Antibakteri <i>Salmonella typhi</i> Pengulangan	69
Gambar 24. Uji Aktivitas Antibakteri <i>Staphylococcus aureus</i> Pengulangan	69

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Sifat Fisika dan Kimia Etanol	1
Tabel 2. Konsentrasi Ekstrak Kulit Batang Kepuh	1
Tabel 3. Kadar Air Serbuk Kulit Batang Kepuh	38
Tabel 4. Rendemen Ekstrak	39
Tabel 5. Indentifikasi Golongan senyawa	40
Tabel 6. Identifikasi <i>Salmonella typhi</i>	43
Tabel 7. Uji Biokimia <i>Salmonella typhi</i>	44
Tabel 8. Identifikasi <i>Satphylococcus aureus</i>	47
Tabel 9. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri <i>Salmonella typhi</i>	50
Tabel 10. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	51

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Desain Penelitian	61
Lampiran 2. Surat Determinasi Tanaman	62
Lampiran 3. Simplisia	63
Lampiran 4. Penentuan Kadar Air	64
Lampiran 5. Ekstrak	65
Lampiran 6. Pembuatan Media	66
Lampiran 7. Komposisi media	69
Lampiran 8. Pengujian Aktivitas Antibakteri	72
Lampiran 8. Pengolahan SPSS	73

INTISARI

Putri, Klara Cisandia. 2017. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Kulit Batang Kepuh (Sterculia foetida L.) terhadap Salmonella typhi dan Staphylococcus aureus*. Program Studi D-IV Analis Kesehatan, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Setia Budi.

Kepuh (*Sterculia foetida* L.) merupakan tanaman obat tradisional yang mengandung senyawa saponin, flavonoid, polifenol, tannin, triterpenoid, dan alkaloid. Senyawa tersebut dapat digunakan sebagai kegiatan antibakteri.

Ekstrak kulit batang kepuh diperoleh melalui metode perkolasi dengan pelarut etanol 95%. Metode pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi. Pengenceran ekstrak kulit batang kepuh dibuat dalam berbagai konsentrasi dengan menggunakan aquadest steril.

Hasil dari penelitian ini menunjukkan ekstrak kulit batang Kepuh mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*. Rerata diameter zona hambat *Salmonella typhi* pada konsentrasi ekstrak 10%, 20%, 30%, 40%, dan 50% adalah 8,00; 10,33; 12,67; 17,67; dan 20,67. Rerata diameter zona hambat *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi ekstrak 10%, 20%, 30%, 40%, dan 50% adalah 11,67; 14,67; 17,00; 18,67; dan 21,67. Diameter zona hambat yang dihasilkan memiliki perbedaan yang signifikan. Diameter zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *Staphylococcus aureus* lebih baik daripada bakteri *Salmonella typhi*.

Kata kunci : ekstrak kulit batang kepuh, antibakteri, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*

ABSTRACT

Putri, Klara Cisandia. 2017. *Antibacterial Activity Stem Bark of Sterculia foetida L. Ethanol Extract to Salmnonella typhi and Staphylococcus aureus*. D-IV Study Program of Health Analyst, Faculty of Health Sciences, Setia Budi University.

Sterculia foetida L. is a traditional medicinal plant that contain saponin, flavonoid, palyphenol, tannin, alkaloid, and triterpenoid. They can be used as an antibacterial activity.

Sterculia foetida L. stem bark extract was obtained through percolation method with 95% ethanol solvent. Antibacterial activity by diffusion method. Dilution of *Sterculia foetida* L. stem bark extract dilution was made in various concentrations using sterile aquadest.

The result showed *Sterculia foetida* L. stem bark extract had antibacterial activity against *Salmonella typhi* and *Staphylococcus aureus*. *Salmonella typhi* inhibition zone at the extract concentration 10%, 20%, 30%, 40%, and 50% are 8,00; 10,33; 12,67; 17,67; and 20,67 *Staphylococcus aureus* inhibition zone at the extract concentration 10%, 20%, 30%, 40%, and 50% are 11,67; 14,67; 17,00; 18,67; and 21,67. Inhibition zone of both has significant difference. *Staphylococcus aureus* inhibit zone is better than *Salmonella typhi*.

Keyword : *Sterculia foetida* L. stem bark extract, antibacterial, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*

BAB I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Tumbuhan adalah sumber fitokimia yang memiliki sejuta manfaat termasuk untuk obat berbagai penyakit. Pemanfaatan tanaman sebagai obat sudah dimulai sejak abad ke 19. Tanaman yang bisa digunakan sebagai bahan baku obat tradisional tersebut tersebar hampir di seluruh wilayah Indonesia. Spesies tumbuhan di hutan tropis Indonesia sebanyak 30.000 dan 9.600 spesies diketahui berkhasiat obat (Herbie, 2015).

Pengetahuan tentang tanaman berkhasiat obat sudah lama dimiliki oleh nenek moyang dan hingga sekarang banyak yang terbukti secara ilmiah. Tanaman obat dibuat ramuan jamu-jamuan yang masih diyakini sebagai obat mujarab (Nurrani, 2013). Istilah yang biasa digunakan untuk bahan obat adalah simplisia. Simplisia adalah bahan alami yang digunakan untuk obat dan belum mengalami perubahan proses apapun dan umumnya berupa bahan yang dikeringkan (Herbie, 2015).

Kepuh (*Sterculia foetida* L.) merupakan tanaman obat tradisional untuk dioleskan pada luka yang memiliki kandungan *phenolic* untuk kegiatan antibakteri dan antimikroba (Shivarkumar dan Vidyasagar, 2014). Tanaman Kepuh diketahui mengandung senyawa kimia seperti saponin, flavonoid, polifenol, tannin, dan triterpenoid. Triterpenoid memiliki aktivitas antijamur, antibakteri, antivirus, kerusakan hati, gangguan menstruasi, dan dapat mengatasi penyakit diabetes (Asih *et al.*, 2010).

Salmonella typhi dan *Salmonella paratyphi* adalah bakteri gram negatif dan dapat menyebabkan demam tifoid. Demam tifoid dikarakteristikkan dengan demam panjang, splenomegali, delirium, nyeri abdomen, dan manifestasi sistemik lainnya. Penyakit tifoid adalah suatu penyakit sistemik dan memberikan gejala primer yang berhubungan dengan traktus gastrointestinal. Sumber organisme ini biasanya adalah makanan terkontaminasi. *Salmonella typhi* menyebar melalui aliran darah kemudian bersarang di sistem retikuloendotelial, menyebabkan hiperplasia, pada *lymph nodes* dan *Payer patches* di dalam usus halus. Pembesaran yang progresif dan ulserasi dapat menyebabkan perforasi usus halus atau perdarahan gastrointestinal. Pilihan obat adalah klorampenikol 500 mg 4 kali sehari selama 2 minggu (Zein *et al.*, 2004).

Staphylococcus aureus adalah bakteri berbentuk kokus tergolong dalam bakteri Gram positif yang bersifat fakultatif anaerob dan dikenal sebagai bakteri flora normal pada kulit, mulut, dan mukosa hidung manusia (Pristianingrum *et al.*, 2012). *Staphylococcus aureus* merupakan organisme paling umum menyebabkan infeksi pada aliran darah (Patil dan Pratibha, 2016). Penyakit yang ditimbulkan oleh *Staphylococcus aureus* mulai dari gangguan saluran cerna dan keracunan makanan akibat toksin yang dihasilkan (Zein, 2004). *Staphylococcus aureus* juga dapat menimbulkan infeksi kulit yang ringan, hingga infeksi berat seperti bakterimia, osteomielitis, endokarditis dan infeksi paru yang mengancam jiwa (Brooks *et al.*, 2010).

Resistensi bakteri terhadap antibiotik dapat diakibatkan dari pemakaian antibiotik dalam jangka waktu yang relatif lama dan terus menerus sehingga

dimungkinkan bakteri tersebut dapat membentuk mekanisme pertahanan diri apabila nantinya akan diserang oleh antibiotik yang sama. Penggunaan antibiotik yang baru atau jarang digunakan dalam pengobatan, bakteri akan memerlukan waktu yang lama untuk membuat mekanisme pertahanan terhadap antibiotik yang baru sehingga antibiotik tersebut tergolong masih sensitif (Sulistyaningsih *et al.*, 2014).

Menurut Mari *et al.*, (2016) kulit batang Kepuh (*Sterculia foetida* L.) diketahui memiliki kandungan senyawa seperti steroid, saponin, flavonoid, tannin, triterpenoid, dan alkaloid. Kulit batang Kepuh yang diekstrak dengan etanol mengandung saponin, flavonoids, tannin dan alkaloid. Senyawa saponin dapat melakukan mekanisme penghambatan dengan membentuk senyawa kompleks dengan membran sel melalui ikatan hidrogen, sehingga dapat menghancurkan sifat permeabilitas dinding sel (Mahanani *et al.*, 2012).

Senyawa fenol dan senyawa fenolik derivatnya juga dapat menimbulkan denaturasi protein yang terdapat pada dinding sel sehingga dapat merusak susunan dan merubah mekanisme permeabilitas dari mikrosom, lisosom, dan dinding sel (Erianti *et al.*, 2015). Senyawa tannin adalah senyawa astrigent yang memiliki rasa pahit dari gugus polifenol yang dapat mengikat dan mengendapkan atau menyusutkan protein. Asam *tannic* dapat berfungsi sebagai agen antimikroba alami, tetapi tidak aktif terhadap spektrum yang luas dari jamur dan bakteri (Ismarani, 2012). Alkaloid sebagai antibakteri yaitu dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel (Ningsih *et al.*, 2016).

Shivarkumar dan Vidyasagar (2014) mengemukakan bahwa ekstrak dari daun Kepuh dapat menghambat pertumbuhan bakteri seperti *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, dan *Echerichia coli*.

Berdasarkan uraian tersebut, penulis mencoba melakukan penelitian untuk mengetahui adanya aktivitas daya hambat ekstrak kulit batang Kepuh (*Sterculia foetida* L.) terhadap bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*. Hal ini penting untuk memberikan pengetahuan lebih untuk bahan obat dari tanaman.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut:

1. Apakah ada aktivitas antibakteri ekstrak etanolik kulit batang Kepuh (*Sterculia foetida* L.) terhadap bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*?
2. Bagaimana perbedaan diameter zona hambat ekstrak etanolik kulit batang Kepuh (*Sterculia foetida* L.) terhadap bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk:

1. Mengetahui ada tidaknya aktivitas antibakteri ekstrak etanolik kulit batang Kepuh (*Sterculia foetida* L.) terhadap bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*.

2. Mengetahui perbedaan diameter zona hambat ekstrak etanolik kulit batang Kepuh (*Sterculia foetida* L.) terhadap bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*.

D. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini untuk :

1. Peneliti

Memberikan informasi tentang aktivitas antibakteri ekstrak kulit batang Kepuh (*Sterculia foetida* L.) terhadap *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*.

2. Ilmu Pengetahuan

Pengembangan ilmu pengetahuan dalam pemanfaatan kulit batang Kepuh (*Sterculia foetida* L.) sebagai antibakteri guna peningkatan pelayanan kesehatan masyarakat khususnya di bidang obat tradisional.

3. Masyarakat

Memberikan uraian informatif kepada masyarakat tentang pemanfaatan kulit batang Kepuh (*Sterculia foetida* L.) sebagai antibakteri terhadap *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Pustaka

1. Tanaman Kepuh

1.1 Sistematika Tanaman

Sistematika tanaman *Sterculia foetida* L. menurut National Plant Database (2003) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Subkingdom : Tracheobiota
Superdivision : Spermatophyta
Division : Magnoliophyta
Class : Magnoliopsida
Subclass : Dilleniidae
Order : Malvales
Family : Sterculiaceae
Genus : *Sterculia*
Species : *Sterculia foetida* L.

1.2 Deskripsi Tanaman

Kepuh (*Sterculia foetida* L.) merupakan tanaman berupa pohon dengan tinggi mencapai 40 m dan diameter antara 90-120 cm. Tanaman Kepuh merupakan pohon yang tinggi dan lurus, bercabang banyak dan bentuk percabangannya simpodial seperti halnya karakter dari genus-genus pohon tropis lainnya. Susunan percabangan Kepuh mempunyai kemiripan dengan percabangan

terminalia bertingkat. Cabang-cabang tumbuh mendatar dan berkumpul pada ketinggian yang kurang lebih sama, bertingkat-tingkat. Daun berbentuk majemuk menjari, mempunyai tangkai 12,5-23 cm, terkumpul diujung ranting. Anak daun berjumlah 7-9, berbentuk jorong lonjong dengan ujung dan pangkal meruncing, panjang 10-17 cm. Bunganya berkelamin satu, berumah satu biasanya terdapat pada ketiak daun yang masih muda dan mengeluarkan bau busuk. Bentuk bunga majemuk tersusun dalam mulai dekat ujung ranting, panjang 10-15 cm, hijau atau ungu pudar dengan kelopak yang berbagi 5 laksana mahkota, taju hingga 1,3 cm, berwarna jingga (Maryanti dan Rina, 2014).

1.3 Manfaat Tanaman

Tanaman Kepuh mempunyai cukup banyak manfaat, bagian tanaman yang paling banyak digunakan dalam pengobatan adalah kulit batang yang digunakan sebagai obat oles. Daun Kepuh untuk mempermudah keluarnya keringat, peluruhan kencing, obat TBC, radang selaput lendir mata, rematik, dan kepala pusing. Ekstrak daunnya dapat diminum untuk mengobati demam serta memiliki aktivitas antiinflamatori dan analgesik. Bagian yang lain seperti kulit batang, buah, dan biji dapat digunakan sebagai obat sakit perut, penggugur (abortivum), batuk, borok, kudis, kencing nanah, dan raja singa (Asih, 2010).

1.4 Kandungan Kimia

Tanaman Kepuh diketahui mengandung senyawa kimia seperti saponin, flavonoid, polifenol, tannin, dan triterpenoid (Mari *et al.*, 2016).

1.4.1 Saponin

Saponin adalah glikosida yang aglikonnya berupa sapogenin. Saponin dapat dideteksi dengan pembentukan larutan koloidal dengan air yang apabila digojog menimbulkan buih yang stabil (Gunawan dan Mulyani, 2004). Senyawa saponin dapat melakukan mekanisme penghambatan dengan membentuk senyawa kompleks dengan membran sel melalui ikatan hidrogen, sehingga dapat menghancurkan sifat permeabilitas dinding sel dan akhirnya dapat menimbulkan kematian sel (Mahanani *et al.*, 2012).

1.4.2 Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa golongan fenol yang aktif. Senyawa fenol dan senyawa fenolik derivatnya juga dapat menimbulkan denaturasi protein yang terdapat pada dinding sel sehingga dapat merusak susunan dan merubah mekanisme permeabilitas dari mikrosom, lisosom, dan dinding sel (Erianti *et al.*, 2015).

1.4.3 Polifenol

Polifenol merupakan bahan polimer penting dalam tanaman dan cenderung mudah larut dalam air karena berikatan dengan gula sebagai glikosida. Antioksidan polifenol memiliki aktivitas biologis sebagai penangkap radikal bebas sehingga dapat dimanfaatkan sebagai obat untuk melawan penyakit yang disebabkan oleh radikal bebas seperti kanker (Hernani dan Raharjo, 2005).

1.4.4 Tannin

Senyawa tannin adalah senyawa astrigent yang memiliki rasa pahit dari gugus polifenol yang dapat mengikat dan mengendapkan atau menyusutkan

protein. Zat astrigent dari tannin menyebabkan rasa kering dan *puckery* (kerutan) di dalam mulut setelah mengonsumsi teh pekat, anggur merah atau buah yang mentah. Tannin bertindak seperti asam ringan berdasarkan banyak gugus -OH fenolik. Asam *tannic* adalah bentuk paling sederhana dari *hydrolysable* tannin. Salah satu sifat paling penting dari tannin dan asam *tannic* adalah kemampuannya untuk membentuk kompleks chelat dengan ion logam. Asam *tannic* dapat berfungsi sebagai agen antimikroba alami, tetapi tidak aktif terhadap spektrum yang luas dari jamur dan bakteri (Ismarani, 2012).

1.4.5 Triterpenoid.

Triterpenoid merupakan famili terbesar ketiga dari tripenoid. Senyawa tripenoid diklasifikasikan ke dalam 4 golongan besar yaitu triterpena dan steroid beserta glikosida dari keduanya (Saleh, 2007). Senyawa-senyawa golongan triterpenoid diketahui memiliki aktivitas fisiologis tertentu, seperti antijamur, antibakteri, antivirus, kerusakan hati, gangguan menstruasi, dan dapat mengatasi penyakit diabetes (Asih *et al.*, 2010). Mekanisme triterpenoid sebagai antibakteri adalah bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri dan mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (Mahanani, 2012).

1.4.6 Alkaloid

Mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri yaitu dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel. Komponen pada alkaloid diketahui sebagai interkelator DNA dan menghambat enzim topoisomerase sel bakteri (Ningsih *et al.*, 2016).

2. Simplisia

Simplisia adalah bahan alami yang digunakan untuk obat dan belum mengalami perubahan proses apa pun dan umumnya berupa bahan yang telah dikeringkan (Herbie, 2015). Simplisia berdasarkan bahan bakunya dapat diperoleh dari tanaman liar atau dari tanaman yang dibudidayakan. Simplisia diambil dari tanaman budi daya maka keseragaman umur, masa panen dan galur (asal-usul garis keturunan) tanaman dapat dipantau. (Depkes, 1985). Pencucian simplisia dilakukan untuk membersihkan kotoran yang melekat, terutama bahan-bahan yang berasal dari dalam tanah dan juga bahan-bahan yang tercemar pestisida (Gunawan dan Mulyani, 2004).

Pengeringan simplisia ada dua metode yaitu pengeringan alami dan cara buatan. Pengeringan alami dengan cara mengeringkan simplisia di bawah sinar matahari atau tanpa sinar matahari dengan cara diangin-anginkan. Pengeringan buatan adalah pengeringan dengan menggunakan suatu alat pengeringan, suhu kelembaban, tekanan, dan aliran udara dapat diatur (Winangsih *et al.*, 2013).

3. Metode Ekstraksi

3.1 Pengertian

Penyari atau ekstraksi adalah penarikan zat pokok yang diinginkan dari bahan mentah obat dengan menggunakan pelarut yang dipilih, dimana zat yang diinginkan larut. Bahan mentah obat yang berasal dari tanaman atau hewan tidak perlu diproses lebih lanjut kecuali dikumpulkan dan dikeringkan. Hasil ekstraksi dinamakan ekstrak. Ekstrak merupakan sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai (Ansel, 1989).

3.2 Metode Ekstraksi

Metode ekstraksi dalam penelitian ini menggunakan metode perkolasi. Metode perkolasi adalah cara ekstraksi yang dilakukan dengan mengalirkan cairan penyari melalui simplisia yang telah dibasahi. Perkolasi dibuat dengan menempatkan serbuk simplisia dalam suatu bejana silinder yang bagian bawahnya diberi sekat berpori. Cairan penyari dialirkan dari atas ke bawah melalui serbuk tersebut, cairan penyari akan melarutkan zat aktif sel-sel yang dilalui sampai mencapai keadaan jenuh. Gerak ke bawah disebabkan oleh kekuatan gaya beratnya sendiri dan cairan di atasnya, dikurangi dengan daya kapiler yang cenderung untuk menahan. Kekuatan yang berperan pada perkolasi yaitu gaya berat, daya larut, kekentalan, tegangan permukaan, osmosis, difusi, adhesi, daya kapiler, dan daya geseran (friksi) (Depkes, 1986).

Proses perkolasi terdiri dari 3 tahapan, yaitu: pengembangan bahan, tahap maserasi antara, dan tahap perkolasi sebenarnya (penetesan/penampungan

ekstrak) yang dilakukan terus menerus sampai diperoleh ekstrak/perkolat yang jumlahnya 1-5 kali dari volume bahan (Perwita, 2011).

3.3 Pelarut

Pelarut sangat mempengaruhi proses ekstraksi. Faktor yang mempengaruhi pemilihan pelarut antara lain: selektivitas, titik didih pelarut, pelarut tidak larut dalam air, pelarut bersifat inert, harga pelarut semurah mungkin, dan pelarut mudah terbakar. Pelarut minyak atau lemak yang biasa digunakan dalam proses ekstraksi antara lain: etanol, n-heksana, isopropanol, etyl asetat, aseton, dan metanol. (Susanti *et al.*, 2012).

Pelarut yang digunakan pada penelitian ini adalah etanol. Etanol termasuk pelarut universal. Etanol disebut juga etil alkohol yang di pasaran lebih dikenal sebagai alkohol merupakan senyawa organik dengan rumus kimia C_2H_5OH . Kondisi suhu ruang etanol berwujud cairan yang mudah menguap, mudah terbakar, dan tak berwarna (Munawaroh dan Prima, 2010). Penggunaan pelarut etanol dikarenakan etanol sebagai pelarut organik universal yang aman dan diharapkan dapat menarik senyawa polar, semi polar ataupun non polar (Febriani *et al.*, 2015).

Tabel 1. Sifat Fisika dan Kimia Etanol

Karakteristik	Syarat
Rumus molekul	C ₂ H ₅ OH
Bobot molekul	46,07 gram/mol
Wujud	Cair
Titik lebur	-114,3 ⁰ C
Titik didih	78,32 ⁰ C
Densitas pada 20 ⁰ C	0,7893 gr/ml
Kelarutan dalam air	Sangat larut
Viskositas pada 20 ⁰ C	1,17 cP
Kalor spesifik pada 20 ⁰ C	0,579 kal/g ⁰ C

(Sumber: Munawaroh dan Prima, 2010)

4. Bakteri

4.1 *Salmonella typhi*

4.1.1 Klasifikasi

Irianto (2014) mengemukakan bahwa berdasarkan tingkatan taksonominya, *Salmonella typhi* digolongkan dalam:

Kingdom	: Bacteria
Divisio	: Proteobacteria
Class	: Gamma Proteobacteria
Ordo	: Eubacteriales
Sub Ordo	: Eubacteriaceae
Famili	: Enterobacteriaceae
Genus	: Salmonella
Spesies	: <i>Salmonella typhi</i>

4.1.2 Kultur

Salmonella typhi dapat tumbuh pada media sederhana dan hampir tidak memfermentasi laktosa dan sukrosa, dapat membentuk asam dan gas dari glukosa dan manosa. *Salmonella typhi* biasanya memproduksi hidrogen sulfida (H₂S). Media SSA yang digunakan untuk menumbuhkan *Salmonella typhi* akan menghasilkan koloni dengan pusat hitam dan tepian jelas transparan atau tidak berwarna biasa disebut koloni mata ikan (Aminollah, 2016). Suhu pertumbuhan optimum untuk bakteri ini yaitu 37⁰C dengan pH media 6-8 (Radji, 2011).

4.1.3 Patogenitas

Bakteri *Salmonella typhi* bersifat patogen bagi manusia atau hewan. *Salmonella* ditularkan dari hewan dan produk hewani ke manusia yang menyebabkan enteritis, infeksi sistemik, dan demam enterik. *Salmonella typhi* memiliki panjang yang bervariasi, sebagian besar isolat bersifat motil dengan flagela peritrik. *Salmonella typhi* mudah tumbuh pada medium sederhana, tetapi hampir tidak pernah memfermentasi laktosa atau sukrosa. Bakteri *Salmonella typhi* membentuk asam dan terkadang membentuk gas dari glukosa dan manosa. *Salmonella typhi* dapat bertahan hidup pada air yang beku dalam periode yang lama (Brooks *et al.*, 2010).

Salmonella typhi menyebabkan demam enterik (demam tifoid). Penularan tifoid dapat melalui banyak cara, yang dikenal dengan 5 F yaitu Food (makanan), Fingers (jari tangan/kuku), Fomitus (muntah), Fly (lalat), dan Feces (Zulkoni, 2011). Organisme masuk melalui jalur oral, biasanya melalui makanan atau minuman yang terkontaminasi. Dosis infeksi rata-rata untuk menghasilkan infeksi

klinis pada manusia adalah 10^3 . Faktor pada pejamu yang berperan dalam perlawanan infeksi *Salmonella typhi* antara lain: asam lambung, flora mikroba usus normal, dan imunitas lokal pada usus (Brooks *et al.*, 2010).

Salmonella typhi yang tertelan akan mencapai usus halus, dari usus halus *Salmonella typhi* menembus mukosa epitel usus, berkembang biak di lamina propina kemudian masuk ke dalam kelenjar getah bening mesenterium dan masuk ke peredaran darah yang disebut bakterimia (Cita, 2011). Periode inkubasi selama 10-14 hari akan timbul demam, malaise, sakit kepala, konstipasi, bradikardia, dan mialgia. Demam mencapai plato yang tinggi, serta limpa dan hepar membesar. *Rose spots* dapat timbul di kulit perut atau dada meskipun jarang. Hitung leukosit normal atau rendah (Brooks *et al.*, 2010).

4.1.4 Struktur dan Tipe Antigen

Menurut Radji (2011) *Salmonella* mempunyai tiga jenis antigen utama yaitu:

a. Antigen somatik atau antigen O

Antigen somatik atau antigen O merupakan bagian dinding sel bakteri yang tahan terhadap pemanasan 100^0C , asam, dan alkohol. Struktur antigen somatik mengandung lipopolisakarida, beberapa diantaranya juga mengandung jenis gula spesifik. Ig M merupakan antibodi yang terbentuk terhadap antigen O.

b. Antigen flagel atau antigen H

Antigen flagel atau antigen H mengandung beberapa unsur imunologik. Ig G akan terbentuk terhadap antigen H. Antigen H akan ditemukan pada *Salmonella*

dalam 2 fase, yaitu fase spesifik dan fase tidak spesifik. Antigen H dapat rusak karena asam, alkohol, dan pemanasan di atas 60°C.

c. Antigen Vi atau antigen kapsul

Antigen Vi atau antigen kapsul adalah polimer polisakarida bersifat asam yang terdapat dibagian luar dari badan bakteri. Antigen Vi dapat rusak karena pemanasan di atas 60°C selama 1 jam, asam, dan fenol dapat merusak antigen Vi.

4.2 *Staphylococcus aureus*

4.2.1 Klasifikasi

Staphylococcus aureus adalah sel sferis berdiameter sekitar 1 µm tersusun dari kelompok ireguler. Kokus tunggal, berpasangan, berempatan, dan membentuk rantai juga tampak pada kultur likuid. Stafilocok bersifat nonmotil dan tidak membentuk spora (Brooks *et al.*, 2010). Menurut Todar (2012), klasifikasi *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Bactericeae
Phylum	: Firmicutes
Class	: Bacili
Ordo	: Bacilliales
Family	: Staphylococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Species	: <i>Staphylococcus aureus</i>

4.2.2 Kultur

Staphylococcus aureus tumbuh dengan mudah pada sebagian besar media bakteriologis dengan kondisi anaerob atau mikroaerofilik. Tumbuh paling cepat

pada 37⁰C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada temperatur ruang (20-25⁰C). Koloni pada media solid berbentuk bulat, halus, timbul, dan mengkilat. *Staphylococcus aureus* biasanya membentuk koloni berwarna abu-abu hingga kuning emas pekat. *Staphylococcus aureus* menghasilkan berbagai tingkat hemolisis (Brooks *et al.*, 2010)

4.2.3 Patogenesis

Staphylococcus aureus merupakan salah satu penyebab infeksi serius. Infeksi nosokomial *Staphylococcus aureus* mempengaruhi aliran darah, kulit, jaringan lunak, dan saluran pernapasan bagian bawah. *Staphylococcus aureus* bisa mengakibatkan bakterimia terkait dengan kateter urin dan infus. Pasien rawat inap memiliki risiko tinggi terinfeksi *Staphylococcus aureus* (Plata *et al.*, 2009).

4.2.4 Enzim dan Toksin

Brooks *et al.*, (2010) mengatakan bahwa stafilokok dapat menimbulkan penyakit melalui dua hal yaitu kemampuan bermultiplikasi dan menyebar luas dalam jaringan dan melalui produksi banyak zat ekstra seluler, seperti:

a. Katalase

Staphylococcus menghasilkan katalase yang mengubah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen. Uji katalase membedakan *Staphylococcus* yang positif dari *Streptococcus* yang negatif.

b. Koagulase

Staphylococcus aureus menghasilkan koagulase, protein yang menyerupai enzim yang membekukan plasma beroksalat atau bersitrat. Koagulase terikat pada protrombin yang bersama-sama secara enzimatis menjadi aktif dan memulai

polimerisasi fibrin. Koagulase mungkin mendeposit fibrin pada permukaan stafilokok, mengubah ingestinya oleh sel fagosit atau destruksinya di dalam sel. Produksi koagulase dianggap sinonim dengan potensi patogenik infasif.

c. Enzim lainnya

Enzim lain yang dihasilkan stafilokok adalah hialuronidase atau faktor penyebar, stafilokinase yang mengakibatkan fibrinolisis, tetapi bekerja jauh lebih lambat dari pada streptokinase, proteinase, lipase, dan laktamase- β .

d. Eksotoksin

Toksin- α adalah protein heterogen yang bekerja pada spektrum luas membran sel eukariot. Toksin- α merupakan hemolisin protein. Protein- β mendegradasi sfingomielin dan bersifat toksik untuk banyak jenis sel, termasuk sel darah merah manusia. Toksin- β bersifat heterogen dan mengalami disosiasi menjadi subunit-subunit di dalam detergen nonionik. Toksin ini merusak membran biologi dan mungkin mempunyai peran pada penyakit diare *Staphylococcus aureus*. Hemolisin γ merujuk pada tiga protein yang berinteraksi dengan dua protein yang menyusun leukosidin Panton-Valentin untuk membentuk enam toksin dua komponen yang potensial. Keenam toksin protein ini mampu secara efisien melisis sel darah putih dengan menimbulkan pembentukan pori pada membran sel yang meningkatkan permeabilitas kation. Hal ini menyebabkan pelepasan masif mediator inflamasi seperti IL-8, leukotrien, dan histamin yang bertanggung jawab atas inflamasi berat dan nekrosis.

e. Leukosidin panton-valentine

Toksin ini mempunyai dua komponen yang disebut sebagai S dan F bekerja secara sinergis pada membran sel darah putih. Toksin ini merupakan faktor virulensi penting dalam infeksi *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap metisilin yang berhubungan dengan komunitas.

f. Toksin eksfoliatif

Toksin epidermolitik *Staphylococcus aureus* ini adalah dua protein berbeda dengan berat molekul yang sama. Toksin A epidermolitik merupakan suatu produk gen kromosom dan bersifat stabil panas (tahan pendidihan selama 20 menit). Toksin B epidermolitik diperantarai oleh plasmid dan labil panas. Toksin epidermolitik menimbulkan deskuamasi generalisata pada sindrom kulit lepuh stafilokok dengan cara melarutkan matriks mukopolisakarida epidermis. Toksin ini adalah antigen super.

g. Toksin sindrom syok toksik

Staphylococcus aureus yang diisolasi dari pasien sindrom syok toksik sebagian besar menghasilkan toksin yang disebut toksin-1 sindrom syok toksik (*toxic shock syndrome toxin-1*, TSST-1) yang sama dengan enterotoksin F. TSST-1 adalah antigen super prototipe TSST-1 terikat pada molekul MHC kelas II, menghasilkan stimulasi sel T, yang meningkatkan manifestasi yang berubah-ubah pada sindrom syok toksik. Toksin berkaitan dengan demam, syok, dan keterlibatan multi sistem, termasuk ruam kulit deskuamatif. Gen untuk TSST-1 ditemukan pada sekitar 20% isolat *Staphylococcus aureus*, termasuk MRSA.

h. Enterotoksin

Salah satu enterotoksi yang dapat dihasilkan *Staphylococcus aureus* adalah TSST-1. Enterotoksin merupakan antigen super. Enterotoksin bersifat stabil panas dan resisten terhadap kerja enzim usus. Enterotoksin dihasilkan ketika *Staphylococcus aureus* tumbuh pada makanan mengandung karbohidrat dan protein menyebabkan keracunan makanan. Ingesti 25 µg enterotoksin B menimbulkan muntah dan diare. Efek muntah enterotoksin kemungkinan disebabkan oleh stimulasi saraf pusat sesudah toksin bekerja pada resptor saraf di usus.

Gen toksin eksfoliatif, TSST-1, dan gen enterotoksin berada pada suatu elemen kromosom yang disebut pulau patogenitas. Gen berinteraksi dengan elemen genetik asesoris bakteriofag untuk menghasilkan toksin.

5. Aktivitas Antibakteri

5.1 Pengujian Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas bakteri digunakan untuk mengukur respon pertumbuhan populasi bakteri terhadap zat antimikroba yang diujikan agar mendapatkan pengobatan yang efektif dan efisien (Pratiwi, 2008). Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan dua metode yaitu dilusi dan difusi (Brooks *et al.*, 2012). Metode dilusi dilakukan dengan mengukur Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) atau Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM). Metode difusi dilakukan dengan cakram kertas, sumuran, dan silinder (Pratiwi, 2008).

5.2 Metode Pengujian Aktivitas Antibakteri

Menurut Rostinawati (2009) sensitivitas bakteri terhadap antibakteri ditentukan oleh diameter zona hambat. Teknik pada metode difusi agar sebagai berikut:

a. Teknik Cakram Kertas

Teknik cakram kertas adalah metode yang paling sering digunakan. Medium agar dalam cawan petri diinokulasikan dengan bakteri uji kemudian diletakkan cakram kertas yang telah ditambahkan zat uji ke dalam agar dan diinkubasi, jika terdapat aktivitas antibakteri dari zat uji akan terlihat zona inhibisi disekeliling kertas cakram.

b. Teknik Sumuran

Agar padat yang telah diinokulasi bakteri dibuat lubang yang jumlah dan letaknya disesuaikan dengan tujuan penelitian. Zat uji diinjeksikan ke lubang kemudian diinkubasi. Aktivitas antibakteri dari zat uji akan terlihat zona inhibisi disekeliling lubang.

c. Teknik Silinder

Silinder gelas diletakkan pada permukaan agar yang telah diinokulasi dengan bakteri. Zat uji dimasukan ke dalam silinder kemudian diinkubasi. Aktivitas antibakteri dari zat uji akan terlihat zona bening disekitar silinder.

5.3 Antibiotik

Antibiotik merupakan bahan kimiawi yang dihasilkan oleh organisme seperti bakteri dan jamur yang dapat mengganggu mikroorganisme lain. Antibiotik ini dapat membunuh bakteri (bakterisidal) atau menghambat

pertumbuhan bakteri (bakteriostatik) atau mikroorganisme lain. Antibiotik terbagi menjadi dua yaitu bersifat aktif terhadap beberapa spesies bakteri (berspektrum luas) dan bersifat lebih spesifik terhadap spesies bakteri tertentu (berspektrum sempit) (Tjay dan Raharja, 2002).

Kemampuan beberapa antibiotik seperti kloramfenikol dan tetrasiklin menghambat pertumbuhan berbagai bakteri menunjukkan bahwa kloramfenikol dan tetrasiklin masuk ke antibiotik spektrum luas. Sebutan spektrum didasarkan pada efektifitas klinis dari antibiotik terhadap mikroorganisme (Beale dan John, 2011).

B. Landasan Teori

Tanaman Kepuh (*Sterculia foetida* L.) memiliki banyak kegunaan dari tiap bagiannya. Kulit pohon dan daun dapat digunakan sebagai obat beberapa penyakit seperti *rheumatic*, *diuretic*, dan *diaphoretic* (Maryanti dan Rina, 2014). Tanaman Kepuh diketahui mengandung senyawa kimia yaitu saponin, flavonoid, polifenol, tannin, dan triterpenoid (Mahanani, 2012).

Simplisia adalah bahan alami yang digunakan untuk obat dan belum mengalami perubahan proses apa pun dan umumnya berupa bahan yang telah dikeringkan (Herbie, 2015). Simplisia diperoleh dari tanaman liar atau tanaman budidaya, lebih baiknya mengambil tanaman budi daya (Depkes, 1985). Simplisia dicuci dahulu sebelum dilakukan penyarian untuk membersihkan kotoran dan kemudian dikeringkan (Gunawan dan Mulyani, 2004).

Penyari atau ekstraksi adalah penarikan zat pokok yang diinginkan dari bahan mentah obat dengan menggunakan pelarut yang dipilih, dimana zat yang diinginkan larut dan hasil ekstraksi disebut ekstrak (Ansel, 1989). Metode ekstraksi yang dipakai yaitu perkolasi. Metode perkolasi adalah cara ekstraksi yang dilakukan dengan mengalirkan cairan penyari melalui simplisia yang telah dibasahi (Depkes, 1986). Proses perkolasi terdiri dari 3 tahapan, yaitu: pengembangan bahan, tahap maserasi antara dan tahap perkolasi sebenarnya (penetasan/penampungan ekstrak) yang dilakukan terus menerus sampai diperoleh ekstrak/perkolat yang jumlahnya 1-5 kali dari volume bahan (Perwita, 2011). Pelarut yang digunakan pada penelitian ini adalah ethanol. Ethanol termasuk pelarut universal diharapkan dapat menarik senyawa polar, semi polar ataupun non polar (Febriani *et al.*, 2015).

Salmonella typhi dapat tumbuh pada media sederhana dan hampir tidak memfermentasi laktosa dan sukrosa, dapat membentuk asam dan gas dari glukosa dan manosa. *Salmonella typhi* biasanya memproduksi hidrogen sulfida (H_2S). Media SSA yang digunakan untuk menumbuhkan *Salmonella typhi* akan menghasilkan koloni dengan pusat hitam dan tepian jelas transparan atau tidak berwarna biasa disebut koloni mata ikan (Aminollah, 2016). Suhu pertumbuhan optimum untuk bakteri ini yaitu $37^{\circ}C$ dengan pH media 6-8 (Radji, 2011). *Salmonella typhi* menyebabkan demam enterik (demam tifoid).

Staphylococcus aureus tumbuh dengan mudah pada sebagian besar media bakteriologis dengan kondisi anaerob atau mikroaerofilik. Tumbuh paling cepat pada $37^{\circ}C$, tetapi membentuk pigmen paling baik pada temperatur ruang (20-

25⁰C). Koloni pada media solid berbentuk bulat, halus, timbul, dan mengilat. *Staphylococcus aureus* biasanya membentuk koloni berwarna abu-abu hingga kuning emas pekat. *Staphylococcus aureus* menghasilkan berbagai tingkat hemolisis (Brooks *et al.*, 2010).

Uji aktivitas bakteri digunakan untuk mengukur respon pertumbuhan populasi bakteri terhadap zat antimikroba yang diujikan agar mendapatkan pengobatan yang efektif dan efisien (Pratiwi, 2008). Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan dua metode yaitu dilusi dan difusi (Brooks *et al.*, 2012). Metode dilusi dilakukan dengan mengukur Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) atau Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM). Metode difusi dilakukan dengan cakram kertas, sumuran, dan silinder (Pratiwi, 2008). Antibiotik merupakan bahan kimiawi yang dihasilkan oleh organisme seperti bakteri dan jamur yang dapat mengganggu mikroorganisme lain. Antibiotik ini dapat membunuh bakteri (bakterisidal) atau menghambat pertumbuhan bakteri (bakteriostatik) atau mikroorganisme lain (Tjay dan Raharja, 2002). Antibiotik dalam penelitian ini digunakan sebagai kontrol positif.

Shivarkumar dan Vidyasagar (2014) mengemukakan bahwa Kepuh (*Sterculia foetida* L.) merupakan tanaman obat tradisional yang memiliki kandungan *phenolic* untuk kegiatan antibakteri dan antimikroba. Ekstrak dari daun Kepuh dapat menghambat pertumbuhan bakteri seperti *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, dan *Echerichia coli*. Ekstrak n-heksan daun Kepuh pada konsentrasi 10% sudah dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acne*, karena ekstrak n-heksanan daun Kepuh mengandung

senyawa triterpenoid yang bersifat antibakteri (Waluyo, 2014). Minyak dari biji Kepuh dapat menghambat *Staphylococcus aureus* dan *Echerichia coli* (Yoganandam *et al.*, 2012).

C. Hipotesis

1. Ada aktivitas antibakteri ekstrak etanolik kulit batang Kepuh (*Sterculia foetida* L.) terhadap bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*.
2. Ada perbedaan diameter zona hambat dari ekstrak etanolik kulit batang Kepuh (*Sterculia foetida* L.) terhadap bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*.

BAB III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

1. Waktu penelitian

Penelitian telah dilaksanakan pada bulan Januari sampai dengan bulan Juni 2017.

2. Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Fitokimia dan Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi, Surakarta.

B. Populasi dan Sampel

Populasi pada penelitian adalah kulit batang Kepuh yang berasal dari tanaman Kepuh (*Sterculia foetida* L.) yang tumbuh di daerah Surakarta, Jawa Tengah.

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah kulit batang Kepuh yang diambil secara acak dengan memilih kulit batang mulai dari batang utama dan cabang, dikelupas dengan ukuran panjang dan lebar tertentu dan tidak mengambilnya dengan satu lingkaran penuh pada batang dari Surakarta, Jawa Tengah. Proses pengambilan dilakukan pada keadaan maksimal proses fotosintesis antara pukul 10.00 dan 12.00.

C. Bahan dan Alat

1. Bahan Penelitian

1.1 Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak etanolik kulit batang Kepuh (*Sterculia foetida* L.)

1.2 Bakteri Uji

Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* kultur laboratorium.

1.3 Media

Media yang digunakan adalah *Mueller Hilton Agar* (MHA), *Brain Heart Infusion* (BHI), *Vogel Johnson Agar* (VJA), *Salmonella Shigella Agar* (SSA), *Selenite F Broth*, *Klinger's Iron Agar* (KIA), *Sulfida Indol Motility* (SIM), *Lysine Iron Agar* (LIA), *Simmons Citrat Agar* (Citrata), *Mac Conkey*, dan *Bismuth Sulfit Agar* (BSA).

1.4 Bahan Lain

Bahan-bahan lain yang digunakan seperti: Spirtus, cat Gram (A, B, C, dan D), minyak imersi, aquades, etanol, larutan H₂O₂ 3%, NaCl fisiologis (NaCl 0,9%), larutan plasma citrat, larutan kalium telurit, Trimetroprim, Vankomisin, H₂SO₄ pekat, dan anhidra asetat (Ac₂O).

2. Alat Penelitian

Alat yang digunakan untuk penelitian ini adalah: nampan, kain, blender, ayakan 40 mesh, alat perkulator, *backer glass*, evaporator, oven, neraca analitik, cawan petri steril, kapas lidi steril, pipet ukur steril, *cliniplette*, *yellow tip*, api

spirtus, inkas, tabung reaksi steril, jarum ose, mikroskop, inkubator, *autoclave*, kompor, botol sampel steril, *boorproof*, mistar, alat pelindung diri lengkap.

D. Variabel Penelitian

1. Identifikasi Variabel Utama

Variabel utama adalah aktivitas antibakteri dari ekstrak etanolik kulit batang Kepuh (*Sterculia foetida* L.) terhadap bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*.

2. Klasifikasi Variabel Utama

Variabel utama dapat didefinisikan ke dalam berbagai macam variabel, yaitu variabel bebas dan variabel tergantung.

a. Variabel bebas

Variabel bebas untuk penelitian ini adalah ekstrak etanolik kulit batang Kepuh (*Sterculia foetida* L.).

b. Variabel tergantung

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah diameter zona hambat yang terbentuk dari bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*.

3. Definisi Operasional Variabel Utama

- a. Sampel uji adalah kulit batang Kepuh (*Sterculia foetida* L.) diperoleh dari tanaman Kepuh (*Sterculia foetida* L.) yang tumbuh di Surakarta, Jawa Tengah yang diambil secara acak dengan memilih kulit batang mulai dari batang utama dan cabang, dikelupas dengan ukuran panjang dan lebar tertentu dan tidak mengambilnya dengan satu lingkaran penuh pada batang. Proses pengambilan

dilakukan pada keadaan maksimal proses fotosintesis antara pukul 10.00 dan 12.00.

- b. Serbuk kulit batang Kepuh (*Sterculia foetida* L.) adalah kulit batang yang dikelupas kemudian dicuci dengan air mengalir yang bertujuan untuk menghilangkan kotoran yang masih menempel setelah itu dikeringkan dengan sinar matahari tidak langsung hingga kering, kemudian dibuat serbuk dan diayak dengan ayakan 40 mesh.
- c. Ekstrak etanolik kulit batang Kepuh adalah ekstrak yang diperoleh dari sumber penyarian kulit batang Kepuh dengan metode perkolasi dengan pelarut etanol.
- d. Aktivitas antibakteri adalah uji yang ditentukan dari metode difusi dengan mengukur luas zona inhibisi dengan menggunakan kontrol positif antibiotik dan kontrol negatif aquades steril.

E. Prosedur Penelitian

1. Pembuatan Serbuk Kulit Batang Kepuh

1500 gram kulit batang Kepuh dicuci bersih supaya bersih dari kotoran dan debu kemudian dikeringkan dengan sinar matahari tidak langsung. Kulit batang yang sudah kering kemudian dihaluskan dan diayak dengan ayakan ukuran 40 mesh.

2. Pembuatan Ekstrak Perkolasi Kulit Batang Kepuh

Serbuk kulit batang Kepuh ditimbang 500 gram. Serbuk yang sudah ditimbang masuk ke *becker glass* dan di tambah dengan ethanol 95%, ditutup dan didiamkan selama 24 jam, kemudian dimasukan ke dalam bejana silindris yang

diberi sekat berpori. Etanol 95% dialirkan dari atas ke bawah melalui serbuk secara terus menerus dengan kecepatan 1ml/menit dan diatur supaya cairan yang keluar seimbang dengan cairan yang ditambahkan dari atas perkolator. Perkulasi dihentikan jika cairan yang keluar tidak berwarna dan jika diuapkan tidak meninggalkan sisa.

3. Identifikasi Golongan Senyawa

3.1 Saponin

Sebanyak 2 ml ekstrak ditambahkan 10 ml aquadest panas dalam tabung reaksi, dikocok kuat-kuat selama 10 detik, kemudian ditambahkan beberapa tetes HCl 2N. Hasil positif jika terbentuk busa stabil (Setyawati *et al.*, 2014).

3.2 Flavonoid

Sebanyak 2 ml ekstrak ditambahkan 2 ml etanol 95%, 0,5 gram serbuk seng dan 2 ml HCl 2N. Larutan didiamkan selama 1 menit dan kemudian ditambahkan 2 ml HCl pekat. Hasil positif jika terbentuk warna merah jingga atau kuning (Rumanggit *et al.*, 2015).

3.3 Polifenol

Sebanyak 2 ml sampel dilarutkan dalam akuades 10 ml, dipanaskan 5 menit dan disaring, filtrat ditambahkan 4-5 tetes FeCl₃ 5%. Adanya fenol ditunjukkan dengan terbentuknya warna biru tua atau hijau kehitaman (Ningsih *et al.*, 2016).

3.4 Tannin

Sebanyak 2 ml ekstrak ditambahkan 2 ml air dan kemudian ditambahkan beberapa tetes FeCl_3 1%. Hasil positif jika terbentuk larutan berwarna biru kehitaman (Sastrawan *et al.*, 2013).

3.5 Triterpenoid

Uji triterpenoid menggunakan metode Lieberman-Burchard (LB) yaitu 2mg ekstrak kering dilarutkan di anhidra asetat, dipanaskan sampai mendidih, didinginkan dan kemudian 1ml H_2SO_4 pekat ditambahkan di tabung reaksi, jika terbentuk warna merah atau ungu maka terdapat kandungan triterpenoid (Balafif *et al.*, 2013).

3.6 Alkaloid

Sampel ekstrak dilarutkan dalam 2 ml asam klorida dipanaskan 5 menit dan disaring. Filtrat ditambah pereaksi dragendorff, adanya alkaloid ditunjukkan dengan adanya endapan jingga (Ningsih *et al.*, 2016).

4. Pembuatan Persentase Konsentrasi Ekstrak Kulit Batang Kepuh

Tabel 2. Konsentrasi Ekstrak Kulit Batang Kepuh

Konsentrasi Ekstrak Kulit Batang Kepuh	Ekstrak Kulit Batang Kepuh (ml)	Aquadest steril (ml)
10%	0,5	4,5
20%	1	4
30%	1,5	3,5
40%	2	3
50%	2,5	2,5

5. Isolasi Bakteri dan Identifikasi Bakteri *Salmonella typhi*

5.1 Mikroskopis

Identifikasi bakteri *Salmonella typhi* secara mikroskopis dilakukan dengan pengecatan gram. Prosedur pengecatan gram untuk *Salmonella typhi* adalah:

- a. Ambil 1 ose bakteri dari media BHI ratakan di objek glass yang kering dan bebas lemak secara aseptis kemudian di fiksasi sebentar.
- b. Genangi preparat dengan Gram A (Kristal Violet) tunggu 3 menit, kemudian buang dan aliri dengan air.
- c. Genangi dengan Gram B (lugol iodin) tunggu \pm 1 menit, kemudian buang dan aliri dengan air.
- d. Genangi dengan Gram C (alkohol) tunggu sampai cat luntur, kemudian buang dan aliri dengan air.
- e. Genangi dengan Gram D (safranin) tunggu 1-2 menit, kemudian buang dan aliri dengan air.
- f. Tiriskan, kemudian amati dengan mikroskop perbesaran 100x dengan minyak imersi.

5.2 Makroskopis

5.2.1 Isolasi dan Identifikasi Bakteri *Salmonella typhi* dengan media

BSA dan SSA

Isolasi dan identifikasi bakteri *Salmonella typhi* secara makroskopis dilakukan dengan kultur di media BSA dan SSA. Prosedur kultur di media BSA dan SSA untuk *Salmonella typhi* adalah:

- a. Bakteri *Salmonella typhi* diinokulasikan pada media BHI dan Selenit yang keduanya sebagai media pengaya. Media BHI dan Selenit selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam.
- b. Media BHI dan Selenit mengalami pertumbuhan ditandai dengan adanya kekeruhan. Bakteri yang tumbuh di media selenit diinokulasikan dengan ose ke media SSA dan BSA, selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam.
- c. Pembacaan koloni pada media SSA dan BSA

Bentuk	: Bulat
Warna koloni	: Coklat, abu-abu atau Hitam Metalik
Tepi Koloni	: Halus
Permukaan	: Cembung
Khas	: Seperti Mata Ikan atau Mata Kelinci

5.2.2 Identifikasi Bakteri *Salmonella typhi* dengan media Uji Biokimia

Identifikasi bakteri *Salmonella typhi* secara makroskopis dilakukan dengan kultur di media Uji Biokimia. Prosedur kultur di media Uji Biokimia untuk *Salmonella typhi* adalah:

- a. Bakteri dari kultur diinokulasikan secara goresan pada media *Mac Conkey Agar* (MCA), selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam.
- b. Koloni yang tumbuh di media MCA diinokulasikan pada media uji biokimia (KIA, SIM, LIA, Citrat) selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam.

6. Isolasi Bakteri dan Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus*

6.1 Mikroskopis

Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* secara mikroskopis dilakukan dengan pengecatan gram. Prosedur pengecatan gram untuk *Staphylococcus aureus* adalah:

- a. Ambil 1 ose bakteri dari media BHI ratakan di objek glass yang kering dan bebas lemak secara aseptis kemudian di fiksasi sebentar.
- b. Genangi preparat dengan Gram A (Kristal Violet) tunggu 3 menit, kemudian buang dan aliri dengan air.
- c. Genangi dengan Gram B (lugol iodine) tunggu ± 1 menit, kemudian buang dan aliri dengan air.
- d. Genangi dengan Gram C (alkohol) tunggu sampai cat luntur, kemudian buang dan aliri dengan air.
- e. Genangi dengan Gram D (safranin) tunggu 1-2 menit, kemudian buang dan aliri dengan air.
- f. Tiriskan, kemudian amati dengan mikroskop perbesaran 100x dengan minyak imersi.

6.2 Makroskopis

6.2.1 Isolasi dan Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus* dengan media VJA

Isolasi dan identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* secara makroskopis dilakukan dengan kultur di media VJA. Prosedur kultur di media VJA untuk *Staphylococcus aureus* adalah:

- a. Bakteri dari kultur diinokulasikan pada media BHI sebagai media pengaya dan diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 18-24 jam.
- b. Bakteri dari media BHI diinokulasikan pada media VJA kemudian diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 18-24 jam.
- c. Pembacaan koloni pada media VJA

Bentuk : Bulat
 Warna koloni : Hitam
 Tepi Koloni : Halus
 Permukaan : Cembung

6.2.2 Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus* dengan Uji Katalase

Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* secara makroskopis dilakukan dengan uji katalase. Prosedur uji katalase untuk *Staphylococcus aureus* adalah:

- a. Lihat pertumbuhan koloni pada media VJA, koloni yang tumbuh yang akan diuji katalase.
- b. Larutan H₂O₂ 3% ditetaskan di *object glass* kemudian ambil 1 ose koloni lalu amati adanya gelembung.

6.2.3 Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus* dengan Uji Koagulase

Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* secara makroskopis dilakukan dengan uji koagulase. Prosedur uji koagulase untuk *Staphylococcus aureus* adalah:

- a. Lihat pertumbuhan koloni pada media VJA, koloni yang tumbuh diinokulasikan ke media BHI kemudian diinkubasi pada suhu 37⁰ C selama 18-24 jam.
- b. Media BHI mengalami kekeruhan.
- c. 1 ml larutan plasma citrat kemudian ditambahkan 1 ml suspensi bakteri kemudian diinkubasi pada suhu 37⁰ C selama 18-24 jam.
- d. Diamati adanya penggumpalan antara suspensi bakteri dengan serum kelinci.

7. Pembuatan Suspensi Bakteri

7.1 *Salmonella typhi*

Isolat bakteri dari media BSA diinokulasikan pada media cair BHI diinkubasi pada 37⁰ C selama 24 jam. Kekeruhan yang terjadi pada media BHI kemudian diambil 1-2 ose dan dimasukkan ke BHI steril kemudian dihomogenkan dengan vortex kemudian dibandingkan dengan standart *Mc Farlan* 0,5x10⁸ cfu/ml. Suspensi ini yang digunakan untuk uji sensitifitas.

7.2 *Staphylococcus aureus*

Isolat bakteri dari media VJA diinokulasikan pada media cair BHI diinkubasi pada 37⁰ C selama 24 jam. Kekeruhan yang terjadi pada media BHI kemudian diambil 1-2 ose dan dimasukkan ke BHI steril kemudian dihomogenkan dengan vortex kemudian dibandingkan dengan standart *Mc Farlan* 0,5x10⁸ cfu/ml. Suspensi ini yang digunakan untuk uji sensitifitas.

8. Pengujian Aktivitas Bakteri

- a. Suspensi bakteri diswab merata pada permukaan media *Muller Hilton Agar* (MHA) kemudian didiamkan 5 menit.

- b. Media MHA tersebut dibuat lubang sumuran dengan menggunakan *boorproof*.
- c. Sumuran tersebut diisi dengan konsentrasi ekstrak, kontrol positif dan kontrol negatif masing masing 50 µl kemudian diinkubasi pada suhu 37⁰ C selama 24 jam.
- d. Perlakuan tersebut dilakukan 3 kali pengulangan.
- e. Kontrol positif untuk bakteri *Salmonella typhi* adalah Trimethoprim, sedangkan bakteri *Staphylococcus aureus* adalah vancomisin.

9. Pembacaan Hasil

Pembacaan hasil dilakukan setelah inkubasi pada 37⁰C selama 24 jam dengan melihat zona transparan (radikal) di sekitar sumuran. Daerah bening merupakan petunjuk adanya aktivitas antibakteri dari ekstrak kulit batang terhadap bakteri uji. Daerah bening tersebut dinyatakan dengan diameter (mm) menggunakan penggaris. Diameter zona hambat dikategorikan kekuatan daya antibakterinya berdasarkan penggolongan Davis dan Stout (1971) sebagai berikut:

- a. Diameter zona bening >20 mm artinya daya hambat sangat kuat.
- b. Diameter zona bening 10-20 mm artinya daya hambat kuat.
- c. Diameter zona bening 5-10 mm artinya2 daya hambat sedang.
- d. Diameter zona bening <5 mm artinya daya hambat lemah.

F. Teknik Analisis Data

Data yang diperoleh dari uji aktivitas antibakteri ekstrak kulit batang Kepuh terhadap bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* secara difusi teknik sumuran dianalisis dengan menggunakan uji statistik. Uji Statistik yang

digunakan adalah *one way anova* dengan software SPSS 17. Analisa data dengan statistik dilakukan untuk mengetahui beda nyata atau tidak diameter hambat dari bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*.

BAB IV. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Pembuatan Simplisia

1. Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan di kepustakaan dan dibuktikan di Laboratorium Mikrobiologi dan Fitokimia Universitas Setia Budi. Habitus tanaman Kepuh berupa pohon menahun yang berakar tunggang dan batang berkayu dengan percabangan monopodial. Daun tanaman Kepuh majemuk menjari, ibu tangkai berukuran 9-45 cm, anak daun berukuran 5-9 cm, bertangkai pendek, bulat memanjang sampai lanset dan ujung meruncing. Tanaman Kepuh memiliki bunga majemuk dengan kelopak bercangap berwarna merah tua bagian tabung, lobi mula-mula berupa warna kuning kehijauan di bagian pangkal dan sepanjang marginal, benang sari berukuran 12-15 cm dan capella sebanyak 5 (Backer dan Brink, 1965).

2. Pengambilan Bahan

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah kulit batang Kepuh yang diambil secara acak dengan memilih kulit batang mulai dari batang utama dan cabang, dikelupas dengan ukuran panjang dan lebar tertentu dan tidak mengambilnya dengan satu lingkaran penuh pada batang dari Surakarta, Jawa Tengah.

3. Pengukuran Kadar Air Serbuk

Pengukuran kadar air dengan metode bidwel-sterling dengan pelarut xylen. Serbuk sebanyak 20,9453 gram ditambah dengan 140 ml xylen rangkaian alat

dipasang kemudian air dialirkan dan dipanaskan dengan api spiritus. Skala menunjukkan 1,8 ml.

Tabel 3. Kadar Air Serbuk Kulit Batang Kepuh

Berat bahan (gram)	Skala (ml)	Kadar Air (%)
20,9453	1,8	8,59

Kadar air pada serbuk adalah 8,59% sudah memenuhi standar untuk pembuatan ekstrak yaitu kurang dari 10% (Emilan, 2011).

B. EKSTRAKSI

1. Pembuatan Ekstrak

Bahan yang sudah dikeringkan kemudian diserbuk dan didapatkan serbuk sebanyak 1.300 gram. Serbuk kemudian diayak dengan ayakan ukuran 40 mesh dan didapatkan serbuk halus 500 gram. Serbuk halus kemudian diekstrak dengan etanol metode perkolasi. Hasil ekstraksi diuapkan dengan evaporator suhu 50⁰ C dan 40 rpm. Ekstrak yang didapattkann seberat 36 gram.

2. Perhitungan Rendemen

Tabel 4. Rendemen Ekstrak

Serbuk Kasar (gram)	Serbuk Halus (gram)	Ekstrak yang didapat (gram)	Rendemen (%)
1300	500	36	7,2

3. Identifikasi Golongan Senyawa

Identifikasi golongan senyawa pada ekstrak etanol kulit batang kepuh dilakukan dengan reaksi tabung.

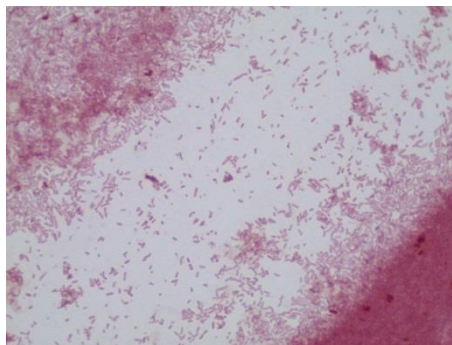
Tabel 5. Identifikasi Golongan Senyawa

No	Uji	Prosedur	Pustaka	Hasil Percobaan	Keterangan
1	Saponin	Ekstak + 10 ml aquadest panas, kocok + HCl 2N	Reaksi positif jika terbentuk busa stabil (Setyawati <i>et al.</i> , 2014)	Terbentuk busa stabil	+
2	Flavonoid	Ekstrak + 2 ml etanol 95% + serbuk seng + 2ml HCl pekat	Reaksi positif jika terbentuk warna merah jingga atau ungu (Rumanggit <i>et al.</i> , 2015).	Merah Jingga	+
3	Polifenol	Ekstrak dilarutkan dalam 10 ml aquadest, dipanaskan dan disaring, filtrat + 3 tetes FeCl ₃	Reaksi positif jika terbentuk warna biru tua atau hijau kehitaman (Ningsih <i>et al.</i> , 2016)	Hijau kehitaman	+
4	Tannin	Ekstrak + aquadest + 2 tetes FeCl ₃	Reaksi positif jika terbentuk warna biru kehitaman (Sastrawan <i>et al.</i> , 2013)	Biru Kehitaman	+
5	Triterpenoid	Ekstrak + anhidra asetat, dipanaskan-dididnginkan + H ₂ SO ₄ pekat	Reaksi positif jika terbentuk warna merah atau ungu (Balafif <i>et al.</i> , 2013)	Merah	+
6	Alkaloid	Ekstrak + HCl dipanaskan dan disaring, filtrat +3 tetes dragendorff	Reaksi positif jika terbentuk warna jingga (Ningsih <i>et al.</i> , 2016).	Jingga	+

C. Isolasi dan Identifikasi Bakteri *Salmonella typhi*

1. Mikroskopis

Identifikasi bakteri *Salmonella typhi* secara mikroskopis dilakukan dengan pengecatan gram. Bakteri dari media BHI ratakan di objek glass yang kering dan bebas lemak secara aseptis kemudian di fiksasi sebentar. Pengecatan dilakukan dengan cat gram A, B, C, dan D kemudian diamati dengan mikroskop perbesaran 100 dengan minyak imersi.



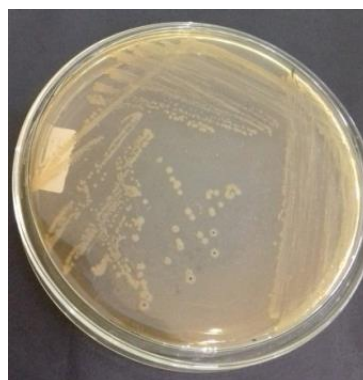
Gambar 1. Mikroskopis *Salmonella typhi*

Gambar 1 menunjukkan gambar *Salmonella typhi* yang sudah dicat gram dan diamati dengan mikroskop trinokuler. *Salmonella typhi* berbentuk batang berwarna merah dan menyebar termasuk gram negatif sesuai dengan pendapat Cita (2011) *Salmonella typhi* merupakan kuman gram negatif.

2. Makroskopis

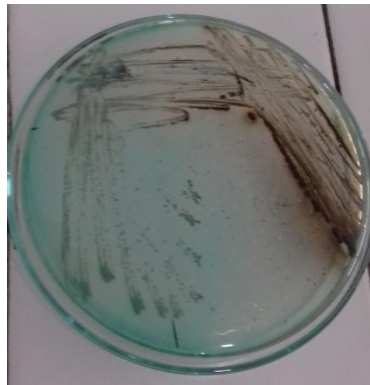
2.1 Isolasi dan Identifikasi Bakteri *Salmonella typhi* dengan media BSA dan SSA

Isolasi dan identifikasi bakteri *Salmonella typhi* secara makroskopis dilakukan dengan kultur di media BSA dan SSA. Bakteri *Salmonella typhi* diinokulasikan pada media Selenit. Bakteri yang tumbuh di media selenit diinokulasikan dengan ose ke media SSA dan BSA.



Gambar 2. Koloni *Salmonella typhi* di media SSA

Gambar 2 menunjukkan koloni *Salmonella typhi* pada media SSA yang berbentuk bulat, tepi halus dan transparan, permukaan cembung dan khas terlihat seperti mata ikan. Koloni yang tumbuh pada media SSA sesuai dengan pendapat Aminollah (2016) yaitu pada media SSA yang digunakan untuk menumbuhkan *Salmonella typhi* akan menghasilkan koloni dengan pusat hitam dan tepian jelas transparan atau tidak berwarna biasa disebut koloni mata ikan.



Gambar 3. Koloni *Salmonella typhi* di media BSA

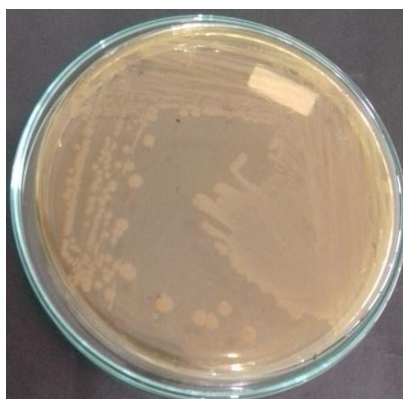
Gambar 3 menunjukkan koloni *Salmonella typhi* pada media BSA yang berbentuk bulat, tepi halus, permukaan cembung dan warna coklat kehitaman. Koloni yang tumbuh pada media BSA sesuai dengan SNI 01-2331.2-2006 (2006) yaitu pada media BSA yang digunakan untuk menumbuhkan *Salmonella typhi* akan tumbuh koloni coklat, abu-abu atau hitam, kadang-kadang metalik. Media disekitar koloni pada awalnya berwarna coklat, kemudian berubah menjadi hitam.

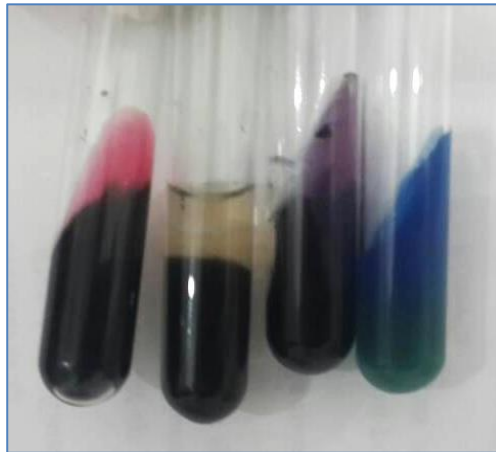
Tabel 6. Identifikasi *Salmonella typhi*

Media	Hasil	Keterangan
Cat Gram	Batang merah menyebar	Gram negatif
SSA	Bentuk : bulat Tepi koloni : halus Permukaan : cembung Khas : mata ikan	<i>Salmonella typhi</i>
BSA	Bentuk : bulat Warna :coklat kehitaman Tepi koloni : halus Permukaan : cembung	<i>Salmonella typhi</i>

2.2 Identifikasi Bakteri *Salmonella typhi* dengan media Uji Biokimia

Identifikasi bakteri *Salmonella typhi* secara makroskopis dilakukan dengan kultur di media Uji Biokimia. Bakteri dari kultur diinokulasikan secara goresan pada media *Mac Conkey Agar* (MCA). Koloni yang tumbuh di media MCA diinokulasikan pada media uji biokimia (KIA, SIM, LIA, Citrat) selanjutnya diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 18-24 jam.

**Gambar 4.** Koloni *Salmonella typhi* di media MCA



Gambar 5. Uji Biokimia *Salmonella typhi*

Tabel 7. Uji Biokimia *Salmonella typhi*

Media	Kultur	Pustaka	Keterangan
KIA	K/A S+	K/A S+ (Wulandari dan Lilis, 2008)	+
SIM	+ - +	+ - + (Afriyani <i>et al.</i> , 2016)	+
LIA	K/K S+	K/K S+ (SNI 01-2332.2-2006, 2006)	+
Citrat	+	+ (Afriyani <i>et al.</i> , 2016)	+

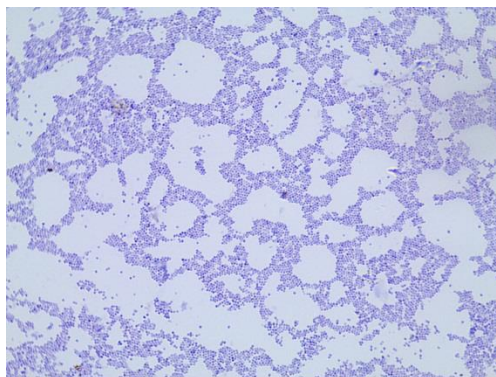
Hasil uji biokimia pada tabel 7 menunjukkan bahwa pada media KIA kultur K/A S+ yang berarti terbentuk warna merah (K) pada lereng dan terbentuk warna kuning pada dasar serta adanya endapan hitam / H₂S (S+). Media SIM menunjukkan hasil + - + yang berarti S (*sulfide*) positif (+) terbentuk endapan hitam karena menghasilkan H₂S, I (Indol) negatif (-) tidak terbentuk warna merah pada permukaan media dan M (Motil) positif (+) terlihat pada bekas tusukan tampak ada pertumbuhan yang menyebar. Media LIA hasilnya K/K S+ yang berarti terbentuk warna ungu (K) pada permukaan dan dasar agar serta adanya

endapan hitam / H_2S (S+). Media *Simmon's Citrat* menunjukkan hasil positif (+) ditandai dengan terbentuknya warna biru pada agar.

D. Isolasi Bakteri dan Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus*

1. Mikroskopis

Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* secara mikroskopis dilakukan dengan pengecatan gram. Bakteri dari media BHI ratakan di objek glass yang kering dan bebas lemak secara aseptis kemudian di fiksasi sebentar. Pengecatan dilakukan dengan cat gram A, B, C, dan D kemudian diamati dengan mikroskop perbesaran 100x dengan minyak imersi.



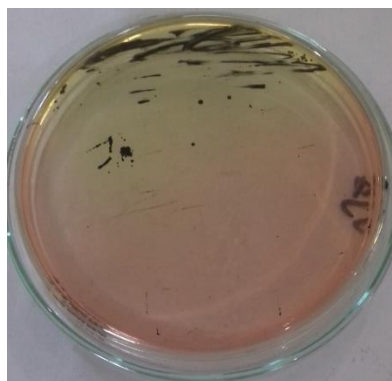
Gambar 6. Mikroskopis *Staphylococcus aureus*

Gambar 6 menunjukkan gambar *Staphylococcus aureus* yang sudah dicat gram dan diamati dengan mikroskop trinokuler. *Staphylococcus aureus* berbentuk bulat berwarna ungu dan bergerombol. *Staphylococcus aureus* menurut Brooks *et al.*, (2010) berbentuk kokus tunggal, berpasangan, berempatan, dan membentuk rantai dan menurut Poeloengan (2009) *Staphylococcus aureus* berwarna ungu.

2. Makroskopis

2.1 Isolasi dan Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus* dengan media VJA

Isolasi dan identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* secara makroskopis dilakukan dengan kultur di media VJA. Bakteri diinokulasikan pada media BHI sebagai media pengaya. Bakteri dari media BHI diinokulasikan pada media VJA kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam.



Gambar 7. Koloni *Staphylococcus aureus* di media VJA

Koloni *Staphylococcus aureus* tumbuh pada media VJA dengan koloni berbentuk bulat, warna koloni hitam, tepi koloni halus, dan permukaan koloni cembung. Koloni *Staphylococcus aureus* di media VJA menurut Supartono (2006) adalah koloni terlihat hitam, konvek mengilat dikelilingi oleh areal berwarna kuning.

2.2 Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus* dengan Uji Katalase

Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* secara makroskopis dilakukan dengan uji katalase. Koloni yang tumbuh di media VJA yang akan diuji katalase.

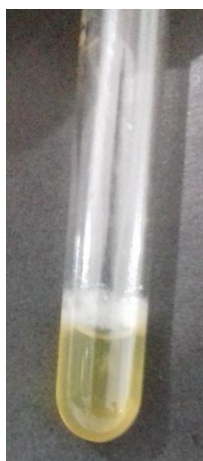
Larutan H_2O_2 3% ditetaskan di *object glass* kemudian ambil 1 ose koloni lalu amati adanya gelembung.



Gambar 8. Uji katalase

2.3 Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus* dengan Uji Koagulase

Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* secara makroskopis dilakukan dengan uji koagulase. Koloni yang tumbuh di media VJA diinokulasikan ke media BHI kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Setelah itu, larutan plasma citrat kemudian ditambahkan 1 ml suspensi bakteri kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam hasilnya terbentuk koagulan.



Gambar 9. Uji koagulase

Tabel 8. Identifikasi *Staphylococcus aureus*

Uji	Hasil	Keterangan
Cat Gram	Bulat warna ungu	Gram positif
Uji katalase	Ada gelembung	Positif

Uji koagulase	Ada gumpalan	Positif
---------------	--------------	---------

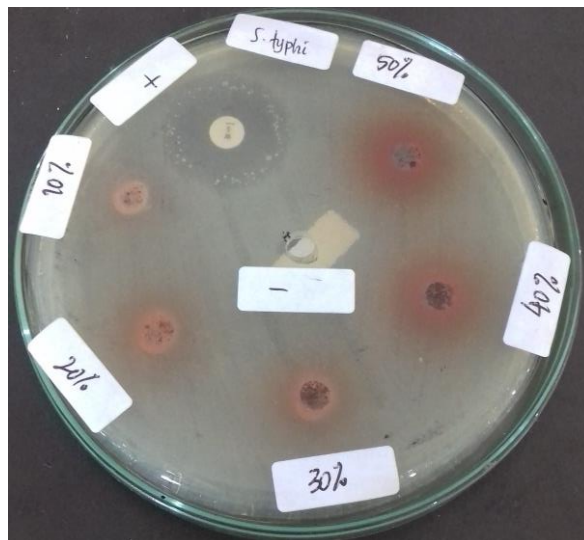
Uji katalase untuk membedakan *Staphylococcus sp.* dan *Streptococcus sp.* Uji katalase positif ditandai dengan adanya gelembung gas yang diproduksi oleh *Staphylococcus sp.* *Staphylococcus aureus* menghasilkan katalase yang mengubah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen. Uji koagulase untuk mengetahui bakteri menghasilkan enzim koagulase. *Staphylococcus aureus* menghasilkan koagulase, protein yang menyerupai enzim yang membekukan plasma beroksalat atau bersitrat (Brooks *et al.*, 2010).

E. Pengujian Aktivitas Anti Bakteri

Pengujian dengan metode difusi. Sumuran tersebut diisi dengan konsentrasi ekstrak (10%, 20%, 30%, 40%, 50%), kontrol positif dan kontrol negatif masing-masing 50 µl kemudian diinkubasi pada suhu 37⁰ C selama 24 jam. Perlakuan tersebut dilakukan 3 kali pengulangan. Kontrol positif untuk bakteri *Salmonella typhi* adalah Trimethoprim, sedangkan bakteri *Staphylococcus aureus* adalah Vancomisin.

Pembacaan hasil dilakukan setelah inkubasi pada 37⁰C selama 24 jam dengan melihat zona transparan (radikal) di sekitar sumuran. Daerah bening merupakan petunjuk adanya aktivitas antibakteri dari ekstrak kulit batang terhadap bakteri uji. Daerah bening tersebut dinyatakan dengan diameter (mm) menggunakan penggaris. Diameter zona hambat dikategorikan kekuatan daya antibakterinya berdasarkan penggolongan Davis dan Stout (1971).

Ekstrak etanolik kulit batang Kepuh yang diuji aktivitas antibakteri dapat menghasilkan zona hambat disekeliling sumuran yang artinya ekstrak etanolik kulit batang Kepuh dapat menghambat *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 10 %, 20%, 30%, 40%, dan 50%. Shivarkumar dan Vidyasagar (2014) mengemukakan bahwa ekstrak dari daun Kepuh dapat menghambat pertumbuhan bakteri seperti *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, dan *Echerichia coli*. Ekstrak n-heksan daun Kepuh pada konsentrasi 10% sudah dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acne* (Waluyo, 2014). Minyak dari biji Kepuh dapat menghambat *Staphylococcus aureus* dan *Echerichia coli* (Yoganandam *et al.*, 2012).

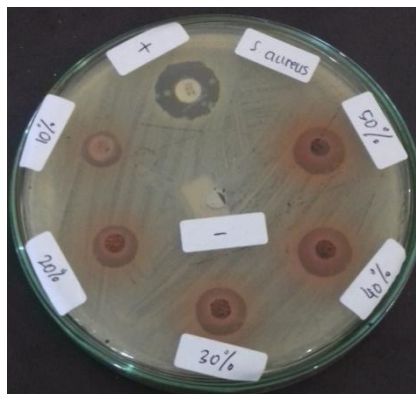


Gambar 10. Uji Aktivitas Antibakteri *Salmonella typhi*

Tabel 9.Hasil Uji Aktivitas Antibakteri *Salmonella Typhi*

Jenis		Diameter Zona Hambat			Rata-Rata Diameter Zona Hambat	Keterangan
		R1	R2	R3		
Kontrol (+)	Trimetroprim	15	14	12	13,67	kuat
Konsentrasi Ekstrak Etanolik Kulit Batang Kepuh	10%	10	8	6	8,00	Sedang
	20%	13	11	7	10,33	Kuat
	30%	15	14	9	12,67	Kuat
	40%	18	16	19	17,67	Kuat
	50%	20	21	21	20,67	Sangat Kuat
Kontrol (-)	Aquades steril	0	0	0	0	Tidak ada daya hambat

Daya hambat yang dihasilkan pada *Salmonella typhi* berdasarkan tabel 9 pada konsentrasi 10 % adalah sedang. Konsentrasi 20%, 30%, dan 40% adalah kuat. Konsentrasi 50% adalah sangat kuat dengan rerata diameter zona hambat 20,67. Rerata zona hambat yang dihasilkan antibiotik lebih kecil dibanding dengan rerata zona hambat yang dihasilkan ekstrak etanolik kulit batang Kepuh pada konsentrasi 40% dan 50%. Daya hambat yang dihasilkan pada *Salmonella typhi* pada konsentrasi 50% sangat kuat menunjukkan lebih kuat dari antibiotik yang digunakan yaitu Trimethoprim.



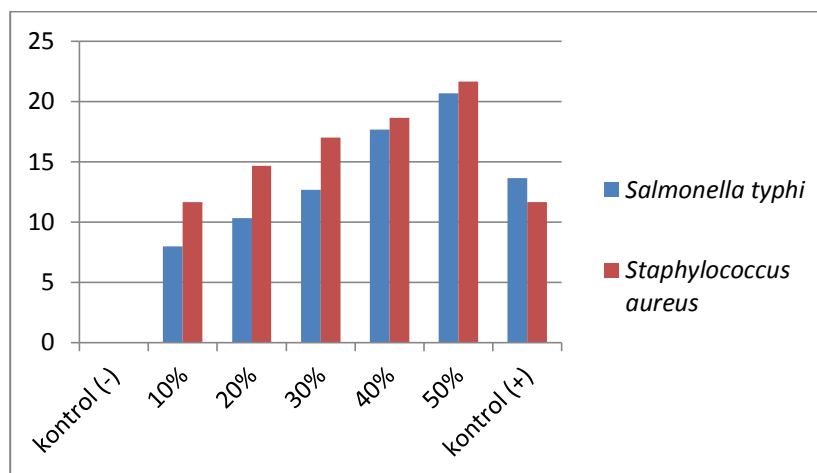
Gambar 11. Uji Aktivitas Antibakteri *Staphylococcus aureus*

Tabel 10. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri *Staphylococcus aureus*

Jenis		Diameter Zona Hambat			Rata-Rata Diameter Zona Hambat	Keterangan
		R1	R2	R3		
Kontrol (+)	Vancomisin	8	14	13	11,67	kuat
Konsentrasi Ekstrak Etanolik Kulit Batang Kepuh	10%	10	12	13	11,67	kuat
	20%	13	15	16	14,67	Kuat
	30%	16	17	18	17	Kuat
	40%	17	19	20	18,67	Kuat
	50%	20	22	23	21,67	Sangat Kuat
Kontrol (-)	Aquades steril	0	0	0	0	Tidak ada daya hambat

Daya hambat yang dihasilkan pada *Staphylococcus aureus* berdasarkan tabel 10 pada konsentrasi 10 %, 20%, 30%, dan 40% adalah kuat. Konsentrasi 50% adalah sangat kuat dengan rerata diameter zona hambat 21,67. Rerata zona hambat yang dihasilkan antibiotik lebih kecil dibanding dengan rerata zona hambat yang dihasilkan ekstrak etanolik kulit batang Kepuh pada konsentrasi 20% Daya hambat yang dihasilkan pada *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi

50% sangat kuat menunjukkan lebih kuat dari antibiotik yang digunakan yaitu Vankomisin.



Gambar 12. Grafik rerata diameter zona hambat dengan konsentrasi ekstrak

Gambar 12 Grafik rerata diameter zona hambat dengan konsentrasi ekstrak bahwa zona hambat dari *Salmonella typhi* lebih rendah daripada zona hambat *Staphylococcus aureus*. Diameter zona hambat mengalami peningkatan pada setiap kenaikan konsentrasi ekstrak etanolik kulit batang Kepuh.

Hasil uji normalitas dengan *Shapiro-wilk* dengan nilai signifikansi adalah 0,316 dan 0,971 > 0,05 bahwa data berdistribusi normal. Hasil uji statistik dengan *one way anova* hasil terdapat perbedaan diameter zona hambat dari *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* yang bermakna ($\alpha = 0,05$), ditunjukkan dengan nilai signifikansi 0,000 yaitu <0,05, kemudian dilihat nilai F hitung 36,839 dan F tabel 4,20. Nilai F tabel 4,20 < 36,839 nilai F hitung maka H_0 ditolak maka disimpulkan bahwa terdapat perbedaan diameter zona hambat dari *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*.

Perbedaan diameter zona hambat dari *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* dikarenakan jenis bakteri yang berbeda. *Salmonella typhi* merupakan bakteri gram negatif dan *Staphylococcus aureus* adalah bakteri gram positif. Bakteri gram negatif dilapisi membran luar yang terdapat protein, fosfolipid, dan lipopolisakarida. Bakteri gram positif terdiri atas lapisan peptidoglikan yang tebal, asam teikoat, dan sekrit lipid (Widyasanti *et al.*, 2015). Penelitian sebelumnya oleh Sartika *et al.*, (2013) hasil pengujian konsentrasi hambat minimum ekstrak Rumpun laut *Eucheuma cottonii* paling baik menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dibandingkan bakteri *Escherichia coli*, *Salmonella typhosa*, dan *Vibrio cholera*.

Ekstrak etanolik kulit batang Kepuh yang diuji aktivitas antibakteri dapat menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* karena mempunyai senyawa metabolit sekunder yaitu saponin, flavonoid, polifenol, tannin, triterpenoid, dan alkaloid. Senyawa metabolit sekunder memiliki kemampuan masing-masing untuk merusak sel bakteri.

Penelitian yang telah dilakukan oleh Rahmawati (2016) senyawa saponin dapat menghambat aktivitas bakteri *Staphylococcus aureus*. Senyawa saponin dapat melakukan mekanisme penghambatan dengan membentuk senyawa kompleks dengan membran sel melalui ikatan hidrogen, sehingga dapat menghancurkan sifat permeabilitas dinding sel dan akhirnya dapat menimbulkan kematian sel (Mahanani *et al.*, 2012).

Arifin (2012) menyatakan bahwa flavonoid, minyak atsiri, polifenol dan saponin mempunyai aktivitas antimikroba terhadap *Escherichia coli*,

Staphylococcus aureus, dan *Candida albicans*. Flavonoid merupakan senyawa golongan fenol yang aktif. Senyawa fenol dan senyawa fenolik derivatnya juga dapat menimbulkan denaturasi protein yang terdapat pada dinding sel sehingga dapat merusak susunan dan merubah mekanisme permeabilitas dari mikrosom, lisosom, dan dinding sel (Eriantiet *al.*, 2015).

Penelitian yang telah dilakukan oleh Ngajow *et al.*, (2013) ekstrak kulit batang matoa yang memiliki senyawa saponin, triterpenoid, tannin, dan flavonoid dapat menghambat aktivitas *Staphylococcus aureus*.

Mekanisme triterpenoid sebagai antibakteri adalah bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri dan mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (Mahanani, 2012). Senyawa tannin adalah senyawa astrigent yang memiliki rasa pahit dari gugus polifenol yang dapat mengikat dan mengendapkan atau menyusutkan protein (Ismarani, 2012). Senyawa-senyawa golongan triterpenoid diketahui memiliki aktivitas fisiologis tertentu, seperti antijamur, antibakteri, antivirus, kerusakan hati, gangguan menstruasi, dan dapat mengatasi penyakit diabetes (Asihet *al.*, 2010).

Ekstrak daun sirsak mengandung alkaloid dapat menghambat aktivitas bakteri *Escherichia coli*. Mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri yaitu dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan

kematian sel. Komponen pada alkaloid diketahui sebagai interkelator DNA dan menghambat enzim topoisomerase sel bakteri (Ningsih *et al.*, 2016).

BAB V. PENUTUP

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dapat disimpulkan :

1. Ekstrak etanolik kulit batang Kepuh (*Sterculia foetida* L.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*.
2. Diameter zona hambat dari ekstrak etanolik kulit batang Kepuh (*Sterculia foetida* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* lebih baik daripada *Salmonella typhi*.

B. Saran

1. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanolik kulit batang kepuh bisa dilanjutkan dengan jenis bakteri lain yang memiliki sifat yang berbeda dengan bakteri gram positif atau negatif.
2. Pembuatan ekstrak kulit batang Kepuh dengan menggunakan jenis pelarut yang berbeda dan menentukan spesifitas senyawa aktif.

DAFTAR PUSTAKA

- Afriyani, Darmawi, fakhrurazi, Zakiah Heryawati Manaf, Mahdi Abrar, dan Winarudin. 2016. Isolasi Bakteri *Salmonella* sp. pada Feses Anak Ayam Broiler di Pasar Ulee Kareng Banda Aceh. *Jurnal Medika Veterinaria* 10(1):74-76
- Aminollah. 2016. *Isolasi dan Identifikasi Bakteri Patogen Escherichia coli dan Salmonella sp pada Kotoran Kelelawar di Gua Pongangan Gresik dan Gudang Gula Bojonegoro Jawa Timur* [skripsi]. Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga
- Ansel, HC. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Jakarta: Universitas Indonesia
- Arifin, Zainal. 2012. *Skrining Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol Jahe Merah (Zingiber officinale Roscoe var rubrum) terhadap Staphylococcus aureus Escherichia coli Candida albicans* [skripsi]. Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta
- Artini, Astuti, dan Warditiani. 2013. Uji Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Rimpang Bangle (*Zinniger purpureum* Roxb). *Jurnal Farmasi Udayana*
- Asih, I.A.R Astiti, IW.G. Gunawan, dan N.M. Desi Ariani. 2010. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Golongan Triterpenoid dari Ekstrak n-Heksana Daun Kepuh (*Sterculia foetida* L.) Serta Uji Aktivitas Antiradikal Bebas. *Jurnal Kimia* 4(2):135-140
- Backer C.A dan Brink R.C.B. 1965: *Flora of Java (Spermatophytes only)* N.V.P Noordhoff-groningen-The Netherlands
- Balafif, Ragaya Abd.R.,Yayuk Andayani, dan Erin Ryantin Gunawan. 2013. Analisis Senyawa Triterpenoid dari Hasil Fraksinasi Ekstrak Air Buah Buncis (*Phaseolus vulgaris* Linn). *Chem. Prog.* 6(2): 56-61
- Beale, John M. dan John H. Block. 2011. *Wilson and Gisvold's Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry*. London: Lippincott Williams & Wilkins
- Brooks, Geo.F., Karen C. Carroll, Janet S. Butel, Stephen A. Morse, dan Timothy A. Mietzner. 2010. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta:EGC
- Cita, Yatnita Parama. 2011. Bakteri *Salmonella typhi* dan Demam Tifoid. *Jurnal Kesehatan Masyarakat* 6(1): 42-46

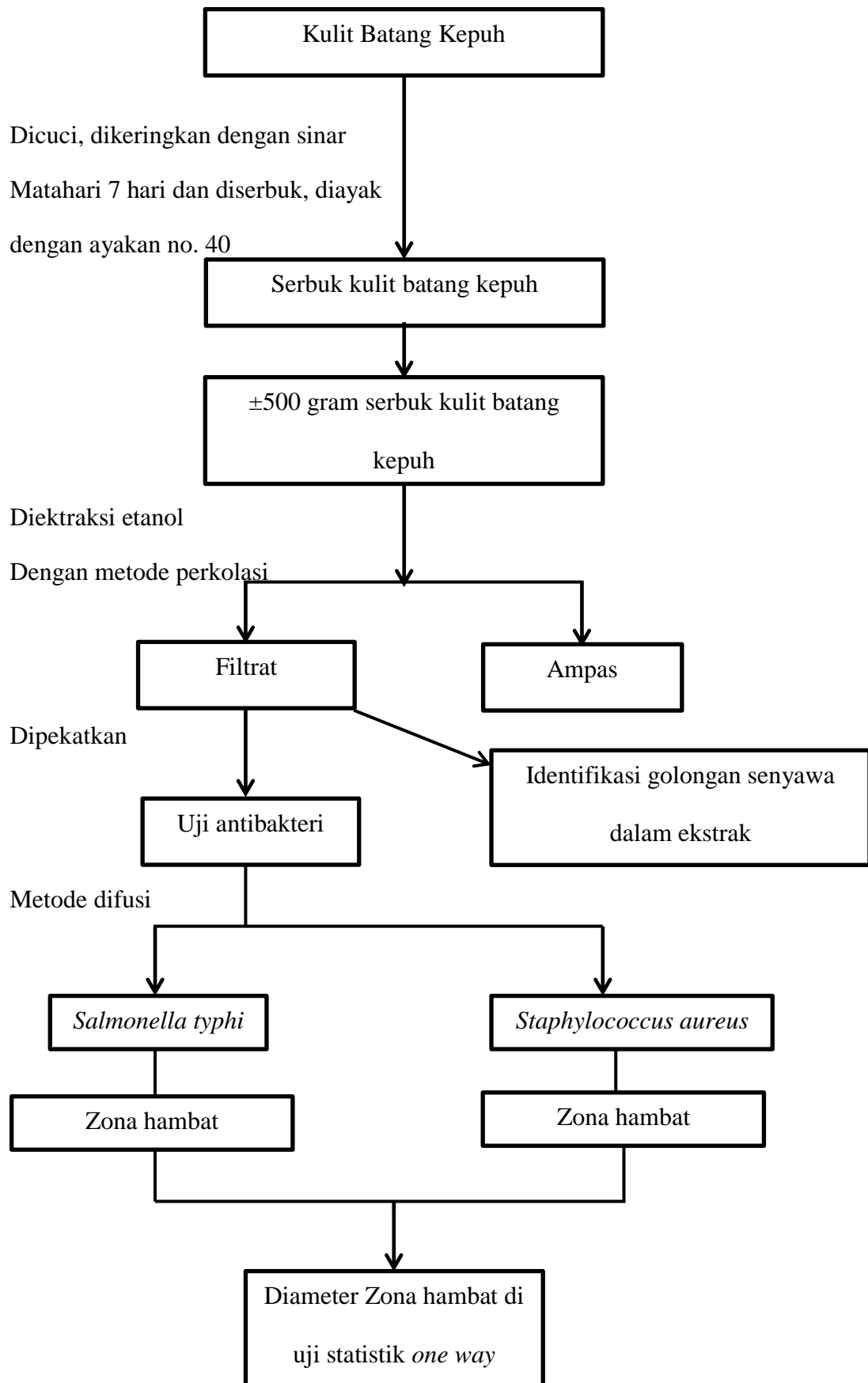
- Davis, W.W dan Stout, T.R. 1971. Disc Plate Methods of Microbiological Antibiotic Assay. *Microbiology* 22(4):659-665
- Depkes. 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- Depkes. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- Erianti, Farizka, Dona Marisa, dan Eko Suhartono. 2015. Potensi Antiinflamasi Jus Buah Belimbing (*Averrhoa carambola* L.) terhadap Denaturasi Protein. *Berkala Kedokteran* 11(1): 33-39
- Febriani, Diana, Dina Mulyanti, dan Endah Rahmawati. 2015. Karakterisasi Simplisia dan Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annoma muricata* Linn). *Prosiding Penelitian SPeSIA Unisba 2015*: 475-480
- Gunawan dan Sri Mulyani. 2004. *Ilmu Obat Alami (Farmakognosi) Jilid 1*. Bogor: Swadaya
- Herbie, Tandi. 2015. *Kitab Tanaman Berkhasiat Obat*. Yogyakarta: Octopus Publishing House
- Hernani dan Raharjo M. 2005. *Tanaman Berkhasiat Antioksidan*. Bogor: Swadaya
- Irianto, K. 2014. *Bakteriologi Mikologi dan Virologi Panduan Medis dan Klinis*. Bandung: Alfabeta
- Ismarani. 2012. Potensi Tannin dalam Menunjang Produksi Ramah Lingkungan. *Jurnal Agribisnis dan Pengembangan Wilayah* 3(2): 46-55
- Mahanani, Ratih. S., Depi Praharani., dan Purwanto. 2012. Daya Antibakteri Ekstrak Daun Pare (*Momordica charantia*) dalam Menghambat Pertumbuhan *Streptococcus viridans*. Artikel Ilmiah Hasil Penelitian Mahasiswa Universitas Jember
- Mari, Kavitha, R.V Vadivu, dan R. Radha. 2016. Phytochemical Screening on the Successive Extract of Bark of *Sterculia Foetida* Linn. *Imperial Journal of Interdisciplinary Research* 2(4): 288-294
- Maryanti, Alin dan Rina Laksmi hendrati. 2014. *Budidaya Kepuh (Sterculia foetida* Linn) untuk Antisipasi Kondisi Kering. Bogor: IPP Press
- Munawaroh, Safaatul dan Prima Astuti Handayani. 2010. Ekstraksi Minyak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C.) dengan Pelarut Etanol dan n-Heksana. *Jurnal Kompetensi Teknik* 2(1): 73-78

- National Plant Database. 2003. National Tropical Botanical Garden *Sterculia foetida* [online]. (http://www.ntbg.org/plants/plant_details.php?plantid=10732, diakses pada 21 November 2016)
- Ngajow, Mercy, Jemmy Abidjulu, dan Vanda S. Kamu. 2013. Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara *In vitro*. *Jurnal MIPA UNSRAT ONLINE* 2(2):128-132
- Ningsih, Dian Riana, Zufahair, dan Dwi Kartika. 2016. Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Serta Uji Aktivitas Ekstrak Daun Sirsak sebagai Antibakteri. *Molekul* 11(1): 101-111
- Nurrani, Lis. 2013. Pemanfaatan Tradisional Tumbuhan Alam Berkhasiat Obat oleh Masyarakat di Sekitar Cagar Alam Tangale. *Info BPK Manado* 3(1):1-22
- Patil, A.A. dan Pratibha, J.D. 2016. Bacterial Profile and Resistance Pattern of Bacterial Isolates from Blood Culture – a Five Year Study in Tertiary Care Teaching Hospital. *European Journal of Pharmaceutical and Medical Reasearch* 3(4):373-377
- Perwita, F.A. 2011. *Teknologi Ekstrak Daun Ungu (Gratophyllum pictum) dalam Ethanol 70% dengan Metode Perkolasi* [skripsi]. Surakarta:Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret
- Plata, Konrad, Adriana E. Rosato, dan Grzegorz Wegrzyn. 2009. *Staphylococcus aureus* as an infection agent: overview of biochemistry and molecular genetics of its pathogenicity. *Acta Biochimica Polonica* 56(4):597-612
- Pratiwi, S.T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Erlangga
- Pristianingrum,S., Dharmawibawa, I.D., dan Zaniati, B.I. 2012. Daya Hambat Infusa Kelopak Bunga Rosella secara In Vitro terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Resisten Amoksilin (MRSA). *Jurnal Kesehatan Prima* 6(1)
- Radji, M. 2011. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC
- Rahmawati, Ida. 2016. *Skrining Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 70% dari Beberapa Tanaman di Indonesia terhadap Bakteri Staphylococcus aureus serta Bioautografinya* [skripsi]. Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta


- Rostinawati. 2009. Aktivitas Antibakteri Madu Amber dan Madu Putih terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* Multiresisten dan *Staphylococcus aureus* Resisten Metisilin [penelitian mandiri]. Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran
- Rumanggit, Hanna M, Max R.J Runtuwene, dan Sri Sudewi. 2015. Uji Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Etanol Spons *Lamellodysidea herbacea*. *Jurnal Ilmia Farmasi-UNSRAT* 4(3):183-192
- Saleh, Chairul. 2007. *Isolasi dan penentuan Struktur Senyawa Steroid dari Akar Tumbuhan Cendana (Santalum album Linn)* [disertasi]. Medan: Program Doktor Ilmu Kimia, Universitas Sumatera Utara
- Sartika, Rizka, Melki, dan Anna I.S Purwiyanto. 2012. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Rumpun Laut *Eucheuma cottoni* terhadap Bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholera*, dan *Salmonella typhosa*. *Maspari Journal* 5(2): 98-103
- Sastrawan, Idza N, Meiske Sangi, dan Vanda Kamu. 2013. Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Adas (*Foeniculum vulgare*) Menggunakan Metode DPPH. *Jurnal Ilmiah Sains* 13(2):110-115
- Setyawati, Widiastuti Agustina Eko, Sri Retno Dwi Ariani, Ashadi, Bakti Mulyani, dan Cici Putri Rahmawati. 2014. Skrining Fitokimia dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian (*Durio zibethinus* Murr.) Varietas Petruk. *Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia VI*: 271-280
- Shivakumar, Singh P dan Vidyasagar GM. 2014. Green Synthesis Characterization and Antimicrobial Activity of Silver Nanoparticles by using *Sterculia foetida* L Young Leaves aqueous extract. *Internatinal Journal of Green Chemistry and bioprocess* 4(1):1-5
- SNI 01-2332.2-2006. 2006. Cara Uji Mikrobiologi-bagian 2: Penentuan Salmonella pada Produk Perikanan . Badan Standarisasi Nasional: Jakarta
- Sulistyaningsih, Dirky Y.P. Runtuboi, dan Lucky V. Waworuntu. 2014. Sensitivitas Antibiotik terhadap Bakteri yang Diisolasi dari Ulkus Diabetika di RSUD Abepura Kota Jayapura. *Jurnal Biologi Papua* 6(2):53-59
- Supartono. 2006. Pemeriksaan Staphylococcus aureus pada Organ Dalam Hewan dan Bahan Makanan. *Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan* : 254-258

- Susanti, Ari Diana, Dwi Ardianan, Gita Gumelar, dan Yosephin Bening G. 2012. Polaritas Pelarut Sebagai Pertimbangan dalam Pemilihan Pelarut untuk Ekstraksi Minyak Bekatul dari Bekatul Varietas Ketan (*Oriza sativa Glatinosa*). *Simposium Nasional RAPI XI FT UMS*
- Tjay, T.H. dan Raharja K. 2002. *Obat-Obat Penting Khasiat Penggunaan dan Efek-Efek Sampingnya*. Jakarta: PT Elex Media Komputindo
- Todar, Kenneth. 2012. *Staphylococcus aureus and Staphylococcal Disease* [online]. (<http://textbookofbacteriology.net/staph.html>, diakses pada 5 Desember 2015)
- Waluyo, Joko. 2014. Perbedaan Daya Hambat Ekstrak daun Kepuh (*Sterculia foetida* L.) dan Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) terhadap Pertumbuhan *Propionibacterium acne*. *Saintifika* 16(1): 10-17
- Widyasanti Asri, Siti Hajar, dan Dadan Rohdiana. 2015. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Teh Putih terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif. *Jurnal Penelitian Teh dan Kina* 18(1): 55-60
- Winangsih, Erna Prihastanti, dan Sarjana Parman. 2013. Pengaruh Metode Pengeringan terhadap Kualitas Simplisia Lempuyang Wangi (*Zingiber aromaticum* L.). *Buletin Anatomi dan Fisiologi* 21(1):19-25
- Wulandari, Syuriati dan Lilis Suryani. 2008. Deteksi Kuman Salmonella pada Ayam Goreng yang Dijual di Warung Makan dan Pola Kepekaan terhadap Berbagai Zat Antibiotika. *Mutiara Medika Edisi Khusus* 8(2): 101-106
- Yoganandam, Prakash G., Gopal V., dan Kaviarasan L. 2012. Promising Pharmaceutical Prospective of Java Olive-*Sterculia foetida* Linn (Sterculiaceae). *International Journal of Pharmacy Review & Research* 2(2): 93-96
- Zein, Umar, Khalid Huda Sagala, dan Josia Ginting. 2004. Diare Akut Disebabkan Bakteri. *Jurnal Universitas Sumatra Utara*
- Zulkoni, A. 2011. *Parasitologi untuk Keperawatan Kesehatan Masyarakat dan Teknik Lingkungan*. Yogyakarta: Nuha Medika

Lampiran 1. Desain Penelitian



Lampiran 2. Surat Determinasi Tanaman



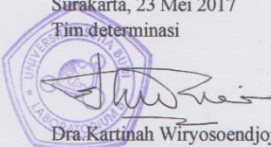
UPT- LABORATORIUM

N0. : 146/DET/UPT-LAB/23/V/2017
Hal : Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan

Menerangkan bahwa :
Nama : Klara Cisandia Putri
NIM : 16130198 N
Fakultas : Farmasi Universitas Setia Budi

Telah mendeterminasikan tumbuhan : **Kepuh / Sterculia foetida L.**
Hasil determinasi berdasarkan : **Baker : Flora of Java**
1b – 2b – 3b – 4b – 12b – 13b – 14b – 17b – 18b – 19b – 20b – 21b – 22b – 23b – 24b – 25b
– 26b – 27b – 799b – 800b – 801b – 802b – 806b – 807b – 809b – 810b – 811b – 825b – 826b
– 829b – 830b – 831b – 832b – 833b – 834a – 835a – 836a – 837a – 838b – 839b – 840b –
845b – 846a. familia 94. Sterculiaceae. 1a – 2a. 15. Sterculia. *Sterculia foetida L.*

Deskripsi :
Habitus : Pohon, menahun.
Akar : Tunggang
Batang : Berkayu, percabangan monopodial.
Daun : Majemuk menjari, ibu tangkai 9 – 45 cm, anak daun 5 – 9 cm, bertangkai pendek, bulat memanjang sampai lanset, ujung meruncing.
Bunga : Majemuk, kelopak bercangap, tabung kelopak merah tua, lobi mula-mula kuning kehijauan di pangkal dan sepanjang marginal, benang sari 12– 15, carpella 5.
Pustaka : Backer C.A. & Brink R.C.B. (1965): *Flora of Java* (Spermatophytes only). N.V.P. Noordhoff – Groningen – The Netherlands.

Surakarta, 23 Mei 2017
Tim determinasi

Dra. Kartinah Wiryosoendjojo, SU.

Jl. Let.jen Sutoyo, Mojosongo-Solo 57127 Telp.0271-852518, Fax.0271-853275
Homepage : www.setiabudi.ac.id, e-mail : info@setiabudi.ac.id

Lampiran 3. Simplisia



Gambar 13. Pohon Kepuh



Gambar 14. Kulit Batang Kepuh



Gambar 15. Kulit Batang Kepuh yang sudah dikeringkan



Gambar 16. Serbuk kulit Batang Kepuh

Lampiran 4. Penentuan Kadar Air



Gambar 17. Penampung air berskala

Perhitungan Kadar Air (Thermovolumetri)

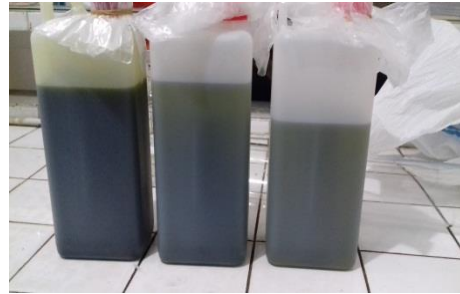
$$\text{Kadar Air (\%)} = \frac{\text{Skala}}{\text{Berat Bahan}} \times 100\%$$

$$\text{Kadar Air (\%)} = \frac{1,8}{20,9453} \times 100\% = 8,59\%$$

Lampiran 5. Ekstrak



Gambar 18. Perkolasi



Gambar 19. Hasil Perkolasi



Gambar 20. Ekstrak

Perhitungan Rendemen

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{berat ekstrak yang diperoleh}}{\text{berat bahan yang diekstrak}} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{36 \text{ gram}}{500 \text{ gram}} \times 100\% = 7.2 \%$$

Lampiran 6. Pembuatan Media

Medium BHI (*Brain Heart Infusion*)

1. Timbang 3,7 gram media BHI.
2. Media BHI ditambah 100 ml aquadest kemudian dipanaskan dan tidak perlu sampai mendidih.
3. Media di masukkan ke tabung reaksi masing-masing 10 ml dan ditutup kapas.
4. Kemudian disterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.

Medium MCA (*Mac Conkey Agar*)

1. Timbang 2,5 gram media MCA.
2. Media MCA ditambah 50 ml aquadest kemudian dipanaskan sampai mendidih.
3. Media di masukkan ke tabung reaksi masing-masing 10 ml dan ditutup kapas.
4. Kemudian disterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.
5. Untuk digunakan media MCA yang sudah disteril dituang ke cawan petri steril secara aseptis.

Media *Selenite F Broth*

1. Timbang 0,46 gram media *Selenite F Broth*.
2. Media *Selenite F Broth* ditambah 20 ml aquadest kemudian dipanaskan sampai mendidih.
3. Media di masukkan ke tabung reaksi masing-masing 5 ml dan ditutup kapas.
4. tidak disterilkan dengan autoclave.

Media SSA (*Salmonella Shigella Agar*)

1. Timbang 6,3 gram media SSA.
2. Media SSA ditambah 100 ml aquadest kemudian dipanaskan sampai mendidih.
3. Media di masukkan ke tabung reaksi masing-masing 10 ml dan ditutup kapas.
4. Kemudian disterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.
5. Untuk digunakan media SSA yang sudah disteril dituang ke cawan petri steril secara aseptis.

Media BSA (*Bismuth Sulfit Agar*)

1. Timbang 4,7 gram media BSA.
2. Media BSA ditambah 100 ml aquadest kemudian dipanaskan sampai mendidih.
3. Media di masukkan ke tabung reaksi masing-masing 10 ml dan ditutup kapas.
4. Tidak disterilkan dengan autoclave.

Media KIA (*Klinger's Iron Agar*)

1. Timbang 1,1 gram media KIA.
2. Media KIA ditambah 20 ml aquadest kemudian dipanaskan sampai mendidih.
3. Media di masukkan ke tabung reaksi masing-masing 5 ml dan ditutup kapas.
4. Kemudian disterilkan dengan autoclave pada suhu 121⁰C selama 15 menit.
5. Media yang sudah disteril kemudian dimiringkan.

Media SIM (*Sulfida Indol Motility*)

1. Timbang 0,6 gram media SIM.
2. Media SIM ditambah 20 ml aquadest kemudian dipanaskan sampai mendidih.
3. Media di masukkan ke tabung reaksi masing-masing 3 ml dan ditutup kapas.
4. Kemudian disterilkan dengan autoclave pada suhu 121⁰C selama 15 menit.

Media LIA (*Lysine Iron Agar*)

1. Timbang 0,64 gram media LIA.
2. Media LIA ditambah 20 ml aquadest kemudian dipanaskan sampai mendidih.
3. Media di masukkan ke tabung reaksi masing-masing 5 ml dan ditutup kapas.
4. Kemudian disterilkan dengan autoclave pada suhu 121⁰C selama 15 menit.
5. Media yang sudah disteril kemudian dimiringkan.

Media Citrat (*Simmons Citrat Agar*)

1. Timbang 0,46 gram media Citrat.
2. Media Citrat ditambah 20 ml aquadest kemudian dipanaskan sampai mendidih.

3. Media di masukkan ke tabung reaksi masing-masing 5 ml dan ditutup kapas.
4. Kemudian disterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.
5. Media yang sudah disteril kemudian dimiringkan.

Media VJA (*Vogel Johnson Agar*)

1. Timbang 3,05 gram media VJA.
2. Media VJA ditambah 50 ml aquadest kemudian dipanaskan sampai mendidih.
3. Media di masukkan ke tabung reaksi masing-masing 10 ml dan ditutup kapas.
4. Kemudian disterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.
5. Untuk digunakan media VJA yang sudah disteril dituang ke cawan petri steril secara aseptis dan ditambah dengan kalium telurit

Media MHA (*Mueller Hilton Agar*)

1. Timbang 28,5 gram media MHA.
2. Media MHA ditambah 750 ml aquadest kemudian dipanaskan sampai mendidih.
3. Media di masukkan ke tabung reaksi masing-masing 20 ml dan ditutup kapas.
4. Kemudian disterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.
5. Untuk digunakan media MHA yang sudah disteril dituang ke cawan petri steril secara aseptis masing-masing 60 ml kemudian dipadatkan.



Gambar 21. autoclave

Lampiran 7. Komposisi Media

Medium BHI (*Brain Heart Infusion*)

Brain Heart Infusion from (solids)	6.0 g
Peptic Digest of Animal Tissue	6.0
Sodium Chloride	5.0
Dextrose	3.0
Pancreatic Digest of Gelatin	14.5
Disodium Phosphate	2.5

Medium MCA (*Mac Conkey Agar*)

Pancreatic Digest of Gelatin	17.0 g
Pancreatic Digest of Casein	1.5
Peptic Digest of Animal Tissue	1.5
Lactose	10.0
Bile Salt	1.5
Sodium Chloride	5.0
Neutral Red	0.03
Crystal violet	0.001
Agar	13.5

Media *Selenite F Broth*

Pancreatic Digest of Casein	5.0
Lactose	4.0
Sodium Phosphate	10.0
Sodium Acid Selenite	4.0

Media SSA (*Salmonella Shigella Agar*)

Beef Extract	5.0 g
Pancreatic Digest of Casein	2.5
Peptic Digest of Animal Tissue	2.5
Lactose	10.0
Bile Salts	8.5
Sodium Citrate	8.5
Sodium Thiosulfate	8.5
Ferric Citrate	1.0
Neutral Red	0.025
Agar	13.5
Brilliant Green	0.330 mg

Media BSA (*Bismuth Sulfit Agar*)

Pancreatic Digest of Casein	5.0 g
Peptic Digest of Animal Tissue	5.0
Beef Extract	5.0
Dextrose	5.0
Disodium Phosphate	4.0
Ferrous Sulfate	0.3
Bismuth Sulfide Indicator	8.0
Brilliant Green	0.025
Agar	20.0

Media KIA (*Klinger's Iron Agar*)

Meat Extract	3.0 g
Yeast Extract	3.0
Peptone from casein	15.0
Peptone from meat	5.0
Lactose	10.0
D(+)Glucose	1.0
Ammonium iron (III) citrate	0.5
Sodium chloride	5.0
Sodium thiosulfate	0.5
Phenol red	0.024
Agar-agar	12.0

Media SIM (*Sulfida Indol Motility*)

Peptone from casein	20.0 g
Peptone from meat	6.6
Ammonium iron (III) citrat	0.2
Sodium thiosulfate	0.2
Agar-agar	3.0

Media LIA (*Lysine Iron Agar*)

Special peptone	4.5 g
Peptone from soybean meal	2.0
Yeast extract	3.0
D(+)Glucose	1.0
Sodium chloride	5.0
Sodium thiosulfate	0.2
L(+) Lysine monohydrochloride	10.0
Bromocresol purpel	0.032
Agar-Agar	6.0

Media Citrat (*Simmons Citrat Agar*)

Ammonium dihydrogen phosphate	1.0 g
di-Potassium hydrogen phosphate	1.0
Sodium chloride	5.0
Sodium citrate	2.0
Magnesium sulfate	0.2
Bromothymol blue	0.08
Agar-agar	12.0

Media VJA (*Vogel Johnson Agar*)

Pancreatic Digest of Casein	10.0 g
Yeast Extract	5.0
D-Mannitol	10.0
Dipotassium Phosphate	5.0
Lithium Chloride	5.0
Glycine	10.0
Agar	16.0
Phenol Red	25.0 mg

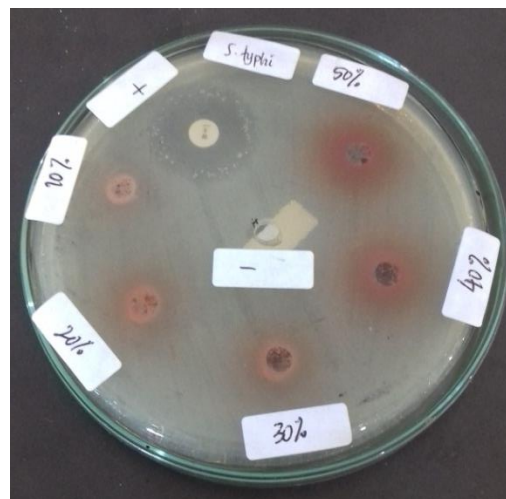
Media MHA (*Mueller Hilton Agar*)

Beef Extract	2.0 g
Acid Hydrolysate of Casein	17.5
Starch	1.5
Agar	17.0

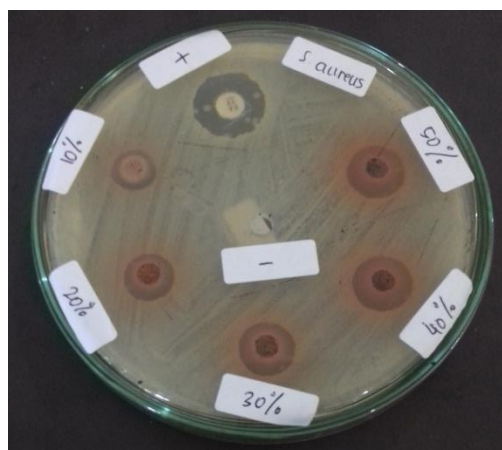
Lampiran 8. Pengujian Aktivitas Antibakteri



Gambar 22. Konsentrasi Ekstrak



Gambar 23. Uji Aktivitas Antibakteri *Salmonella typhi* Pengulangan



Gambar 24. Uji Aktivitas Antibakteri *Staphylococcus aureus* Pengulangan

Lampiran 9. Pengolahan SPSS

Tests of Normality

		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
konsentrasi	diameter zona hambat <i>Salmonella typhi</i>	.120	15	.200 [*]	.934	15	.316
	<i>Staphylococcus aureus</i>	.108	15	.200 [*]	.980	15	.971

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Test of Homogeneity of Variances

diameter zona hambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.637	1	28	.211

ANOVA

diameter zona hambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	374.533	1	374.533	36.839	.000
Within Groups	284.667	28	10.167		
Total	659.200	29			

Keterangan :

Hipotesis

H_0 = Diameter zona hambat *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* adalah sama

H_1 = Diameter zona hambat *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* adalah berbeda

Kriteria Uji

H_0 diterima bila $F_{hitung} < F_{kritis}$

H_0 ditolak bila $F_{hitung} > F_{kritis}$

F_{kritis} $df_1 : 2-1 = 1$

$df_2 : 30-2 = 28 \rightarrow$ nilai F_{kritis} pada tabel 4,20

$F_{hitung} \rightarrow 36.839$

$36,839 > 4,2 \rightarrow H_0$ ditolak

Kesimpulan :

Diameter zona hambat *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* adalah berbeda