

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT, DAN
AIR DARI EKSTRAK ETANOL BUAH MAJA (*Aegle marmelos* Linn.)
TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**



Oleh:

**Dika Putri Ratna Sari
19133802 A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT, DAN
AIR DARI EKSTRAK ETANOL BUAH MAJA (*Aegle marmelos* Linn.)
TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**



SKRIPSI

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
derajat Sarjana Farmasi (S.Farm)
Program Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi*

Oleh:

**Dika Putri Ratna Sari
19133802 A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT, DAN
AIR DARI EKSTRAK ETANOL BUAH MAJA (*Aegle marmelos* Linn.)
TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

Oleh
Dika Putri Ratna Sari
19133802 A

Dipertahankan dihadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 9 Juni 2017

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi

Dekan,







Prof. Dr. R. A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt.

Pembimbing Utama

Mamik Ponco Rahayu, M.Si., Apt.
Pembimbing Pendamping,

D. Andang Arif Wibawa, S.P., M.Si.
Penguji :

1. Dr. Ana Indrayati, M.Si
2. Anita Nilawati, M.Farm., Apt
3. Destik Wulandari, S.Pd., M.Si
4. Mamik Ponco Rahayu, M.Si., Apt

1. 
2. 
3. 
4. 

HALAMAN PERSEMBAHAN



“Dan bahwa seorang manusia tidak akan memperoleh sesuatu selain apa yang telah diusahakannya sendiri”. (Q.s. an-Najm [53] : 39)

Raihlah ilmu dan jalan untuk meraih ilmu dengan cara belajar untuk tenang dan juga bersabar. (Umar bin khattab)

Sesungguhnya setelah kesusahan pastilah akan datang kemudahan.

(Q.s. al-Insyirah [94] : 5-6)

“Man Jadda Wajada”

Kupersembahkan skripsi ini untuk :

- ❖ Allah SWT yang telah memudahkan urusanku dan menuntun segala usahaku.
- ❖ Bapak (Darmadi), Ibu (Tutik A), Adik-adikku (Dinda M dan Dhion F), Kakakku (Bagus A), Dia (Yhoga P.P.W dan adik Rara A.N), dan seluruh keluargaku yang sangat aku sayangi, terimakasih untuk motivasi, doa, nasehat, perhatian, serta semangat untuk segera menyelesaikan skripsi ini.
- ❖ Dosen pembimbingku, Ibu Mamik Ponco Rahayu dan Bapak D. Andang Arif Wibawa, terimakasih telah sabar dan ikhlas meluangkan waktu dan perhatiannya dalam memberikan ilmu, nasehat serta bimbingan dalam menyelesaikan skripsi ini.
- ❖ Sahabatku Atmita D.W, Yuliana D, Hanifati E.S, Nanda N.R, dan partner usahaku Menix F dan Tesa I.P yang telah membantu dan memberikan semangat.
- ❖ Almamaterku, Fakultas Farmasi, Agama, Bangsa, dan Negara.

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 yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

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

Surakarta, 9 Juni 2017



Dika Putri Ratna Sari

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Tuhan YME yang telah melimpahkan rahmat dan hidayat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT, DAN AIR DARI EKSTRAK ETANOL BUAH MAJA (*Aegle marmelos* Linn.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923”. Skripsi ini ditulis untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Farmasi (S.Farm) pada Fakultas Farmasi di Universitas Setia Budi.

Selama penulisan laporan ini penulis banyak mendapat bantuan, saran dan dorongan dari berbagai pihak. Penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Dr. Djoni Tarigan, MBA., selaku rektor Universitas Setia Budi Surakarta.
2. Prof. Dr. R. A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
3. Mamik Ponco Rahayu, M.Si., Apt., selaku Pembimbing Utama yang telah berkenan meluangkan waktu guna memberikan bimbingan, pengarahan serta motivasi dalam menyusun Skripsi ini.
4. D. Andang Arif Wibawa, S.P., M.Si., selaku Pembimbing Pendamping yang telah memberikan bimbingan, pengarahan dalam menyusun Skripsi ini.
5. Dr. Ana Indrayati, M.Si., selaku Penguji 1 yang telah memberikan bimbingan, kritik, saran, masukan dan pengarahan demi kesempurnaan penulisan Skripsi ini
6. Anita Nilawati, M.Farm., Apt., sebagai penguji 2 yang telah memberikan bimbingan dan nasehat demi kesempurnaan penulisan Skripsi ini.
7. Destik Wulandari, S.Pd., M.Si., sebagai penguji 3 yang telah memberikan bimbingan dan nasehat demi kesempurnaan penulisan Skripsi ini.
8. Staf karyawan laboratorium yang telah meluangkan waktunya untuk mendampingi praktek Skripsi ini dengan sabar sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi ini dengan lancar.
9. Bapak, ibu, adik-adikku, dan semua keluargaku yang selalu memberikan semangat.

10. Teman-temanku (menix, tesa, mita, hani, devi, nanda, adhe, tiara dan semuanya) yang telah membantu dan memberikan semangat.
11. Teman-teman Teori 2 angkatan 2013 dan FKK 2.
12. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu, terima kasih

Dalam penyusunan skripsi ini, penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dan jauh dari sempurna, maka penulis mengharapkan saran dan masukan yang bersifat membangun demi perbaikan dan kesempurnaan skripsi ini.

Surakarta, 9 Juni 2017



Dika Putri Ratna Sari

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
PENGESAHAN SKRIPSI	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	iii
PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vii
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.....	4
D. Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
A. Tanaman Maja	6
1. Sistematika tumbuhan	6
2. Nama daerah.....	6
3. Deskripsi tanaman	6
4. Kandungan kimia	7
4.1. Alkaloid.....	7
4.2 Flavonoid.....	7
4.3 Saponin.....	7
4.4 Tanin.....	8
4.5 Triterpenoid	8
5. Kegunaan tanaman	8
B. Simplisia	9
1. Pengertian simplisia	9
2. Pengeringan dan pencucian simplisia.....	9

C.	Pelarut dan Ekstraksi	10
1.	Pengertian ekstraksi.....	10
2.	Maserasi.....	10
3.	Fraksinasi.....	11
4.	Cairan penyari untuk ekstraksi	11
4.1	Etanol 70%.....	11
4.2	<i>n</i> -Heksana	12
4.3	Etil Asetat.....	12
4.4	Air.....	12
D.	Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	13
E.	Tinjauan <i>Staphylococcus aureus</i>	14
1.	Sistematika bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	14
2.	Morfologi dan sifat bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	14
3.	Pathogenesis <i>Staphylococcus aureus</i>	15
F.	Mekanisme Kerja Antibakteri	16
G.	Media.....	16
H.	Sterilisasi	17
I.	Metode Uji Aktivitas Antibakteri	18
J.	Siprofloksasin	18
K.	Landasan Teori	19
L.	Hipotesis	22
BAB III METODE PENELITIAN.....		23
A.	Populasi dan Sampel.....	23
B.	Variabel Penelitian	23
1.	Identifikasi variabel utama	23
2.	Klasifikasi variabel utama	23
3.	Definisi operasional variabel utama	24
C.	Alat dan Bahan	25
1.	Alat	25
2.	Bahan.....	25
D.	Jalan Penelitian.....	25
1.	Determinasi tanaman	25
2.	Pembuatan serbuk buah maja	25
3.	Penentuan susut pengeringan	26
4.	Pembuatan ekstrak etanol buah maja	26
5.	Tes bebas etanol buah maja.....	26
6.	Identifikasi kandungan senyawa kimia pada serbuk, ekstrak dan fraksi buah maja.....	26
7.	Cara fraksinasi	27
8.	Sterilisasi	28
9.	Identifikasi bakteri uji <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	28
9.1	Identifikasi berdasarkan koloni	28
9.2	Identifikasi mikroskopis	28
9.3	Identifikasi biokimia.....	28

10. Pembuatan suspensi bakteri uji <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	29
11. Pengujian aktivitas antibakteri metode difusi dan dilusi	29
12. Identifikasi golongan senyawa fraksi teraktif secara KLT	30
11.1. Identifikasi alkaloid	31
11.2. Identifikasi flavonoid	31
11.3. Identifikasi steroid/triterpenoid.	31
E. Analisis Data	31
F. Skema Jalannya Penelitian	32
 BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	36
1. Determinasi tanaman maja (<i>Aegle marmelos</i> Linn.)	36
2. Pengeringan, dan pembuatan serbuk buah maja	36
3. Penetapan susut pengeringan serbuk buah maja	36
4. Pembuatan ekstrak buah maja	37
5. Tes bebas etanol ekstrak maserasi buah maja	37
6. Identifikasi kandungan kimia serbuk, ekstrak dari buah maja	38
7. Fraksinasi	39
7.1 Fraksi <i>n</i> -heksana	39
7.2 Fraksi etil asetat	40
7.3 Fraksi air	40
8. Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	41
9. Pembuatan suspensi bakteri uji <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	43
10. Pengujian aktivitas antibakteri secara difusi dan dilusi terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	43
11. Identifikasi fraksi paling aktif secara KLT	48
 BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	51
A. Kesimpulan	51
B. Saran	51
 DAFTAR PUSTAKA	52

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Buah Maja (<i>Aegle marmelos</i> (L.) Correa).....	6
Gambar 2. Skema pembuatan ekstrak etanol, fraksi <i>n</i> -heksana, etil asetat, dan air dari ekstrak buah maja (<i>A. marmelos</i> Linn.)	32
Gambar 3. Skema uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksi <i>n</i> -heksana, etil asetat, dan air dari buah maja terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 secara difusi	33
Gambar 4. Skema kerja pengujian aktivitas antibakteri ekstrak buah maja terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 dengan metode dilusi	34
Gambar 5. Skema kerja pembanding antibiotik siprofloksasin terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 dengan metode dilusi	35

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Perhitungan prosentase bobot kering terhadap bobot basah buah maja..	36
Tabel 2. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk buah maja.....	37
Tabel 3. Hasil pembuatan ekstrak maserasi buah maja.....	37
Tabel 4. Identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak buah maja	38
Tabel 5. Identifikasi kandungan kimia fraksi <i>n</i> -heksana, etil asetat, dan air buah maja.....	39
Tabel 6. Rendemen fraksi <i>n</i> -heksana	40
Tabel 7. Rendemen fraksi etil asetat	40
Tabel 8. Rendemen fraksi air	41
Tabel 9. Hasil identifikasi bakteri dengan uji katalase dan uji koagulasi	43
Tabel 10. Hasil diameter daya hambat pada uji antibakteri dari buah maja secara difusi terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	44
Tabel 11. Hasil pengujian antibakteri fraksi teraktif etil asetat dan pembanding siprofloksasin terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	47
Tabel 12. Hasil identifikasi fraksi paling aktif secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	48

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Hasil determinasi tanaman	59
Lampiran 2. Hasil perhitungan prosentase bobot kering terhadap bobot basah	60
Lampiran 3. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk buah maja dengan <i>Moisture Balance</i>	61
Lampiran 4. Perhitungan rendemen ekstrak buah maja secara maserasi menggunakan pelarut etanol 70%	62
Lampiran 5. Perhitungan rendemen fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air buah maja	63
Lampiran 6. Hasil preparasi sampel.....	65
Lampiran 7. Hasil tes bebas etanol	66
Lampiran 8. Hasil Identifikasi kandungan senyawa kimia pada serbuk, ekstrak dan fraksi buah maja.....	67
Lampiran 9. Hasil fraksinasi	68
Lampiran 10. Hasil identifikasi bakteri uji <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	69
Lampiran 11. Hasil pembuatan suspensi bakteri uji <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	70
Lampiran 12. Hasil uji aktivitas antibakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 secara difusi dan dilusi	71
Lampiran 13. Pembuatan seri konsentrasi ekstrak, fraksi <i>n</i> -heksana, etil asetat, dan air metode difusi	75
Lampiran 14. Pembuatan larutan stok fraksi etil asetat metode dilusi.....	76
Lampiran 15. Pembuatan larutan stok pembanding siprofloksasin metode dilusi	77
Lampiran 16. Foto hasil identifikasi golongan senyawa fraksi etil asetat dengan Kromatografi Lapis Tipis.....	78
Lampiran 17. Perhitungan R _f	80
Lampiran 18. Gambar alat yang digunakan	81
Lampiran 19. Formulasi dan pembuatan media.....	83
Lampiran 20. Hasil data difusi secara ANOVA <i>one way</i>	84

INTISARI

SARI, D.P.R., 2017, UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT, DAN AIR DARI EKSTRAK ETANOL BUAH MAJA (*Aegle marmelos* Linn.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Tanaman maja (*Aegle marmelos* Linn.) merupakan tanaman yang dapat digunakan sebagai obat tradisional. Buah maja yang matang dapat digunakan sebagai obat disentri kronis, diare, dan sembelit. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas dari fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, fraksi air, dan ekstrak etanol buah maja sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Buah maja diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%, ekstrak difraksi menggunakan pelarut *n*-heksana, etil asetat, dan air. Hasil ekstraksi dan fraksinasi dilakukan uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi dengan seri konsentrasi 50%; 25%; 12,5%, sedangkan metode dilusi dengan seri konsentrasi 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,563%; dan 0,781%. Kontrol positif yang digunakan adalah siprofloksasin dan kontrol negatif DMSO 5%. Hasil uji aktivitas antibakteri dianalisa dengan metode anova *one way*, dilanjutkan dengan uji tukey.

Hasil penelitian metode difusi menunjukkan bahwa fraksi etil asetat memiliki daya hambat yang paling besar pada konsentrasi 50% dengan rata-rata zona hambat sebesar 23,78 mm, sedangkan metode dilusi memiliki konsentrasi bunuh minimum sebesar 3,125% terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Fraksi etil asetat dari ekstrak etanol buah maja memiliki aktivitas antibakteri paling aktif dibandingkan dengan fraksi *n*-heksana dan fraksi air.

Kata kunci : buah maja (*Aegle marmelos* Linn.), *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, antibakteri, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, fraksi air

ABSTRACT

SARI, D.P.R., 2017, ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF n-HEXANE, ETHYL ACETATE AND WATER FRACTION OF THE ETHANOL EXTRACT OF MAJA FRUIT (*Aegle marmelos* Linn.) AGAINST *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, THESIS, FACULTY OF PHARMACY, UNIVERSITY SETIA BUDI, SURAKARTA.

Maja plant is a plant which can be used as a traditional medicine. The ripe maja fruit can be used as drug chronic dysentery, diarrhea, and constipation. This study aims to determine the activity of ethanolic extract, *n*-hexane fraction, ethyl acetate fraction, and water fraction of maja fruit as an antibacterial against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Maja fruit was extracted using maceration method with 70% ethanolic, then the fractionation used *n*-hexane, ethyl acetate, and water as solvent. The result of extraction and fractionation was tested for antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 used diffusion method by serial concentrations of 50%; 25%; 12,5%, while the dilution method by serial concentrations of 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,563%; dan 0,781%. The positive control used is ciprofloxacin and negative control used DMSO 5%. Test result of antibacterial activity were analyzed by one way anova method, followed by tukey test.

The results of diffusion method showed that ethyl acetate fraction had biggest inhibitory at concentration of 50% with mean inhibitory zone of 23,78 mm, while the dilution method had minimum killing concentration of 3,125% against ATCC *Staphylococcus aureus* 25923. The ethyl acetate fraction of maja fruit ethanol extract has the most active antibacterial activity compared with the *n*-hexane fraction and the water fraction.

Key words : maja fruit (*Aegle marmelos* Linn.), *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, antibacterial, *n*-heksana fraction, ethyl acetat fraction, water fraction

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Infeksi merupakan jenis penyakit yang paling banyak diderita oleh penduduk di negara berkembang, termasuk Indonesia. Salah satu penyebab penyakit infeksi adalah bakteri (Radji 2011). Sekitar 30% kejadian infeksi di Amerika Serikat berasal dari rumah sakit (*nosocomial infection*). Di Indonesia bakteri Gram negatif yang sering menjadi penyebab infeksi terkait rumah sakit cenderung resisten terhadap antibiotik yang digunakan (Bela 2011). Kasus resistensi bakteri terhadap antibiotik menjadi suatu masalah serius dalam dunia kesehatan. Data *Cancer for Disease Prevention* menyebutkan bahwa 13.300 pasien meninggal akibat infeksi bakteri yang resisten (Sengupta dan Chattopadhyay 2012).

Bakteri patogen lain yang sering menyebabkan tingginya kejadian infeksi nosokomial adalah *Staphylococcus aureus* (Tseng *et al.* 2004), bertanggung jawab atas 80% penyakit supuratif dengan permukaan kulit sebagai habitat alaminya (Nickerson *et al.* 2009). Hingga ditemukan suatu antibiotika agar penyakit infeksi yang berakibat kematian dapat sembuh dan memperlama kelangsungan hidup manusia (Kuswandi 2011).

Staphylococcus aureus merupakan penyebab infeksi piogenik (menghasilkan pus) pada manusia. *Staphylococcus aureus* bersifat koagulase positif, yang membedakannya dari spesies lain. Bakteri ini mudah tumbuh pada kulit yang mengalami radang, kulit yang mengalami luka mengarah pada infeksi dan proses-proses bernanah lainnya. *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan pneumonia, meningitis, endokarditis dan infeksi kulit (Jawetz *et al.* 2005). Tingkat infeksi *Staphylococcus aureus* terus meningkat pada dekade terakhir dan berkembang permasalahan resistensi antibiotik dalam pengobatan infeksi *Staphylococcus aureus* (Huttner *et al.* 2013). Penisilin sangat efektif untuk infeksi *Staphylococcus aureus* dan telah digunakan dalam pengobatan sejak tahun 1940-an (Appelbaum 2007). Tahun 1942 mulai ditemukan kasus resistensi

Staphylococcus aureus di rumah sakit. Prevalensi tersebut meningkat dengan ditemukannya *Staphylococcus aureus* yang menghasilkan penisilinase (DeLeo dan Chambers 2009). Resistensi *Staphylococcus aureus* terhadap methicillin (golongan penisilin) disebut *Methicillin Resistance Staphylococcus aureus* (MRSA) terkait dengan plasmid yang membawa gen blaZ yang menyandi β -laktamase. Resistensi *Staphylococcus aureus* juga dipengaruhi oleh ekspresi Penicillin Binding Protein 2a (PBP-2a) yang mengeffluks golongan penisilin keluar sel (Lencastre dan Oliveira 2007). Kasus resistensi *Staphylococcus aureus* terhadap golongan penisilin terjadi pada lebih dari 86% kasus (Shituu *et al.* 2011).

Antibiotik mempunyai peranan penting untuk mengatasi infeksi bakteri, dengan adanya antibiotik diharapkan mampu mengeliminasi bakteri penyebab infeksi pada manusia (Ganiswara 2005). Dampak negatif yang paling bahaya dari penggunaan antibiotik secara tidak rasional adalah muncul dan berkembangnya kuman-kuman kebal antibiotik atau dengan kata lain terjadinya resistensi antibiotik (Dwiprahasto 2005). Antibiotik terdiri atas antibiotik alami dan sintesis. Antibiotik sintesis memiliki efek buruk jika digunakan secara sembarangan. Antibiotik alami pada umumnya berasal dari metabolit sekunder yang diperoleh dari ekstrak suatu tanaman tertentu, yang ditengarai memiliki khasiat untuk obat (Siswandono & Soekardjo 2004). Mikroba dapat menghasilkan antibiotik yang diperoleh dari mikroba tanah, yaitu meliputi golongan bakteri, Actinomycetes, Fungi dan beberapa mikroba lainnya (Ambarwati dan Gama 2009).

Obat modern berakar pada tradisi etno botani menggunakan flora asli untuk mengobati gejala penyakit manusia atau untuk meningkatkan aspek-aspek tertentu dari kondisi tubuh (Thorfeldt 2005). WHO memperkirakan bahwa 80 % dari populasi negara-negara berkembang masih mengandalkan obat-obatan tradisional sebagian besar tanaman obat untuk kebutuhan perawatan kesehatan primer dan memastikan keselamatan pasien dengan meningkatkan keterampilan dan pengetahuan penyedia obat tradisional (WHO 2008).

Salah satu tanaman yang telah dimanfaatkan oleh masyarakat adalah buah maja. Tanaman maja atau disebut juga dengan mojo, adalah sejenis tumbuhan subtropis yang mudah tumbuh dan berkembang di hampir seluruh wilayah di

Indonesia. Buah maja ternyata dapat digunakan sebagai bahan baku pestisida nabati. Tanaman maja juga sering digunakan sebagai obat tradisional. Buah yang matang dapat diiris-iris, dikeringkan dan digunakan sebagai obat disentri kronis, diare, dan sembelit. Kulit batangnya digunakan untuk meracuni ikan. Akar maja digunakan sebagai obat penenang debaran jantung, gangguan pencernaan, dan bengkak lambung. Daun maja mengandung saponin dan tanin, disamping itu akar dan kulit batangnya mengandung flavonoid, saponin dan polifenol (Nurcahyati 2008). Selain itu getah maja juga dapat digunakan sebagai obat yang berfungsi sebagai perekat untuk obat-obatan tablet (Patil *et al.* 2010).

Penelitian sebelumnya diperoleh hasil dari ekstrak etil asetat buah maja konsentrasi 100 mg/ml memiliki aktivitas terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan diameter hambat sebesar 19 mm (Amit dan Rashmi 2011). Penelitian yang dilakukan Sridhar (2014) bahwa ekstrak etanol buah maja konsentrasi 50 mg/ml memiliki daya antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dengan diameter hambat sebesar 17 mm.

Metode penyarian buah maja yang digunakan adalah maserasi dengan pelarut etanol 70% dan difraksinasi dengan *n*-heksana, etil asetat, dan air. Penggunaan pelarut yang berbeda polaritasnya disebabkan karena kandungan senyawa kimia yang terdapat pada buah maja mempunyai polaritas yang berbeda-beda sehingga dilakukan fraksinasi dan dapat diketahui fraksi yang aktif terhadap *Staphylococcus aureus*.

Metode yang digunakan untuk menguji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menggunakan metode difusi dan metode dilusi. Metode difusi yaitu metode yang dapat dilakukan dengan menggunakan cakram (*disk*) kertas saring, sumuran atau silinder, dilakukan dengan memasukkan larutan uji dengan konsentrasi tertentu ke dalam sumuran. Metode difusi agar dipengaruhi oleh faktor fisika kimia, faktor antar obat dan organisme (Jawetz *et al.* 2001). Metode dilusi yaitu metode dengan konsentrasi yang menurun secara bertahap dengan media cair, kemudian ekstrak diinokulasikan pada media serta ditambah bakteri uji lalu diinkubasi 24-48 jam (Jawetz *et al.* 2001). Metode dilusi bermanfaat untuk

menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM).

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, permasalahan pada penelitian ini dapat dirumuskan sebagai berikut :

Pertama, apakah fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari ekstrak etanol buah maja (*Aegle marmelos* Linn.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?

Kedua, manakah fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air dari ekstrak etanol buah maja (*Aegle marmelos* Linn.) yang paling efektif sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?

Ketiga, berapakah KHM dan KBM dari fraksi teraktif ekstrak etanol buah maja (*Aegle marmelos* Linn.) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian uji aktivitas antibakteri fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari ekstrak etanol buah maja (*Aegle marmelos* Linn.) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 sebagai berikut :

Pertama, mengetahui aktivitas antibakteri fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari ekstrak etanol buah maja (*Aegle marmelos* Linn.) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Kedua, mengetahui fraksi yang paling efektif sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Ketiga, mengetahui KHM dan KBM dari fraksi teraktif ekstrak etanol buah maja (*Aegle marmelos* Linn.) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

D. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan mampu memberikan informasi bagi masyarakat dan ilmu pengetahuan dalam bidang obat tradisional serta digunakan

dalam upaya pemanfaatan buah maja (*Aegle marmelos* Linn.) sebagai obat antibakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Maja

1. Sistematika tumbuhan

Menurut BPOM RI. 2008 sistematika tanaman maja (*Aegle marmelos* Linn.) sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Bangsa	: Sapindales
Suku	: Rutaceae
Marga	: Aegle
Jenis	: <i>Aegle marmelos</i> (L.) Correa



**Gambar 1. Buah Maja (*Aegle marmelos* (L.) Correa)
(BPOM RI. 2008)**

2. Nama daerah

Melayu : Bilak. Jawa : Maja/ Mojo legi. Madura : Maos. Alor: Kabila (BPOM RI. 2008).

3. Deskripsi tanaman

Habitus berupa pohon tahunan dengan tinggi 10-15 m. Batangnya berkayu, bulat, bercabang, berduri dan berwarna putih kekuningan. Daunnya tersebar pada batang muda, berbentuk lonjong dengan ujung dan pangkal runcing, tepi bergerigi

atau berlekuk tidak dalam. Panjang daun 4-13,5 cm, lebar 2-3,5 cm, berwarna hijau. Bunga berupa bunga majemuk, bentuk malai. Daun mahkota lonjong, berwarna hijau dengan panjang 1-1,5 cm. Buah berbentuk bola, diameter 5-12 cm, berdaging dan berwarna coklat. Biji berbentuk pipih dan berwarna hitam. Akar tunggang berwarna putih kotor (BPOM RI. 2008).

4. Kandungan kimia

Amit dan Rashmi (2011) menyatakan bahwa kandungan buah maja diantaranya alkaloid, terpenoid, polifenol, saponin, tanin, dan plobatanin. Penelitian lain juga disebutkan pula kandungan buah maja diantaranya alkaloid, flavonoid, fenol dan tanin (Sridhar 2014). Kandungan yang diduga memiliki aktivitas antibakteri pada buah maja yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan steroid/triterpenoid.

4.1. Alkaloid. Alkaloid dilaporkan memiliki antimikroba spektrum luas, antiradikal, antioksidan, antiplasmodial, antikanker dan antimutagenik. Alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Mekanisme yang diduga adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Juliantina *et al.* 2008).

4.2 Flavonoid. Flavonoid adalah senyawa yang terdapat dalam tumbuhan terikat pada gula sebagai glikosida dan aglikon flavonoid yang mungkin saja terdapat dalam satu tumbuhan dalam beberapa bentuk kombinasi glikosida, larut dalam air. Flavonoid terdapat dalam tumbuhan sebagai campuran, jarang sekali dijumpai hanya flavonoid tunggal dalam jaringan tumbuhan (Harborne 2006). Senyawa flavonoid merupakan golongan senyawa fenol, diduga mekanisme kerjanya dengan mendenaturasikan protein sel dan merusak membran sel mikroorganisme. Suatu substansi yang dapat mendenaturasikan protein dan merusak sel tanpa dapat diperbaiki lagi (*irreversible*) sehingga pertumbuhan mikroba terhambat (Gunawan dan Mulyani 2004).

4.3 Saponin. Saponin merupakan jenis glikosida yang banyak ditemukan dalam tumbuhan, sehingga dapat direaksikan dengan air dan digojoj maka akan terbentuk busa yang dapat bertahan lama. Saponin mudah larut dalam air dan

etanol tetapi tidak larut dalam eter. Saponin memiliki rasa pahit menusuk dan menyebabkan bersin serta iritasi pada selaput lendir. Saponin bersifat racun bagi hewan berdarah dingin maka saponin dapat digunakan sebagai racun ikan. Saponin bersifat keras atau racun biasa disebut sebagai saponotoksin (Prihatman 2001). Mekanisme kerja saponin termasuk dalam kelompok antibakteri yang memiliki kemampuan dalam menghambat fungsi membran sel sehingga merusak permeabilitas membran yang mengakibatkan dinding sel rusak atau hancur (Ayuningtyas 2008).

4.4 Tanin. Tanin adalah polifenol tanaman yang berfungsi mengikat dan mengendapkan protein. Tanin juga dipakai untuk menyamak kulit. Terapi di dunia pengobatan, tanin berfungsi untuk mengobati diare, menghentikan pendarahan, dan mengobati ambeien. Tanin merupakan senyawa fenolik kompleks yang memiliki berat molekul 500-3000. Tanin dibagi menjadi beberapa kelompok, yaitu berdasarkan tipe struktur dan aktivitasnya terhadap senyawa hidrofilik terutama asam, tanin terkondensasi dan tanin yang dapat dihidrolisis (Lenny 2006).

4.5 Triterpenoid. Triterpenoid adalah senyawa yang kerangka karbonnya dari enam satuan isoprena dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C-30 asiklik yaitu skualena. Senyawa ini tidak berwarna, berbentuk Kristal, bertitik leleh tinggi dan bersifat optis aktif. Triterpenoid dibagi menjadi empat golongan senyawa yaitu triterpen, saponin, steroid, dan glikosida jantung (Harborne 1987). 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 merupakan pintu keluar masuknya senyawa akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri dan mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (Cowan 1999).

5. Kegunaan tanaman

Widyaningrum (2011) mengungkapkan bahwa, secara tradisional maja dijadikan obat untuk mengobati luka, gatal, demam, diare, dan hipokondria. Maja telah lama digunakan oleh masyarakat pedesaan sebagai obat tradisional seperti

merebus daunnya dan meminum air hasil rebusannya dan dipercaya dapat menurunkan tekanan darah tinggi atau hipertensi.

Buah maja juga dapat digunakan sebagai bahan baku pestisida nabati. Tanaman maja juga sering digunakan sebagai obat tradisional. Buah yang matang dapat diiris-iris, dikeringkan dan digunakan sebagai obat disentri kronis, diare, dan sembelit. Kulit batangnya digunakan untuk meracuni ikan. Akar maja digunakan sebagai obat penenang debaran jantung, gangguan pencernaan, dan bengkak lambung (Nurcahyati 2008). Selain itu getah maja juga dapat digunakan sebagai obat *pharmaceutical* yang berfungsi sebagai perekat untuk obat-obatan tablet (Patil *et al* 2010).

B. Simplisia

1. Pengertian simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga, kecuali dinyatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia nabati adalah berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Eksudat tanaman adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau isi sel dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya, atau zat-zat nabati lainnya yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tanamannya dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan utuh, bagian dari hewan, atau zat-zat yang berguna yang dihasilkan dari hewan dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia pelikan (mineral) adalah simplisia yang berupa bahan pelikan (mineral) yang belum diolah atau diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia murni (Gunawan dan Mulyani 2004).

2. Pengeringan dan pencucian simplisia

Tujuan pengeringan simplisia adalah untuk menurunkan kadar air sehingga bahan tersebut tidak mudah ditumbuhi kapang dan bakteri. Pengeringan bahan simplisia dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu pengeringan di bawah sinar matahari dan pengeringan teduh. Kelemahan pengeringan dibawah sinar matahari adalah suhu dan kelembapan yang tidak terkontrol, membutuhkan tempat yang luas dan terbuka sehingga kemungkinan terjadi kontaminasi mikroba lebih besar.

Pengeringan ditempat yang teduh biasanya digunakan untuk bahan baku yang kandungan utamanya minyak atsiri atau senyawa lain yang sifatnya termostabil (Depkes RI 2008).

Pencucian dilakukan untuk memisahkan kotoran atau bahan asing lainnya dari bahan simplisia. Pencucian dilakukan dengan air bersih. Bahan simplisia yang mengandung zat yang mudah larut dalam air, pencucian agar dilakukan dalam waktu yang secepat mungkin (Prastowo 2013).

C. Pelarut dan Ekstraksi

1. Pengertian ekstraksi

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Depkes RI 2000). Pemilihan pelarut sangat penting dalam proses ekstraksi sehingga bahan berkhasiat yang akan ditarik dapat tersari sempurna (Farouq 2003).

Ekstrak tumbuhan obat yang dibuat dari simplisia nabati dapat dipandang sebagai bahan awal, bahan antara atau bahan produk jadi. Ekstrak sebagai bahan awal dianalogkan dengan komoditi bahan baku obat yang dengan teknologi fitofarmasi diproses menjadi produk jadi. Ekstrak sebagai bahan antara berarti masih menjadi bahan yang dapat diproses lagi menjadi fraksi-fraksi, isolat senyawa tunggal atau sebagai campuran dengan ekstrak lain. Ekstrak sebagai produk jadi berarti ekstrak yang berada dalam sediaan obat jadi siap digunakan oleh penderita (Depkes RI 2000).

2. Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Prinsip metode ini adalah pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi kinetik berarti dilakukan pengadukan yang kontinyu (terus-menerus). Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut

setelah dilakukan penyaringan maserat pertama, dan seterusnya (Depkes RI 2000).

3. Fraksinasi

Fraksinasi adalah prosedur pemisahan yang bertujuan memisahkan golongan utama kandungan yang satu dengan yang lain, merupakan suatu pemisahan senyawa berdasarkan perbedaan kepolaran dalam suatu herba. Mula-mula ekstrak kental difraksinasi berturut-turut dengan larutan penyari yang berbeda-beda polaritasnya. Masing-masing pelarut secara selektif memisahkan kelompok kandungan kimia tersebut, mula-mula disari dengan pelarut nonpolar, kemudian disari dengan pelarut semi polar dan yang terakhir dengan pelarut polar (Harborne 2007).

4. Cairan penyari untuk ekstraksi

Pemilihan larutan penyari juga harus memenuhi kriteria yaitu murah dan mudah diperoleh, stabil secara kimia dan fisika, beraksi netral, tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar, selektif yaitu menarik zat berkhasiat yang dikehendaki dan tidak mempengaruhi zat berkhasiat.

Etanol dapat melarutkan alkaloid basa, minyak menguap, glikosida, kumarin, flavonoid, antrakuinon, steroid, dan klorofil. Lemak, malam, tanin, dan saponin hanya sedikit larut. Etanol dipertimbangkan sebagai larutan penyari karena lebih selektif, kapang dan kuman kulit tidak dapat tumbuh dalam etanol 20% ke atas, tidak beracun, netral, absorbsinya baik, etanol dapat bercampur dengan air pada skala perbandingan, panas diperlukan lebih sedikit (Depkes 2005).

4.1 Etanol 70%. Etanol merupakan pelarut yang baik untuk ekstraksi pendahuluan agar diperoleh hasil yang baik, penyarian biasanya digunakan campuran antara etanol dan air. Etanol 70% dipertimbangkan sebagai penyari karena lebih efektif dalam menghasilkan jumlah bahan yang optimal dan bahan yang diperlukan hanya sedikit yang turut ke dalam pengekstraksi. Keuntungan etanol 70% antara lain tidak beracun, absorbsinya baik. Sulit ditumbuhi mikroorganisme, efektif dalam menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal dimana bahan pengotor hanya dalam skala kecil ikut dalam cairan pengekstraksi,

dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan, dan dapat melarutkan alkaloid basa, minyak menguap, glikosida, kurkumin, kumarin, antrakinon, flavonoid, steroid, dammar, klorofil, tanin, dan saponin. Lemak dan malam hanya sedikit yang larut (List 2000).

4.2 *n*-Heksana. *n*-heksana merupakan hasil penyulingan minyak tanah yang bersih, terdiri dari suatu campuran rangkaian hidrokarbon, tidak berwarna atau pucat, transparan, bersifat volatil, mudah terbakar, dan bau karakteristik. Pelarut *n*-heksana tidak dapat larut dalam air, dapat larut dalam alkohol, benzen, kloroform, eter. Uapnya mudah meledak bila berkaitan dengan udara, maka sebaiknya disimpan pada tempat yang dingin. Pelarut ini bersifat nonpolar yang dapat melarutkan minyak lemak dan asam lemak tinggi, steroid, triterpenoid, serta karotenoid (Kristijono 2008). Pelarut *n*-heksana dipilih dalam penelitian ini karena memiliki nilai tetapan dielektrik yang lebih kecil dibandingkan dengan pelarut nonpolar lainnya seperti toluen, benzen, dan sikloheksana yang sebesar 2,0. Semakin kecil nilai tetapan dielektrik dari pelarut maka pelarut tersebut semakin bersifat nonpolar (Khopkar 2003).

4.3 Etil Asetat. Etil asetat merupakan suatu cairan jernih, tidak berwarna bau seperti buah. Etil asetat larut dalam 15 bagian air. Etil asetat dapat tercampur dengan eter, etanol dan kloroform. Etil asetat adalah pelarut yang bersifat semipolar, mudah terbakar dan menguap, maka penyimpanan sebaiknya dilakukan dalam wadah tertutup rapat serta terhindar dari panas. Senyawa yang larut dalam pelarut ini adalah flavonoid, alkaloid, senyawa-senyawa fenolik seperti fenol-fenol, asam fenolat, fenil propanoid, antrakinon dan xanton (Harborne 2006).

4.4 Air. Air dimanfaatkan sebagai penyari karena murah, mudah diperoleh, stabil, tidak mudah menguap dan terbakar, tidak beracun serta alamiah. Air dapat melarutkan gula, gom, pati, protein, enzim, lendir, lilin, lemak, peptida, minyak menguap, garam alkaloid, zat warna dan asam organik (List dan Schamidt 2000). Pelarut air dipilih dalam penelitian ini karena memiliki nilai tetapan dielektrik yang lebih besar dibandingkan dengan pelarut polar lainnya seperti metanol dan etanol yaitu sebesar 78,5. Semakin besar nilai tetapan dielektrik dari pelarut maka pelarut tersebut semakin bersifat polar (Khopkar 2003).

D. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan salah satu metode pemisahan dan alat uji senyawa kimia secara kualitatif dan kuantitatif. Senyawa yang diuji dapat berupa senyawa tunggal maupun campuran dari produk pabrik, hasil sintesis, isolasi dari hewan percobaan, maupun dari tanaman dan mikroorganisme. Kromatografi Lapis Tipis merupakan metode yang mudah penggunaannya, murah, dan selektif, walaupun sekarang telah dikembangkan (Sumarno 2000).

Beberapa petunjuk dalam memilih dan mengoptimasi fase gerak harus mempunyai kemurnian tinggi karena KLT merupakan teknik yang sensitif. Kedua, daya elusi fase gerak harus diatur sedemikian rupa sehingga harga R_f terletak antara 0,2 - 0,8 untuk memaksimalkan pemisahan. Ketiga, untuk pemisahan dengan menggunakan fase diam polar seperti silika gel, polaritas fase gerak akan menentukan kecepatan migrasi solut yang berarti juga menentukan nilai R_f . Penambahan pelarut yang bersifat polar seperti dietil eter kedalam pelarut non polar seperti metil benzen akan meningkatkan harga R_f secara signifikan. Keempat, solut-solut ionik dan solut – solut polar lebih baik digunakan campuran pelarut sebagai fase geraknya, seperti campuran air dalam methanol dengan perbandingan tertentu. Penambahan sedikit asam etanoat atau ammonia masing-masing akan meningkatkan solut-solut yang bersifat basa dan asam (Akhyar 2010).

Nilai R_f (Retardation faktor) merupakan parameter karakteristik kromatografi lapis tipis. Nilai R_f ini didefinisikan sebagai pembandingan antara jarak yang ditempuh senyawa dengan jarak yang ditempuh pelarut pengembang.

$$R_f = \frac{\text{jarak yang ditempuh senyawa}}{\text{jarak yang ditempuh pelarut pengembang}}$$

Faktor yang dapat mempengaruhi nilai R_f adalah struktur kimia dari senyawa yang dipisahkan, sifat dari penyerap (adsorben) dan derajat kemurniannya, kejernihan dari uap dalam chamber dan jumlah cuplikan yang digunakan (Akhyar 2010).

E. Tinjauan *Staphylococcus aureus*

1. Sistematika bakteri *Staphylococcus aureus*

Menurut Garrity *et al.* (2007) sistematika *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Firmicutes
Class	: Bacili
Ordo	: Bacillales
Famili	: Staphylococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i>

2. Morfologi dan sifat bakteri *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus adalah bakteri berbentuk bulat dengan diameter kira-kira 0,7-1,2 μm , dan biasanya hidup bergerombol seperti buah anggur. *Staphylococcus aureus* tidak bergerak karena tidak mempunyai flagella dan tidak membentuk spora. *Staphylococcus aureus* mudah tumbuh dalam keadaan aerobik maupun mikro-aerobik pada suhu optimum 37 °C. Koloni pada medium padat berbentuk bulat, halus, menonjol dan berkilauan, *Staphylococcus aureus* membentuk pigmen berwarna kuning emas (Jawetz *et al.* 2005).

Staphylococcus aureus adalah bakteri bersifat Gram positif, biasanya tersusun dalam rangkaian tidak beraturan seperti buah anggur. Beberapa diantaranya tergolong flora normal pada kulit dan selaput mukosa manusia, menyebabkan penanahan, abses, berbagai infeksi pirogen dan bahkan septikimia yang fatal. *Staphylococcus aureus* mengandung polisakarida dan protein yang berfungsi sebagai antigen dan merupakan substansi penting didalam struktur dinding sel, tidak membentuk spora, dan tidak membentuk flagel (Jawetz *et al.* 2005).

Staphylococcus aureus merupakan penyebab infeksi piogenik (menghasilkan pus) pada manusia. *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan sepsis pada luka bedah, abses payudara pada ibu-ibu, mata lengket, dan lesi-lesi kulit pada bayi (Jawetz *et al.* 2005).

Staphylococcus aureus dapat meragikan banyak karbohidrat dengan lambat, menghasilkan asam laktat tetapi tidak menghasilkan gas. Aktivitas proteolitik sangat bervariasi, tetapi katalase dihasilkan secara tetap. *Staphylococcus aureus* relatif resisten terhadap pengeringan dan terhadap panas (tahan pada suhu 50°C selama 30 menit). Banyak strain resisten terhadap penisilin karena membentuk penisilinase (*beta-laktamase*), suatu enzim yang merusak penisilin dengan memecahkan cincin beta-laktam. Pembentukannya diatur oleh plasmid yang dapat dipindahkan oleh bakteriofag (transduksi). Plasmid juga membawa kontrol genetik resistensi terhadap antibiotika lainnya, misalnya tetrasiklin dan eritromisin.

Staphylococcus aureus bersifat koagulasi positif, yang membedakannya dari spesies yang lain. Protein yang menyerupai enzim yang membekukan plasma beroksalat atau bersitrat. *Staphylococcus aureus* biasanya membentuk koloni berwarna abu-abu hingga kuning emas pekat. *Staphylococcus aureus* tumbuh dengan mudah pada sebagian besar media bakteriologis dengan kondisi aerob atau mikroaerofilik, tumbuh paling cepat pada 37°C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada temperatur ruang (20-25°C). Koloni pada media solid berbentuk bulat, halus, timbul, dan mengkilat (Jawetz *et al.* 2012).

3. Pathogenesis *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan penyebab infeksi yang bersifat *pyogenes* (pembentuk pus/nanah). Bakteri ini masuk ke dalam tubuh melalui folikel rambut, *sebaceous gland* (kelenjar keringat) atau luka-luka kecil. *Staphylococcus aureus* patogen mempunyai sifat dapat menghemolisa darah, menghasilkan koagulasi, membentuk pigmen berwarna kuning emas, dan dapat memecah manitol menjadi asam. Infeksi yang ditimbulkan oleh *Staphylococcus aureus* dapat meluas ke jaringan sekitarnya melalui darah dan limfe. Peranan yang bersifat menahun dan timbul radang yang disebut *osteomyelitis*. Perluasan lain juga dapat sampai ke paru-paru, selaput otak dan sebagainya (Suryono 2007).

Staphylococcus aureus terdapat di hidung pada 20-50% manusia. Kapasitas patogenik suatu galur *Staphylococcus aureus* adalah efek kombinasi faktor ekstraseluler dan toksin bersama dengan sifat invasif galur itu. *Staphylococcus*

aureus yang invasif dan patogenik menghasilkan koagulasi dan cenderung menghasilkan pigmen kuning serta bersifat hemolitik. Sekitar 50% galur *Staphylococcus aureus* dapat menghasilkan satu atau lebih jenis enterotoksin, seperti TSST-1, enterotoksin merupakan antigen super. Enterotoksin bersifat stabil panas dan resisten terhadap kerja enzim usus (Jawetz *et al.* 2012).

F. Mekanisme Kerja Antibakteri

Antibakteri merupakan bahan atau senyawa yang khusus digunakan untuk kelompok bakteri. Antibakteri dapat dibedakan berdasarkan mekanisme kerjanya, yaitu antibakteri yang menghambat pertumbuhan dinding sel, antibakteri yang mengakibatkan perubahan permeabilitas membran sel atau menghambat pengangkutan aktif melalui membran sel, antibakteri yang menghambat sintesis protein, dan antibakteri yang menghambat sintesis asam nukleat sel. Aktivitas antibakteri dibagi menjadi 2 macam yaitu aktivitas bakteriostatik (menghambat pertumbuhan tetapi tidak membunuh patogen) dan aktivitas bakterisidal (dapat membunuh patogen dalam kisaran luas) (Brooks *et al.* 2005).

Mekanisme kerja antibakteri dibagi dalam 5 kelompok, yaitu mengganggu metabolisme sel mikroba, menghambat sintesis dinding sel, mengganggu permeabilitas membran sel, menghambat sintesis protein sel, dan menghambat sintesis/merusak asam nukleat sel mikroba. Uji potensi antibakteri mempunyai tujuan mengukur aktivitas antibakteri dari suatu senyawa kimia terhadap bakteri. Tujuan pengukuran aktivitas antibakteri untuk menentukan potensi suatu zat antibakteri dalam larutan, konsentrasi suatu zat antibakteri terhadap cairan badan, jaringan dan kepekaan suatu bakteri terhadap konsentrasi-konsentrasi yang dikenal (Jawetz *et al.* 2012).

G. Media

Media adalah tempat jaringan untuk tumbuh dan mengambil nutrisi yang mengandung kehidupan jaringan. Media tumbuh menyediakan berbagai bahan yang diperlukan jaringan untuk hidup dan memperbanyak diri. Mikroba dapat tumbuh dan berkembangbiak dengan baik di dalam media yang mengandung

unsur hara yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangan mikroba. Media harus mempunyai tekanan osmosa, tegangan permukaan dan pH yang sesuai dengan kebutuhan mikroba. Media harus dalam keadaan steril artinya sebelum ditanami mikroba yang dimaksud, tidak ditumbuhi mikroba lain (Abdurahman 2008).

Berdasarkan kegunaannya media dapat dibedakan menjadi 3 yaitu media selektif, media diferensial, dan media diperkaya. Media selektif adalah media biakan yang mengandung paling sedikit satu bahan yang dapat menghambat perkembangbiakan mikroorganisme yang tidak diinginkan dan membolehkan perkembangbiakan mikroorganisme tertentu yang ingin diisolasi. Media diferensial digunakan untuk menyeleksi suatu mikroorganisme dari berbagai jenis dalam suatu lempengan agar. Media diperkaya digunakan untuk menumbuhkan mikroorganisme yang diperoleh dari lingkungan alami karena jumlah mikroorganisme yang ada terdapat dalam jumlah sedikit (Irianto 2006).

Konsistensi media dapat dibuat bermacam-macam berdasarkan pada keperluannya. Terdapat tiga bentuk media yaitu media cair, padat, dan setengah padat. Media cair (*liquid media*) dapat digunakan pembiakan organisme dalam jumlah besar, fermentasi dan berbagai uji. Media padat (*solid media*) digunakan untuk mengamati bentuk dan morfologi koloni serta mengisolasi biakan murni. Media setengah padat (*semisolid media*) digunakan untuk menguji ada atau tidaknya motilitas dan kemampuan fermentasi (Sriyanti dan Wijayani 2008).

H. Sterilisasi

Sterilisasi adalah tindakan untuk membebaskan alat atau media dari mikroba (Suriawiria 2005). Bahan atau peralatan yang digunakan dalam bidang mikrobiologi harus dalam keadaan steril. Steril artinya tidak ditumbuhi oleh mikroorganisme yang tidak diharapkan kehadirannya, baik yang akan merusak media atau mengganggu proses pertumbuhan mikroba. Steril akan didapatkan melalui sterilisasi yaitu suatu proses baik secara fisika, kimia, dan sarana fisikokimia yang akan membunuh mikroorganisme (Waluyo 2004). Metode fisika menggunakan cahaya matahari, pemanasan, vibrasi, radiasi, dan filtrasi. Metode

kimia yaitu berbahan cair (alkohol, aldehid, fenol, halogen, serta logam berat) dan gas (formaldehid dan etilen oksida). Sebuah metode fisikokimia merupakan penggabungan baik metode fisika maupun kimia. Penggunaan *steam* formaldehid adalah metode sterilisasi fisikokimia (Waluyo 2004).

I. Metode Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri suatu zat digunakan untuk mengetahui apakah zat tersebut dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri uji. Aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan dua metode yaitu :

Pertama, metode difusi. Metode ini dapat dilakukan dengan menggunakan cakram (*disk*) kertas saring, sumuran atau silinder, dilakukan dengan memasukkan larutan uji dengan konsentrasi tertentu ke dalam sumuran. Metode cakram kertas saring berisi sejumlah obat ditempatkan pada permukaan medium padat, medium sebelum digunakan diolesi bakteri uji. Diameter zona hambat sekitar cakram yang digunakan untuk mengukur kekuatan hambat obat. Metode difusi agar dipengaruhi oleh faktor fisika kimia, faktor antar obat dan organisme (Jawetz *et al.* 2001).

Kedua, metode dilusi. Metode ini menggunakan antimikroba dengan kadar yang menurun secara bertahap pada media cair maupun padat. Media diinokulasi terhadap bakteri uji, selanjutnya diinkubasi dan diamati konsentrasi antimikroba yang mampu menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri uji. Keuntungan metode ini adalah memberikan hasil kualitatif yang menunjukkan jumlah antimikroba yang dibutuhkan untuk mematikan bakteri (Jawetz *et al.* 2005).

J. Siprofloksasin

Sebagian besar galur *Staphylococcus* sudah resisten terhadap berbagai antibiotik, seperti penisilin, metisillin, sefalosporin, eritromisin, linkomisin, vankomisin, dan rifampisin, sehingga perlu diberikan antibiotik berspektrum lebih luas seperti kloramfenikol, amoksisilin, dan tetrasiklin (Jawetz *et al.* 2005).

Siprofloksasin adalah senyawa bakterisid turunan fluorokuinolon. Strukturnya berhubungan dengan asam nalidiksat tetapi mempunyai aktivitas

antibakteri yang lebih besar dan spektrum yang lebih luas dibanding asam tersebut.

Mekanisme kerja dari obat golongan kuinolon adalah dengan menghambat secara selektif sintesis asam deoksiribose nukleat (DNA) bakteri dengan memblokir sub unit A enzim DNA-girase, suatu tipe II topoisomerase. Hambatan tersebut menyebabkan sintesa DNA bakteri terganggu, sehingga menyebabkan bakteri mati. Siprofloksasin digunakan untuk pengobatan infeksi yang disebabkan oleh bakteri Gram-negatif, seperti *Escherichia coli*, *P. Mirabilis*, *Klebsiella sp*, *Shigella sp*, *Enterobacter* dan *Pseudomonas aeruginosa*, serta bakteri Gram positif tertentu, seperti *Staphylococcus sp*, dan *Streptococcus sp*. (Siswandono & Soekardjo 2008).

K. Landasan Teori

Tanaman adalah sumber yang paling penting untuk pengembangan obat baru karena pengakuan yang berkembang bahwa produk alami tidak beracun, memiliki efek samping yang lebih sedikit dan tersedia dengan harga terjangkau (Dahanukar *et al.* 2000). Salah satu tanaman yang telah dimanfaatkan oleh masyarakat adalah buah maja. Tanaman maja atau disebut juga dengan mojo, adalah sejenis tumbuhan subtropis yang mudah tumbuh dan berkembang di hampir seluruh wilayah di Indonesia. Buah maja ternyata dapat digunakan sebagai bahan baku pestisida nabati. Tanaman maja juga sering digunakan sebagai obat tradisional. Buah yang matang dapat diiris-iris, dikeringkan dan digunakan sebagai obat disentri kronis, diare, dan sembelit. Kulit batangnya digunakan untuk meracuni ikan. Akar maja digunakan sebagai obat penenang debaran jantung, gangguan pencernaan, dan bengkak lambung. Daun maja mengandung saponin dan tanin, disamping itu akar dan kulit batangnya mengandung flavonoid, saponin dan polifenol (Nurcahyati 2008). Selain itu getah maja juga dapat digunakan sebagai obat yang berfungsi sebagai perekat untuk obat-obatan tablet (Patil *et al.* 2010).

Penelitian sebelumnya diperoleh hasil dari ekstrak etil asetat buah maja konsentrasi 100 mg/ml memiliki aktivitas terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

dengan diameter hambatan sebesar 19 mm (Amit dan Rashmi 2011). Penelitian yang dilakukan Sridhar (2014) bahwa ekstrak etanol buah maja konsentrasi 50 mg/ml memiliki daya antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dengan diameter hambatan sebesar 17 mm.

Staphylococcus aureus merupakan penyebab infeksi piogenik (menghasilkan pus) pada manusia. Bakteri ini mudah tumbuh pada kulit yang mengalami radang, kulit yang mengalami luka mengarah pada infeksi dan proses-proses bernanah lainnya. *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan sepsis pada luka bedah, abses payudara pada ibu-ibu, mata lengket, dan lesi-lesi kulit pada bayi (Jawetz *et al.* 2005).

Menurut Amit dan Rashmi (2011) menyatakan bahwa kandungan buah maja diantaranya alkaloid, terpenoid, polifenol, saponin, tanin, dan plobatanin. Penelitian lain juga disebutkan pula kandungan buah maja diantaranya alkaloid, flavonoid, fenol dan tanin (Sridhar 2014).

Flavonoid memiliki aktivitas antibakteri dengan cara mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki kembali (Prayudhani *et al.* 2012). Saponin merupakan sebagai senyawa antibakteri karena memiliki kemampuan dalam merusak permeabilitas membran yang mengakibatkan dinding sel rusak atau hancur (Ayuningtyas 2008). Tanin dapat berikatan dengan dinding sel mikroorganisme dan dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme atau aktivitas enzim (Ajizah 2004). Alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri (Juliantina *et al.* 2008). Triterpenoid sebagai antibakteri adalah bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin (Cowan 1999).

Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 70%, *n*-heksana, etil asetat, dan air. Penelitian sebelumnya menggunakan ekstrak etil asetat buah maja memiliki aktivitas terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* (Amit dan Rashmi, 2011) dan penelitian yang dilakukan Sridhar (2014) menggunakan ekstrak etanol buah maja. Penggunaan pelarut yang berbeda polaritasnya disebabkan kandungan senyawa kimia yang terdapat pada buah maja mempunyai

polaritas yang berbeda-beda sehingga dilakukan fraksinasi dan akan diketahui fraksi yang aktif terhadap *Staphylococcus aureus*. Pada penelitian ini dilakukan modifikasi pelarut ekstraksi menggunakan etanol 70%. Etanol adalah pelarut serbaguna yang baik untuk ekstraksi dan kepolarannya hampir sama dengan metanol serta ketoksikan dari etanol lebih kecil dari metanol, karena metanol dapat menyebabkan kebutaan. *n*-heksana merupakan pelarut non polar digunakan untuk menyari senyawa seperti minyak atsiri, terpenoid, triterpenoid, sterol lemak, dan asam lemak, alkaloid, karotenoid, klorofil dan resin (Depkes 2005). Etil asetat bersifat semi polar sebagai pelarut karena dapat menarik senyawa golongan alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin (Putri *et al.* 2013). Air adalah pelarut yang sangat polar digunakan untuk menyari seperti antosianin, tanin, saponin, glikosida dan gula (Depkes 2005).

Pengukuran aktivitas antibakteri pada penelitian ini dilakukan dengan metode difusi dan metode dilusi. Metode difusi adalah suatu uji aktivitas antibakteri adalah dengan menggunakan suatu cakram kertas saring, suatu cakram yang berliang renik atau silinder tidak beralas yang mengandung obat dalam jumlah tertentu ditempatkan pada pembenihan yang telah ditanami dengan biakan bakteri. Luas daerah hambatan jernih obat dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan terhadap bakteri yang diperiksa (Jawetz *et al.* 1986). Metode dilusi berdasarkan pengamatan kekeruhan larutan. Metode dilusi dilakukan dengan cara membuat satu seri konsentrasi yang terdiri dari beberapa tabung reaksi, masing-masing tabung ditambahkan bahan uji yang akan diperiksa kecuali tabung untuk kontrol positif, kemudian tambahkan bakteri yang telah diencerkan 1 :1000 kedalam tiap-tiap tabung reaksi kecuali untuk kontrol negatif, hasil yang didapat di metode ini adalah Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) (Bonang dan Koeswardono 1982).

L. Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah :

Pertama, ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari buah maja (*Aegle marmelos* Linn.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Kedua, dari ekstrak etanol dan ketiga fraksi buah maja (*Aegle marmelos* Linn.) yang paling efektif sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 adalah fraksi etil asetat.

Ketiga, KBM dan KHM dari fraksi teraktif ekstrak etanol buah maja (*Aegle marmelos* Linn.) sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ditentukan dari hasil penelitian.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah maja yang diperoleh dari Desa Kenteng, Kelurahan Dukuh, Kecamatan Mojolaban, Sukoharjo, Jawa Tengah. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daging buah maja yang masak berwarna putih, kira-kira umur 4-5 bulan, yang kemudian dikeringkan serta dibuat serbuk dan diambil dari Sukoharjo, Jawa Tengah.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pertama dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol 70%, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari buah maja.

Variabel utama yang kedua dalam penelitian ini adalah aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari buah maja terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama memuat identifikasi dari semua variabel yang diteliti langsung. Variabel utama yang telah diidentifikasi dapat diklasifikasikan ke dalam berbagai macam variabel, yaitu variabel bebas, variabel kendali dan variabel tergantung.

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah fraksi *n*-heksana, etil asetat dan fraksi air dari ekstrak etanol buah maja dalam berbagai konsentrasi.

Variabel terkendali dalam penelitian adalah kemurnian bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, kondisi laboratorium meliputi kondisi inkas, suhu inkubasi, waktu inkubasi, sterilisasi, media yang digunakan dalam penelitian, dan metode ekstraksi.

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah pertumbuhan bakteri yang dipengaruhi oleh fraksinasi buah maja yang dilihat dari pertumbuhannya pada media selektif.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, buah maja (*Aegle marmelos* Linn.) adalah buah yang masih segar diambil dari Desa Kenteng, Kelurahan Dukuh, Kecamatan Mojolaban, Sukoharjo, Jawa Tengah.

Kedua, serbuk buah maja adalah buah maja yang diambil daging buahnya kemudian dicuci pada air mengalir, kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 40°C, dibuat serbuk dan diayak dengan ayakan nomor 40.

Ketiga, ekstrak etanol buah maja adalah serbuk buah maja (*Aegle marmelos* Linn.) yang diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%.

Keempat, fraksi *n*-heksana adalah ekstrak dari etanol buah maja (*Aegle marmelos* Linn.) yang difraksinasi dengan pelarut *n*-heksana sebagai pelarut non polar.

Kelima, fraksi etil asetat adalah fraksinasi dari residu fraksi *n*-heksana dengan menggunakan etil asetat sebagai pelarut semi polar.

Keenam, fraksi air dari buah maja adalah fraksinasi dari residu fraksi etil asetat dengan menggunakan air sebagai pelarut polar.

Ketujuh, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 adalah bakteri yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi Surakarta.

Kedelapan, metode difusi adalah metode yang digunakan untuk mengukur daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri. Kontrol negatif menggunakan pelarut DMSO dan kontrol positif menggunakan antibiotik siprofloksasin. Metode dilusi adalah berupa seri pengenceran dalam berbagai konsentrasi, yaitu 50%, 25%, 12,5%, 6,2%, 3,1%, 1,5%, 0,7%. Kontrol negatif menggunakan fraksi teraktif dan kontrol positif menggunakan suspensi bakteri.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat penggiling, botol maserasi, pembakar spirtus, timbangan analitis, corong pisah, tabung reaksi, erlenmeyer, cawan petri, inkas, jarum ose, rak tabung, autoklaf, timbangan analitik, oven, ayakan nomor 40, kain flanel, kertas saring, blank disk, lampu spiritus, gelas ukur, pipet volum, pinset, oven, plat KLT, detektor sinar 254 dan 366 nm, pipet ukur, *water bath*, *Moisture Balance*, *Rotary evaporator*, inkubator, kaca objek, dan mikroskop.

2. Bahan

Bahan sampel yang digunakan adalah buah maja (*A. marmelos* Linn.) dan bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Medium yang digunakan adalah *Brain Heart Infusion* (BHI), (MHA) *Mueller Hinton Agar*, *Vogel Johnson Agar* (VJA), dan plasma sitrat.

Bahan kimia yang digunakan adalah pelarut *n*-heksanaa, etil asetat, etanol 70%, aquadestilata, HCl, FeCl₃ 1%, DMSO 1%, kalium tellurite, larutan mayer, larutan Dragendrof, hidrogen peroksida, asetat, anhidrida, asam sulfat pekat, asam asetat, cat kristal violet, larutan lugol, iodine, safranin dan larutan standar Mc Farland 0,5.

D. Jalan Penelitian

1. Determinasi tanaman

Tahapan pertama penelitian adalah menetapkan kebenaran buah maja yang berkaitan dengan ciri-ciri morfologi yang ada pada tanaman maja sesuai kepustakaan. Determinasi dilakukan di Laboratorium Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta.

2. Pembuatan serbuk buah maja

Pembuatan serbuk buah maja dengan cara buah maja dicuci dengan air mengalir agar terbebas dari kotoran dan debu. Buah maja yang sudah bersih diambil daging buah dan bijinya, dipotong-potong dan ditimbang, setelah itu dikeringkan dengan oven pada suhu 40°C. Buah maja yang sudah kering diserbuk

dengan alat penyerbuk kemudian diayak dengan ayakan no. 40, sehingga diperoleh serbuk buah maja yang mempunyai derajat kehalusan relatif homogen. Penyerbukan dilakukan bertujuan agar luas partikel bahan yang kontak dengan larutan penyari dapat diperluas sehingga penyarian dapat berlangsung secara efektif.

3. Penentuan susut pengeringan

Penentuan susut pengeringan buah maja dilakukan dengan cara serbuk buah maja ditimbang sebanyak 2 gram, kemudian diukur kadar susut pengeringan dengan menggunakan alat *Moisture Balance* pada suhu 105°C dan dilakukan sebanyak 3 kali. Kadar air memenuhi syarat jika suatu serbuk simplisia tidak lebih dari 10%.

4. Pembuatan ekstrak etanol buah maja

Pembuatan ekstrak etanol buah maja dilakukan dengan metode maserasi. Serbuk buah maja ditimbang sebanyak 700 gram kemudian dimasukkan ke dalam botol coklat lalu ditambahkan etanol 70% sebanyak 5250 ml. Campuran tersebut didiamkan selama 5 hari dengan sesekali digojog. Filtrat dengan ampas dipisahkan dengan menggunakan kain flanel. Ampas dibilas dengan cairan penyari sebanyak 1750 ml. Filtrat yang didapat kemudian dipekatkan dengan *Rotary evaporator* dengan suhu dibawah 40°C, sehingga didapat ekstrak kental buah maja (Depkes 1986).

5. Tes bebas etanol buah maja

Ekstrak kental buah maja dilakukan uji bebas etanol dengan cara uji esterifikasi yaitu ekstrak ditambah dengan asam asetat pekat dan asam sulfat pekat, kemudian dipanaskan. Hasil uji positif bebas etanol ditandai dengan tidak terbentuk bau ester yang khas dari etanol (Praeparandi 2006).

6. Identifikasi kandungan senyawa kimia pada serbuk, ekstrak dan fraksi buah maja

Identifikasi kandungan senyawa kimia bertujuan untuk menetapkan kebenaran kandungan kimia yang terdapat dalam serbuk, ekstrak, dan fraksi buah maja. Identifikasi kandungan senyawa kimia dibuktikan di Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.

6.1. Identifikasi Alkaloid. Identifikasi dilakukan dengan cara sampel yang dilarutkan dalam 10 ml air panas, ditambah dengan 1,5 ml HCL 2% kemudian dilanjutkan dengan 2 sampai 4 tetes reagen Dragendroff. Alkaloid positif apabila terjadi kekeruhan atau endapan coklat (Harborne 2006).

6.2. Identifikasi Flavonoid. Identifikasi dilakukan dengan cara sampel dilarutkan dalam 10 ml air panas, dipanaskan 15 menit kemudian disaring. Filtratnya ditambahkan sedikit serbuk Mg dan 2 ml larutan etanol-asam klorida (1:1) dan pelarut amil alkohol. Campuran tersebut dikocok kuat-kuat, kemudian dibiarkan beberapa saat agar memisah. Flavonoid positif ditunjukkan dengan warna merah atau kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol (Harborne 2006).

6.3. Identifikasi Saponin. Identifikasi dilakukan dengan memasukkan 0,5 gram sampel kedalam tabung reaksi, ditambah 10 ml air panas, didinginkan, kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 menit. Saponin positif bila terbentuk buih mantap setinggi 1-10 cm pada penambahan HCL 2 N buih tidak hilang (Depkes 1979).

6.4. Identifikasi Tanin. Identifikasi dilakukan dengan memasukkan sampel sebanyak 0,5 gram ke dalam tabung reaksi kemudian larutkan dengan 10 ml aquadest, saring dan filtrat ditambah 3 tetes FeCl_3 1%. Tanin positif ditunjukkan dengan terbentuk warna hijau kehitaman (Setyowati et al. 2014).

6.5. Identifikasi Triterpenoid. Identifikasi dilakukan dengan memasukkan sampel sebanyak 0,5 mg dilarutkan dalam 2 ml kloroform dalam tabung reaksi. Tambahkan 10 tetes anhidrida asetat dan 3 tetes asam sulfat pekat. Triterpenoid positif apabila terbentuk larutan warna jingga dan ungu.

7. Cara fraksinasi

Fraksinasi dilakukan dengan cara menimbang 10 gram ekstrak buah maja kemudian dilarutkan dengan pelarut air 75 ml, masukkan kedalam corong pisah dan ditambahkan pelarut *n*-heksana masing-masing 75 ml, difraksinasi sebanyak 3 kali. Fraksi *n*-heksana terletak diatas dan fase air dibagian di bawah. Hasil fraksi *n*-heksana yang didapat dipekatkan menggunakan evaporator pada suhu dibawah 40°C. Residu yang didapat dari fraksinasi *n*-heksana, kemudian dilanjutkan fraksinasi dengan pelarut etil asetat 75 ml sebanyak 3 kali. Fraksi etil asetat

terletak di atas dan fraksi air dibagian bawah. Hasil fraksi etil asetat dipekatkan dengan menggunakan evaporator pada suhu di bawah 40°C dan fraksi air dipekatkan dengan menggunakan *waterbath*.

8. Sterilisasi

Media yang digunakan disterilkan terlebih dahulu dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Cawan petri, gelas ukur, beker glass, erlenmeyer, dan tabung reaksi disterilkan dengan oven pada suhu 170-180°C selama 2 jam, sedangkan alat seperti jarum ose disterilkan dengan pembakaran menggunakan lampu spiritus dan inkas disterilkan dengan menggunakan formalin.

9. Identifikasi bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

9.1 Identifikasi berdasarkan koloni. Biakan bakteri diinokulasi dengan jarum ose pada media *Vogel Johnson Agar* (VJA) yang sudah ditambahkan kalium tellurite sebanyak 3 tetes dalam cawan petri, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil positif bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ditandai dengan warna koloni hitam dan warna medium di sekitar koloni kuning.

9.2 Identifikasi mikroskopis. Pewarnaan Gram *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dilakukan dengan cara membersihkan kaca objek agar terbebas dari lemak dan kotoran, kemudian mengambil 1 ose biakan bakteri dan dioleskan secara merata, kering anginkan dan difiksasi diatas lampu spiritus. Tetesi dengan larutan Gram A yang berisi kristal violet sebagai cat utamanya sampai semua ulasan terwarnai, diamkan selama kurang lebih 1 menit. Dicuci dengan air mengalir, kemudian tetesi Gram B yang berisi lugol iodine sebagai mordant, diamkan kurang lebih 1 menit kemudian dicuci dengan air mengalir dan dikering anginkan, preparat dilunturkan Gram C yang berisi alkohol dan didiamkan selama kurang lebih 45 detik. Dicuci dengan air mengalir kemudian tetesi Gram D yang berisi cat safranin sebagai penutup, diamkan selama kurang lebih 1 menit. Cuci dengan air mengalir kemudian kering anginkan preparat. Hasil dinyatakan positif apabila terdapat warna ungu, berbentuk bulat dan bergerombol seperti buah anggur ketika diamati di bawah mikroskop.

9.3 Identifikasi biokimia. Uji katalase dilakukan dengan cara suspensi bakteri uji yang ditambahkan 2 tetes hidrogen peroksida 3%. Penambahan H₂O₂ akan terurai menjadi H₂ dan O₂, hasil positif apabila terlihat gelembung udara di

sekitar koloni, karena *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 mempunyai enzim katalase.

Uji koagulase dilakukan dengan cara plasma darah kelinci yang diberi asam sitrat, ditambah 1 ose biakan bakteri, diinkubasi pada suhu 37 °C. Diamati pembentukan selama 1-4 jam, hasil positif jika tabung uji dibalik, gumpalan plasma tidak terlepas dan tetap melekat pada dinding tabung.

10. Pembuatan suspensi bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Pembuatan suspensi bakteri uji dilakukan dengan mengambil 1 ose biakan murni bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, dimasukkan ke dalam tabung yang berisi 5 ml *Brain Heart Infusion* (BHI). Kekeruhannya disetarakan dengan larutan standar Mc. Farland 0,5 (kekeruhannya setara dengan Mc. Farland 0,5 mempunyai populasi $1,5 \times 10^8$ CFU/mL), kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

11. Pengujian aktivitas antibakteri metode difusi dan dilusi

Ekstrak etanol dari buah maja dan ketiga fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air yang didapatkan diuji secara mikrobiologi dengan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode difusi dan metode dilusi.

Metode difusi menggunakan cawan petri steril yang telah diisi dengan media MHA. Larutan stok ekstrak, fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air dibuat masing-masing tiga konsentrasi yaitu 50%, 25%, dan 12,5% dengan menggunakan pelarut DMSO 5%. Larutan stok ekstrak, fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air yang telah dibuat dengan berbagai konsentrasi diteteskan pada kertas cakram dengan ukuran 6 mm, kemudian diletakkan ke dalam cawan petri berisi media MHA yang telah memadat dan sudah diinokulasi dengan suspensi bakteri uji menggunakan kapas lidi steril secara aseptis. Kontrol positif diletakkan kertas cakram siprofloksasin 5 µg dan kontrol negatif diletakkan cakram yang telah ditetesi DMSO 5%, replikasi dilakukan tiga kali. Masa inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dan diamati hasilnya, kemudian dilakukan pengukuran diameter hambatan sekitar kertas cakram yang ditandai dengan adanya daerah jernih, dinyatakan dalam satuan mm. Daerah yang tidak ditumbuhi bakteri disekitar

cakram menandakan bahwa kandungan kimia buah maja memiliki daya hambat terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Metode dilusi menggunakan 9 buah tabung reaksi yang sudah disterilkan. Masing-masing tabung mempunyai konsentrasi yang berbeda yaitu 50%, 25%, 12,5%, 6,2%, 3,1%, 1,5%, 0,7%, kontrol (-), dan kontrol (+). Medium BHI dan fraksi teraktif dari buah maja dimasukkan ke dalam tabung reaksi masing-masing sebanyak 0,5 mL pada konsentrasi 25%, 12,5%, 6,2%, 3,1%, 1,5%, dan 0,7%, kemudian dilakukan pengenceran bertingkat secara aseptis. Suspensi bakteri dimasukkan ke dalam tabung reaksi pada konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,2%, 3,1%, 1,5%, dan 0,7% sebanyak 0,5 mL. Pada konsentrasi 50% hanya berisi fraksi teraktif buah maja dan suspensi bakteri uji masing-masing sebanyak 0,5 mL. kontrol (+) berisi suspensi bakteri 1 mL, kontrol (-) berisi fraksi etil asetat 1 mL. Seluruh tabung diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam, lalu diamati kekeruhannya. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ditentukan dengan melihat konsentrasi terkecil pada tabung yang ditunjukkan dengan hasil biakan yang mulai jernih, sedangkan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ditentukan dengan cara tabung yang jernih diinokulasi secara goresan pada media selektif, kemudian diinkubasi pada suhu kamar 37°C selama 24-48 jam. Pengamatan hasil metode dilusi dilihat ada atau tidaknya koloni warna hitam dan di sekitar koloni berwarna kuning pada permukaan media VJA. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ditunjukkan pada konsentrasi terendah yang tidak menunjukkan koloni bakteri yang tumbuh.

12. Identifikasi golongan senyawa fraksi teraktif secara KLT

Kromatografi Lapis Tipis dilakukan untuk menguji fraksi teraktif dari ekstrak etanol buah maja. Fraksi teraktif dilarutkan dalam pelarut yang sesuai, kemudian ditotolkan di atas lempeng kromatografi, setelah totolan kering, lempeng KLT dimasukkan dalam chamber yang sudah jenuh oleh fase gerak yang sesuai. Pengembangan dilakukan sampai jarak tertentu, ditunggu sampai lempeng kering, kemudian dilihat di bawah sinar UV 254 nm dan 366 nm serta diberikan pereaksi semprot yang sesuai. Bercak yang terdeteksi ditentukan harga R_f dan penampakan warnanya.

11.1. Identifikasi alkaloid. Fase diam yang digunakan adalah silika gel GF₂₅₄ dan fase geraknya toluene : etil asetat : dietilamin (7:2:1) dengan pereaksi semprot dragendroff. Noda alkaloid terlihat peredaman pada UV 254 nm beberapa alkaloid berfluoresensi biru atau kuning (Harborne 1987).

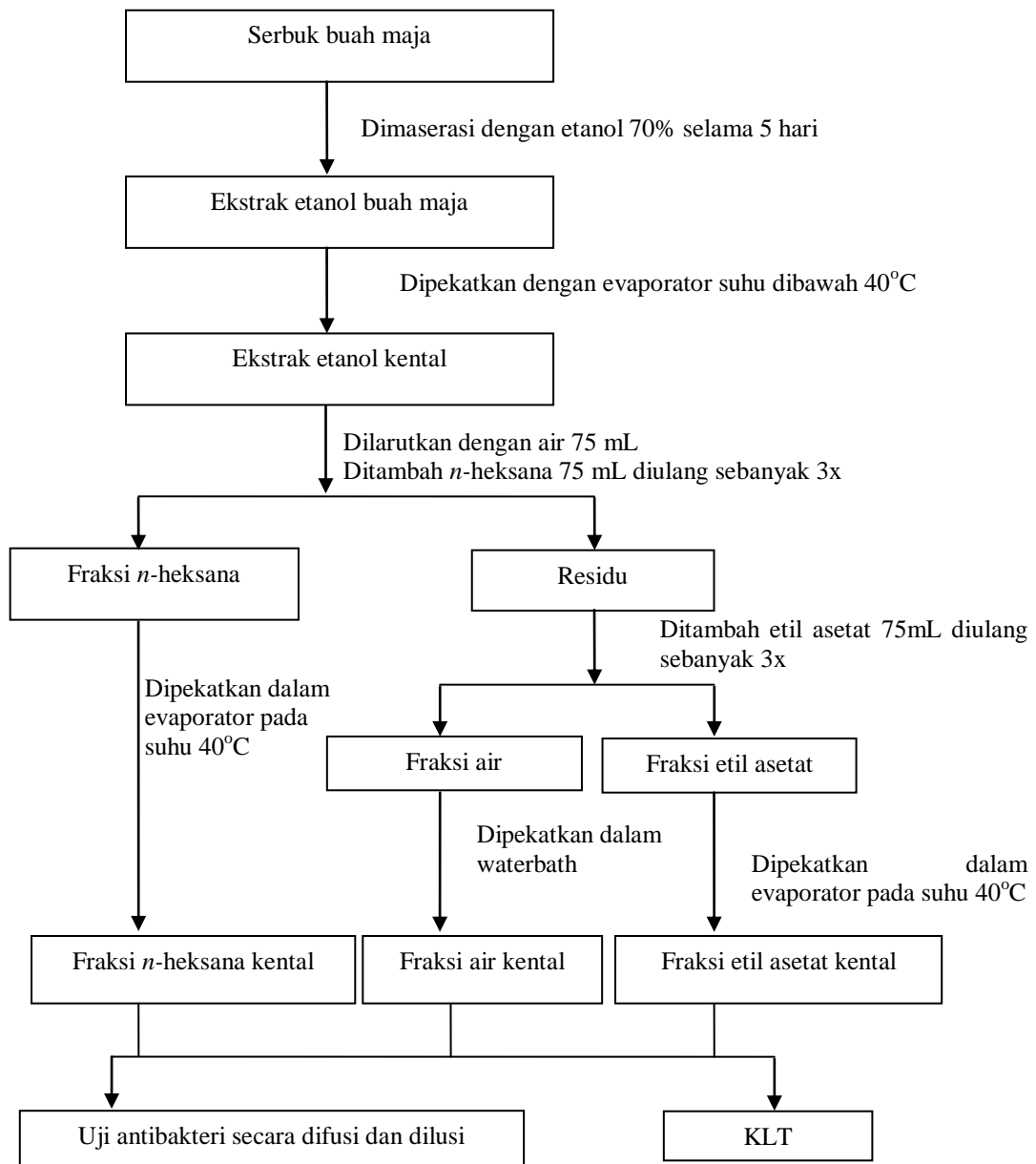
11.2. Identifikasi flavonoid. Fase gerak butanol : asam asetat: air (4:1:5). Deteksi senyawa flavonoid dilakukan dengan pereaksi sitroborat. Hasil positif apabila terjadi fluoresensi kuning, kehijauan pada UV 366 nm dan pada UV 254 nm berwarna gelap (Harborne 1987). Pada hasil pengamatan setelah disemprot sitroborat menunjukkan adanya fluoresensi kuning kehijauan menandakan adanya senyawa flavonoid.

11.3. Identifikasi steroid/triterpenoid. Fase diam yang digunakan adalah silika gel GF₂₅₄. Fase gerak menggunakan *n*-heksana : etil asetat (1:1). Hasil positif mengandung steroid/triterpenoid apabila ditambahkan dengan pereaksi Lieberman Bouchardat memberikan noda yang berwarna ungu atau biru pada sinar tampak dan beberapa senyawa juga berfluoresensi di bawah sinar UV 366 nm (Harborne 1987).

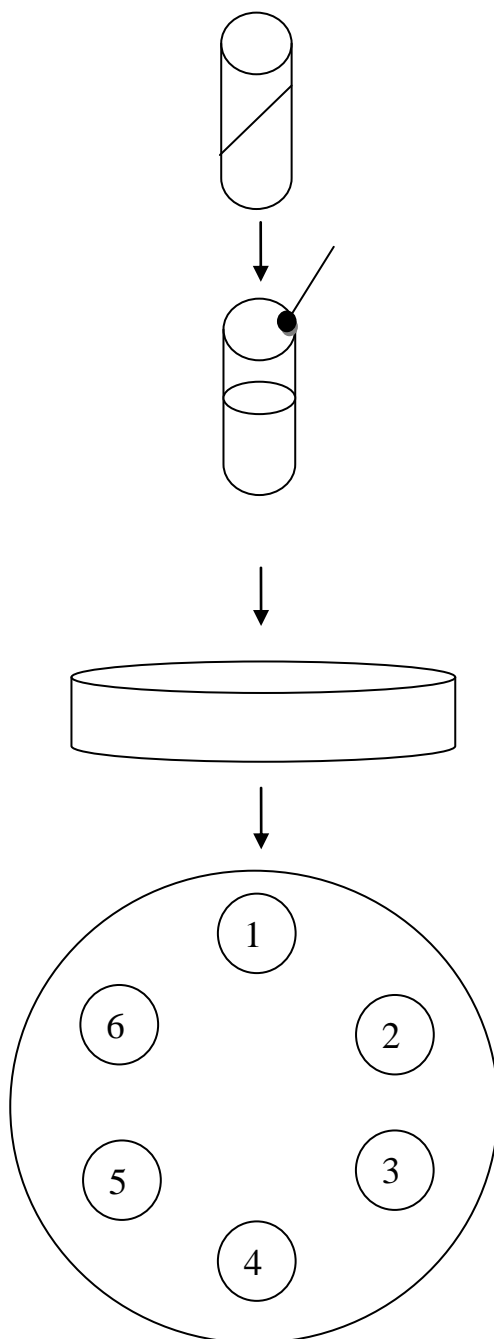
E. Analisis Data

Hasil penelitian dianalisis berdasarkan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 di tabung reaksi dan di media selektif. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ditentukan berdasarkan hasil pengamatan, dimana konsentrasi terkecil bahan uji pada tabung yang ditunjukkan dengan hasil biakan yang mulai jernih (tidak ada pertumbuhan mikroba) ditentukan sebagai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dari bahan uji dan konsentrasi terkecil bahan uji biakan padat yang ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan koloni ditentukan sebagai Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). Analisis untuk menentukan fraksi yang paling aktif dalam menghambat *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menggunakan metode ANOVA oneway dilanjutkan uji tukey.

F. Skema Jalannya Penelitian



Gambar 2. Skema pembuatan ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari ekstrak buah maja (*A. marmelos* Linn.)



Biakan murni bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Biakan bakteri diambil 2 ose dan dimasukkan dalam medium BHI, dihomogenkan, diinkubasi 37°C selama 5-8 jam dan kekeruhannya disetarakan dengan Mc Farland 0,5

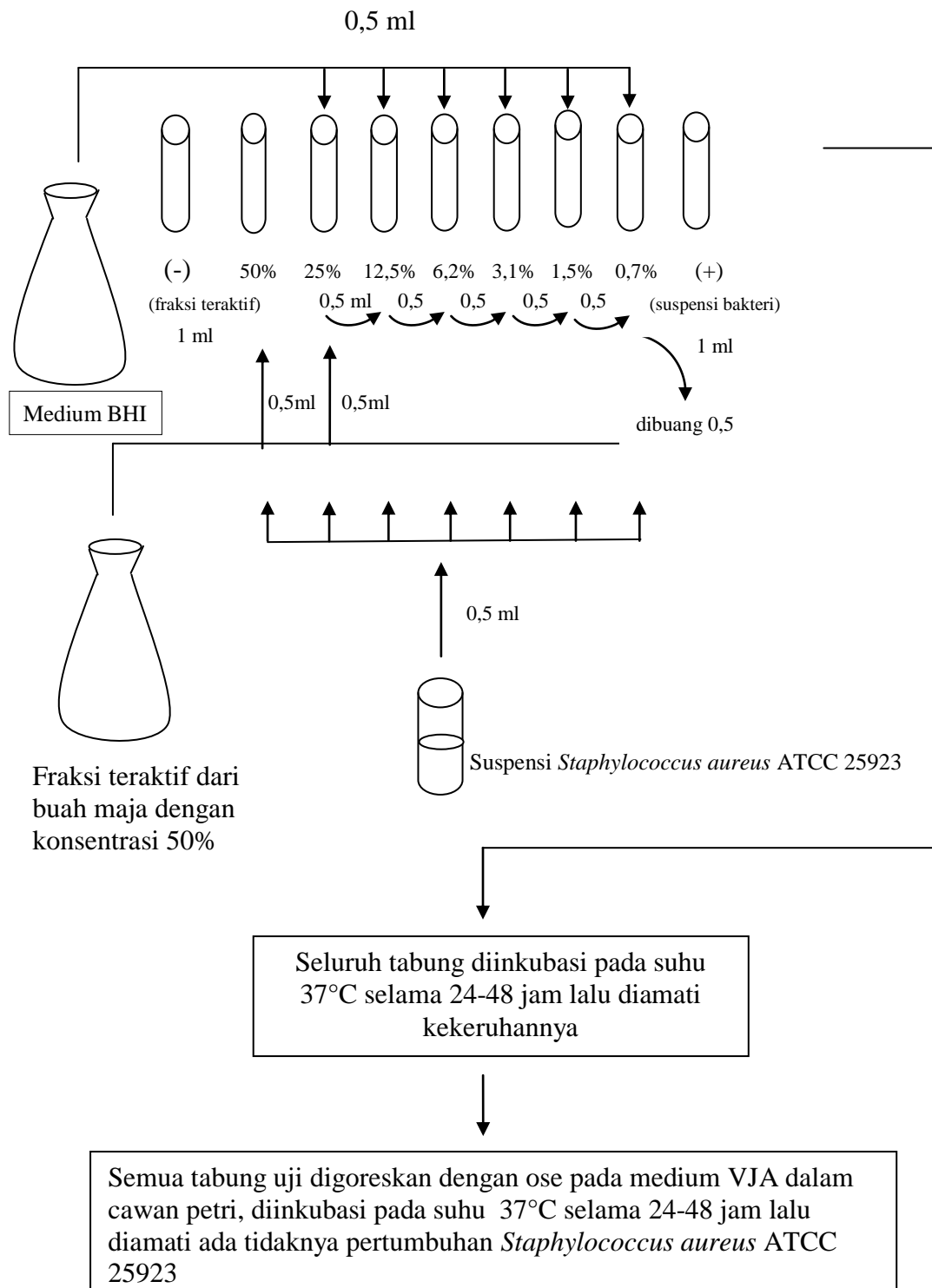
Suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 diinokulasikan pada cawan petri yang berisi media MHA secara perataan dengan kapas lidi steril.

Letakkan kertas cakram larutan uji ke media
Keterangan :

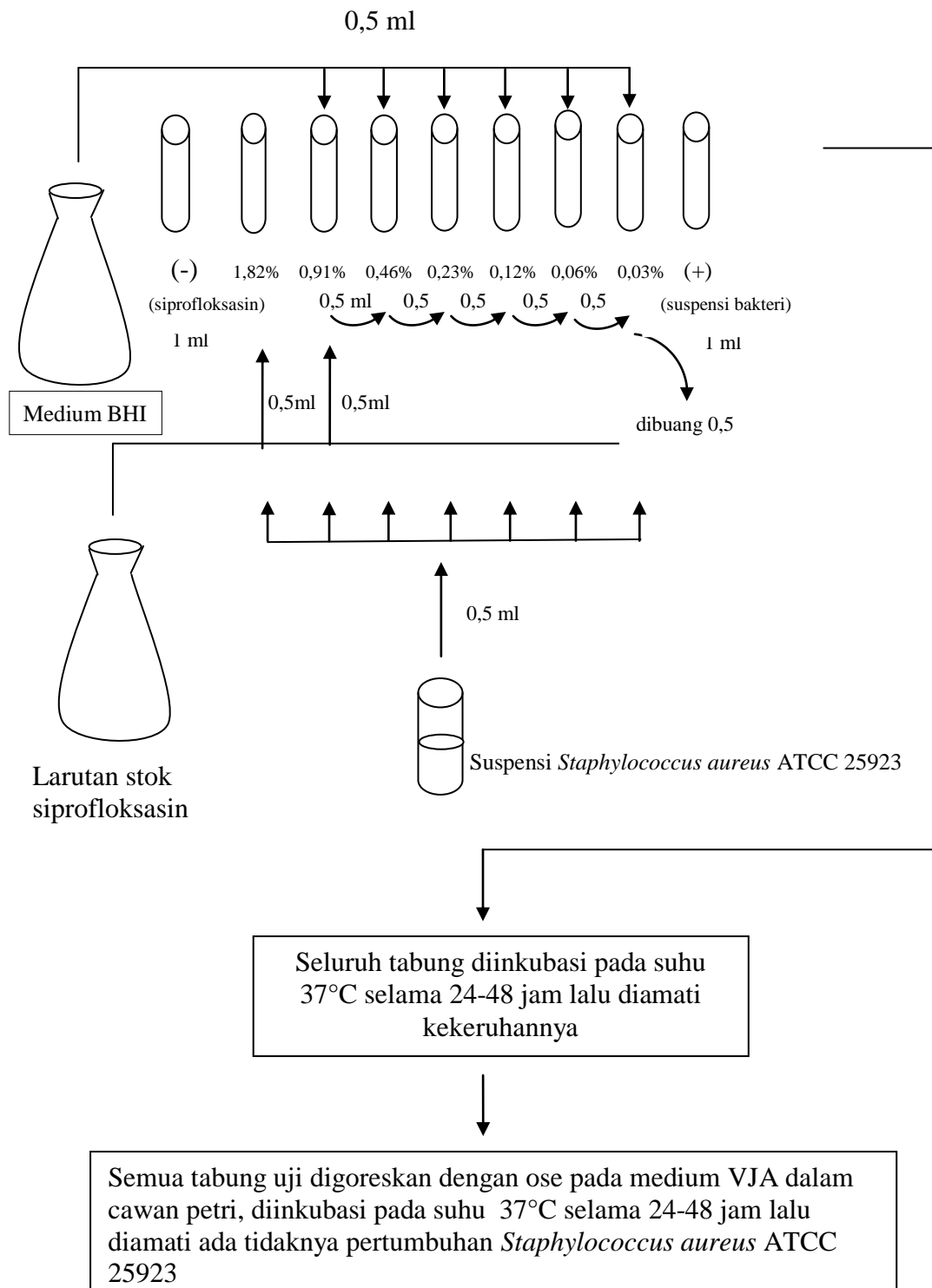
- 1: Ekstrak (50%, 25%, 12,5%)
- 2 :Fraksi *n*-heksana (50%, 25%, 12,5%)
- 3 : Fraksi etil asetat (50%, 25%, 12,5%)
- 4 : Fraksi air (50%, 25%, 12,5%)
- 5 : Kontrol negatif (DMSO 5%)
- 6 : Kontrol positif (Siprofloksasin 5 µg)

Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam

Gambar 3. Skema uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari buah maja terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara difusi



Gambar 4. Skema kerja pengujian aktivitas antibakteri ekstrak buah maja terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan metode dilusi



Gambar 5. Skema kerja pembeding antibiotik siprofloksasin terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan metode dilusi

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

1. Determinasi tanaman maja (*Aegle marmelos* Linn.)

Determinasi tanaman maja dilakukan di Laboratorium Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi, Surakarta. Tujuan dari determinasi yaitu untuk mencocokkan ciri - ciri morfologis pada simplisia yang diteliti, mengetahui kebenaran tanaman yang diambil, menghindari terjadinya kesalahan dalam pengumpulan bahan serta menghindari tercampurnya dengan tanaman yang lain. Hasil determinasi berdasarkan : Steenis : FLORA

1b – 2b – 3b – 4b – 6b – 7b – 9b – 10b – 11b – 12b – 13b – 15b. Golongan 9. 197a – 198b – 200b – 201b -202b – 203a. Familia 62. Rutaceae. 1b – 2b – 3a.2. *Aegle. Aegle marmelos Correa.*

Berdasarkan hasil identifikasi diketahui bahwa benar tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman maja (*Aegle marmelos* Linn.). Hasil determinasi dapat dilihat pada lampiran 1.

2. Pengeringan, dan pembuatan serbuk buah maja

Pengeringan dilakukan dengan tujuan untuk mengurangi kadar air, sehingga mencegah terjadinya pembusukan oleh jamur atau mikroorganisme lainnya dan mencegah terjadinya perubahan kimia yang dapat menurunkan mutu. Pengeringan dilakukan di oven pada suhu 40⁰C selama 5 hari kemudian dilakukan perhitungan prosentase bobot kering terhadap bobot basah buah maja.

Tabel 1. Perhitungan prosentase bobot kering terhadap bobot basah buah maja

Bobot basah (g)	Bobot kering (g)	Prosentase % (^b / _b)
7000	1900	27,14

Tabel 1 menunjukkan bahwa buah maja dengan bobot basah 7000 gram dikeringkan dan diperoleh bobot kering yaitu 1900 gram. Prosentase bobot kering terhadap bobot basah sebesar 27,14%. Perhitungan prosentase bobot basah terhadap bobot kering dapat dilihat pada lampiran 2.

3. Penetapan susut pengeringan serbuk buah maja

Susut pengeringan adalah pengukuran sisa zat setelah pengeringan dinyatakan dalam nilai prosen. Penetapan susut pengeringan pada serbuk buah

maja dapat dihitung berdasarkan alat *moisture balance*. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk buah maja dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk buah maja

No	Bobot awal (gram)	Bobot akhir (gram)	Kadar susut pengeringan (%)
1	2,00	1,86	6,0
2	2,00	1,87	5,5
3	2,00	1,87	6,5
Rata-rata			6,0

Berdasarkan tabel 2 hasil perhitungan penetapan susut pengeringan serbuk buah maja yang dilakukan 3 kali replikasi, didapatkan prosentase penetapan susut pengeringan sebesar 6,0 %. Kadar air tidak boleh lebih dari 10%, jika terlalu tinggi dapat merubah komposisi kimia dari simplisia sehingga menurunkan kualitas simplisia tersebut. Berdasarkan dari penetapan kadar air serbuk buah maja dapat disimpulkan bahwa serbuk buah maja ini memenuhi syarat karena prosentase kadar air serbuk buah maja kurang dari 10%.

4. Pembuatan ekstrak buah maja

Pembuatan ekstrak dari buah maja dilakukan dengan metode maserasi. Hasil prosentase rendemen ekstrak buah maja dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil pembuatan ekstrak maserasi buah maja

Bahan sampel	Bobot ekstrak (gram)	Rendemen ekstrak (b/b%)
700	340	48,57

Prosentase rendemen ekstrak maserasi buah maja yang diperoleh sebanyak 48,57 %. Organoleptis ekstrak warna coklat tua, bentuk kental. Ekstrak tersebut kemudian dilakukan fraksinasi dengan *n*-heksana, etil asetat dan air. Hasil perhitungan ekstrak buah maja dapat dilihat pada lampiran 4.

5. Tes bebas etanol ekstrak maserasi buah maja

Ekstrak buah maja dilakukan tes bebas etanol dengan melakukan uji esterifikasi alkohol. Hasil tes bebas etanol menunjukkan bahwa ekstrak buah maja sudah bebas dari pelarutnya yaitu etanol 70% yang ditunjukkan dengan tidak adanya bau ester yang khas dari etanol. Hasil test bebas etanol adalah untuk membuktikan bahwa ekstrak buah maja sudah tidak mengandung etanol.

6. Identifikasi kandungan kimia serbuk, ekstrak dari buah maja

Identifikasi kandungan ekstrak buah maja dilakukan untuk mengetahui kandungan kimia yang terkandung dalam buah maja. Identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak buah maja dapat dilihat pada tabel 4. Identifikasi kandungan kimia fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air buah maja dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 4. Identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak buah maja

Kandungan kimia	Hasil		Pustaka	Interpretasi data	
	Serbuk	Ekstrak		Serbuk	Ekstrak
Alkaloid	Terdapat endapan coklat	Terdapat endapan coklat	Terjadi kekeruhan atau endapan coklat (Harborne 2006)	(+)	(+)
Flavonoid	Terdapat warna jingga pada lapisan amil	Warna merah	Warna merah atau kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol (Harborne 2006)	(+)	(+)
Saponin	Terdapat busa	Tidak terdapat busa	Terdapat busa yang tetap + HCl busa tidak hilang (Depkes 1979)	(+)	(-)
Tanin	Terdapat warna hijau kehitaman	Terdapat warna hijau kehitaman	Warna hijau kehitaman (Setyowati et al 2014)	(+)	(+)
Triterpenoid	Terdapat warna jingga	Terdapat warna jingga	Warna jingga dan ungu	(-)	(+)

Hasil identifikasi yang telah dilakukan menunjukkan bahwa serbuk buah maja mengandung senyawa kimia alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin, sedangkan ekstrak buah maja mengandung senyawa kimia alkaloid, flavonoid, tanin dan triterpenoid. Pada identifikasi golongan senyawa fraksi *n*-heksana buah maja mengandung senyawa kimia alkaloid dan triterpenoid. Fraksi etil asetat mengandung senyawa kimia alkaloid, flavonoid, tanin dan triterpenoid, sedangkan fraksi air mengandung senyawa kimia flavonoid, saponin, tanin, Hasil identifikasi golongan senyawa dapat dilihat pada lampiran 8.

Tabel 5. Identifikasi kandungan kimia fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air buah maja

Kandungan kimia	Hasil			Pustaka	Interpretasi data		
	<i>n</i> -heksana	Etil asetat	Air		<i>n</i> -heksana	Etil Asetat	Air
Alkaloid	Terdapat endapan coklat	Terdapat endapan coklat	Tidak terdapat endapan coklat	Terjadi kekeruhan atau endapan coklat (Harborne 2006)	(+)	(+)	(-)
Flavonoid	Tidak terdapat warna jingga pada lapisan amil	Terdapat warna jingga pada lapisan amil	Terdapat warna jingga pada lapisan amil	Warna merah atau kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol (Harborne 2006)	(-)	(+)	(+)
Saponin	Tidak terdapat busa	Tidak terdapat busa	Terdapat busa	Terdapat busa yang tetap + HCl busa tidak hilang (Depkes 1979)	(-)	(-)	(+)
Tanin	Tidak terdapat warna hijau kehitaman	Terdapat warna hijau kehitaman	Terdapat warna hijau kehitaman	Warna hijau kehitaman (Setyowati <i>et al</i> 2014)	(-)	(+)	(+)
Triterpenoid	Terdapat warna jingga	Terdapat warna jingga	Tidak terdapat warna jingga	Warna jingga dan ungu	(+)	(+)	(-)

Keterangan : (+) : mengandung golongan senyawa

(-) : tidak mengandung golongan senyawa

7. Fraksinasi

Ekstrak buah maja yang diperoleh dari hasil maserasi, kemudian dilakukan fraksinasi.

7.1 Fraksi *n*-heksana. Hasil sediaan ekstrak maserasi dilakukan fraksinasi dengan pelarut nonpolar (*n*-heksana), difraksinasi 3 kali dengan pelarut *n*-heksana masing-masing 75 ml, kemudian fraksi *n*-heksana yang didapat

diuapkan. Residu yang didapat dilakukan ekstraksi lanjutan dengan pelarut etil asetat. Rendemen hasil fraksi *n*-heksana dapat dilihat di tabel 6.

Tabel 6. Rendemen fraksi *n*-heksana

Bobot ekstrak (g)	Bobot fraksi (g)	Prosentase % ($\frac{b}{b}$)
10,09	1,24	12,28
10,11	1,27	12,56
10,13	1,25	12,34
Rata – rata		12,39

Berdasarkan tabel 6 dapat dilihat bahwa perhitungan prosentase rendemen fraksi *n*-heksana buah maja didapat prosentase rata-rata sebesar 12,39%. Organoleptis fraksi *n*-heksana coklat, berbentuk kental, dan tidak berbau. Hasil perhitungan rendemen fraksi *n*-heksana buah maja dapat dilihat pada lampiran 9.

7.2 Fraksi etil asetat. Residu dari hasil fraksi *n*-heksana difraksinasi 3 kali dengan pelarut etil asetat (pelarut semi polar) masing-masing sebanyak 75 ml, kemudian fraksi etil asetat yang didapat diuapkan. Residu yang didapat dilakukan pemekatan. Rendemen hasil fraksi etil asetat dapat dilihat di tabel 7.

Tabel 7. Rendemen fraksi etil asetat

Bobot ekstrak (g)	Bobot fraksi (g)	Prosentase % ($\frac{b}{b}$)
10,09	2,10	20,81
10,11	2,02	19,98
10,13	2,05	20,24
Rata – rata		20,34

Berdasarkan tabel 7 dapat dilihat bahwa perhitungan prosentase rendemen fraksi etil asetat buah maja didapat prosentase rata-rata sebesar 20,34%. Organoleptis fraksi etil asetat coklat muda, berbentuk kental, dan tidak berbau. Hasil perhitungan rendemen fraksi etil asetat buah maja dapat dilihat pada lampiran 9.

7.3 Fraksi air. Residu dari ekstrak etil asetat dilanjutkan dengan pemekatan sehingga didapat fraksi air. Rendemen fraksi air hasil fraksinasi buah maja dapat dilihat pada tabel 8.

Tabel 8. Rendemen fraksi air

Bobot ekstrak (g)	Bobot fraksi (g)	Prosentase % (^b / _b)
10,09	6,20	61,15
10,11	5,97	59,05
10,13	6,32	62,39
Rata – rata		60,86

Berdasarkan tabel 8 dapat dilihat bahwa perhitungan prosentase rendemen fraksinasi fraksi air buah maja didapatkan prosentase rata-rata sebesar 60,86%. Organoleptis fraksi air warna coklat tua, bentuk kental, dan tidak berbau. Hasil perhitungan rendemen fraksi air buah maja dapat dilihat pada lampiran 9.

8. Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus*

Hasil identifikasi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 biakan murni digoreskan pada medium *Vogel Johnson Agar* (VJA) yang sudah ditambahkan kalium tellurite kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37⁰C. Berdasarkan pengamatan, koloni yang dihasilkan berwarna hitam dan warna medium disekitar koloni kuning. Koloni yang berwarna hitam ini disebabkan oleh kemampuan dari *Staphylococcus aureus* dalam mereduksi kalium tellurite menjadi metalik tellurium. Warna disekitar koloni berwarna kuning disebabkan kemampuan *Staphylococcus aureus* dalam memfermentasi manitol menjadi asam. Fermentasi manitol dideteksi oleh perubahan warna indikator phenol red dari merah (alkali) menjadi kuning (asam) (Power & Mc Queen 1988). Gambar hasil identifikasi makroskopis *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat dilihat pada lampiran 10.

Hasil identifikasi mikroskopis *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan pewarnaan gram menunjukkan hasil koloni berbentuk bulat, bergerombol dan berwarna ungu. Tujuan pewarnaan gram adalah untuk melihat morfologi bakteri dan bentuk sel bakteri. Perbedaan respon terhadap mekanisme pewarnaan gram didasarkan pada struktur dan komposisi dinding sel bakteri. Bakteri gram positif mengandung protein dan gram negatif mengandung lemak dalam prevalensi lebih tinggi dan dinding selnya tipis. Pemberian kristal violet pada bakteri gram positif akan meninggalkan warna ungu kemudian diberi larutan iodin

sehingga akan terbentuk suatu kompleks antara kristal violet dan iodine. Pemberian alkohol (etanol) pada pewarnaan gram menyebabkan terekstraksinya lipid sehingga memperbesar permeabilitas dinding sel gram negatif. Pewarnaan safranin masuk ke dalam sel dan menyebabkan sel menjadi berwarna merah pada bakteri gram negatif sedangkan pada bakteri positif dinding selnya terdehidrasi dengan perlakuan alkohol, pori-pori mengkerut, daya rembes dinding sel dan membran menurun sehingga pewarnaan safranin tidak dapat masuk sehingga sel berwarna ungu (Pelczar & Chan 1986). Gambar hasil pewarnaan gram terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat dilihat pada lampiran 10.

Hasil identifikasi biokimia *Staphylococcus aureus* meliputi uji katalase dan uji koagulase. Uji katalase menunjukkan hasil positif dengan menunjukkan adanya buih atau gelembung sesaat setelah koloni ditetesi H_2O_2 . Fungsi uji katalase untuk membedakan antara *staphylococcus* dan *streptococcus*, dimana kelompok *staphylococcus* bersifat katalase positif. Katalase merupakan enzim yang mengkatalisa penguraian hidrogen peroksida menjadi H_2O dan O_2 . Hidrogen peroksida bersifat toksik terhadap sel karena menginaktifkan enzim dalam sel, terbentuk pada saat metabolisme aerob, sehingga mikroorganisme yang tumbuh dalam lingkungan aerob pasti menguraikan bahan tersebut (Lay 1994). Uji koagulase bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri menghasilkan enzim koagulase (Abrar 2001). Koagulase merupakan protein ekstraseluler yang dihasilkan oleh *Staphylococcus aureus* yang dapat menggumpalkan plasma dengan bantuan faktor yang terdapat dalam serum. Oleh karena itu peran koagulase yang dihasilkan oleh *Staphylococcus aureus* dapat digunakan sebagai sarana diagnostik (Bruckler et al., 1994). Hasil positif pada uji koagulase yaitu akan terjadi penggumpalan plasma serta dapat dilihat secara kasat mata dengan adanya plak pada dinding tabung (Warsa 1993). Gambar hasil uji katalase dan uji koagulase terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat dilihat pada lampiran 10.

Tabel 9. Hasil identifikasi bakteri dengan uji katalase dan uji koagulase

Jenis uji	Hasil	Pustaka	Keterangan
Uji katalase	Terbentuk gelembung gas	Terbentuk gelembung gas	(+)
Uji koagulase	Terjadi penjendalan	Terjadi penjendalan	(+)
Keterangan : (+) = positif <i>Staphylococcus aureus</i> (-) = negatif <i>Staphylococcus aureus</i>			

Berdasarkan semua hasil identifikasi dapat disimpulkan bahwa bakteri yang digunakan benar-benar *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

9. Pembuatan suspensi bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Standar Mc Farland merupakan suatu standar yang diperoleh dengan cara menyetarakan konsentrasi antara mikroba dengan menggunakan larutan BaCl₂ 1% dan H₂SO₄ 1%. Standar kekeruhan Mc Farland ini bertujuan untuk menggantikan perhitungan bakteri satu per satu dan untuk memperkirakan kepadatan sel yang akan digunakan pada prosedur pengujian antimikroba (Sutton 2011). Gambar hasil pembuatan suspensi bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat dilihat pada lampiran 11.

10. Pengujian aktivitas antibakteri secara difusi dan dilusi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Hasil sediaan dari ekstrak, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air buah maja dilakukan pengujian aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menggunakan metode difusi. Larutan stok fraksi dibuat dalam tiga konsentrasi yaitu 50%, 25%, 12,5%. Pelarut dan kontrol negatif yang digunakan untuk konsentrasi menggunakan DMSO 5%, karena DMSO selain tidak bersifat toksik. Kontrol positif yang digunakan adalah siprofloksasin 5 µg karena sudah terbukti sebagai obat antibakteri. Kontrol positif digunakan sebagai standar untuk melihat dan membandingkan kemampuan penghambatan ekstrak dan fraksi buah maja terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Uji aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi buah maja terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dilakukan dengan metode difusi dengan waktu inkubasi 24 jam pada suhu 37°C. Daya antibakteri dari setiap ekstrak dan

fraksi dapat dilihat dari adanya daerah jernih disekitar disk cakram yang diukur dalam satuan millimeter (mm), yang kemudian dibandingkan dengan kontrol positif yaitu siprofloksasin.

Tabel 10. Hasil diameter daya hambat pada uji antibakteri dari buah maja secara difusi terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Sampel	Konsentrasi	Diameter hambat (mm)			Rata-rata
		Replikasi			
		1	2	3	
Ekstrak	50 %	15,67	15,33	15,67	15,57
	25 %	14,67	14,33	14,67	14,57
	12,5 %	12,67	13,00	12,67	12,78
<i>n</i> -Heksana	50 %	13,67	13,33	13,67	13,57
	25 %	12,00	12,33	12,67	12,33
	12,5 %	11,00	11,33	11,67	11,33
Etil Asetat	50 %	23,67	23,67	24,00	23,78
	25 %	22,33	22,33	21,67	22,11
	12,5 %	18,67	17,67	18,00	18,11
Air	50 %	16,67	16,33	16,33	16,43
	25 %	14,67	14,67	14,33	14,57
	12,5 %	13,00	13,33	13,67	13,33
Ciprofloxacin	5µg	29,67	29,67	30,00	29,78
DMSO	5%	0	0	0	0

Hasil pengujian aktivitas antibakteri secara difusi pada ekstrak, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari buah maja terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menunjukkan daya hambat yang dibuktikan dengan adanya daerah jernih disekitar disk cakram yang tidak ditumbuhi bakteri. Hasil uji aktivitas antibakteri secara difusi menunjukkan bahwa ekstrak, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari ekstrak etanol buah maja memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Berdasarkan tabel 10 menunjukkan bahwa fraksi etil asetat mempunyai daya hambat yang paling besar terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dibandingkan ekstrak, fraksi *n*-heksana, dan fraksi air. Hasil rata-rata diameter daya hambat fraksi etil asetat konsentrasi 50%, 25%, dan 12,5% berturut-turut sebesar 23,78 mm, 22,11 mm, dan 18,11 mm, sedangkan siprofloksasin sebagai kontrol positif memiliki rata-rata sebesar 29,78 mm. Kontrol negatif yang digunakan yaitu DMSO 5% tidak memiliki daya hambat terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Gambar hasil uji antibakteri dari buah maja secara difusi terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat dilihat pada lampiran 12.

Perhitungan statistik yang digunakan adalah one way untuk membandingkan ekstrak, fraksi *n*-heksana, etil asetat, air dari buah maja pada setiap konsentrasi. Perhitungan *Kolomogorov-Smirnov* konsentrasi 50% diperoleh signifikasi $0,184 > 0,05$ (H_0 diterima), konsentrasi 25% diperoleh signifikasi $0,070 > 0,05$ (H_0 diterima), dan konsentrasi 12,5% diperoleh signifikasi $0,293 > 0,05$ (H_0 diterima), sehingga dapat disimpulkan data terdistribusi normal dan dapat dilakukan ANOVA *one way*. Hasil tabel anova dalam dasar pengambilan keputusan (nilai probabilitas) terlihat pada konsentrasi 50% nilai $F = 1573.966$, konsentrasi 25% nilai $F = 656.428$, konsentrasi 12,5% nilai $F = 199.193$ dengan probabilitas $0,000 < 0,05$ maka ke 12 kadar memang berbeda nyata. Pada uji Tukey menunjukkan perbedaan yang signifikan. *Homogeneous Subsets* pada konsentrasi 50% subset 1 sampai 4 diketahui terdapat perbedaan yang signifikan, sedangkan pada konsentrasi 25% dan konsentrasi 12,5% pada subset 2 terdapat lebih dari satu sediaan uji dalam satu subset, sehingga tidak mempunyai perbedaan yang signifikan dalam penghambatan aktivitas antibakteri. Hasil tabel *Homogeneous Subsets* dapat dilihat pada lampiran 20.

Fraksi etil asetat merupakan fraksi teraktif dilihat dari perhitungan statistik bahwa konsentrasi 50% terdapat perbedaan yang signifikan dibandingkan dengan ekstrak, fraksi *n*-heksana dan air, kemungkinan disebabkan pada fraksi etil asetat mampu menarik senyawa semi polar seperti flavonoid dan alkaloid yang memiliki aktivitas antibakteri lebih baik atau potensial dibandingkan dengan senyawa lain yang terkandung pada fraksi *n*-heksana maupun fraksi air. Senyawa flavonoid merupakan golongan senyawa fenol, diduga mekanisme kerjanya dengan mendenaturasikan protein sel dan merusak membran sel mikroorganisme tanpa dapat diperbaiki lagi (*irreversible*) (Gunawan dan Mulyani 2004). Alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Mekanisme yang diduga adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Juliantina *et al.* 2008). Senyawa lain yang terdapat pada fraksi etil asetat yaitu tanin dan triterpenoid. Tanin dapat berikatan dengan dinding sel mikroorganisme dan dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme atau

aktivitas enzim (Ajizah 2004). 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 (Cowan 1999). Fraksi air aktivitas antibakterinya lebih rendah dibandingkan fraksi etil asetat kemungkinan karena interaksi senyawa flavonoid, saponin dan tanin tidak lebih baik dibandingkan interaksi senyawa yang terkandung dalam fraksi etil asetat. Fraksi *n*-heksana memiliki aktivitas penghambatan paling rendah karena senyawa yang terdapat pada fraksi *n*-heksana antara lain alkaloid dan triterpenoid, sedangkan aktivitas antibakteri dari tanaman kemungkinan disebabkan oleh adanya senyawa tanin dan flavonoid yang berikatan dengan dinding sel bakteri dan menghambat biosintesisnya (Anyasor *et al* 2011). Fraksi etil asetat lebih aktif dibandingkan ekstrak kemungkinan karena di dalam ekstrak terdapat berbagai senyawa yang tidak mampu bekerja secara sinergis sehingga aktivitas antibakterinya lebih kecil.

Pengujian aktivitas antibakteri fraksi teraktif etil asetat dari buah maja terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dilakukan dengan metode dilusi untuk mencari Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) yaitu konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) yaitu konsentrasi terendah yang dapat membunuh pertumbuhan bakteri. Konsentrasi larutan masing-masing 50%, 25%, 12,5%, 6,2%, 3,1%, 1,5%, 0,7% serta kontrol (-), dan kontrol (+). Jumlah bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang digunakan disesuaikan kekeruhannya dengan standar Mc Farland 0,5 dalam medium BHI yang kemudian dicampur dengan fraksi etil asetat. Perhitungan konsentrasi larutan dapat dilihat pada lampiran 14.

Nilai KHM pada penelitian ini tidak dapat ditentukan karena sampel yang digunakan berwarna gelap dan kekeruhannya tinggi sehingga mempersulit pengamatan. Inokulasi dari tabung pada medium *Vogel Johnson Agar* (VJA) dalam cawan petri untuk mengetahui ada tidaknya pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, sehingga dapat diketahui KBM. Hasil uji aktivitas antibakteri dengan metode dilusi dapat dilihat pada lampiran 12 dan berdasarkan tabel 11.

Hasil uji aktivitas antibakteri dengan metode dilusi pada tabel 11 menunjukkan bahwa pada tabung 2,3,4,5,6,7,8 yang berisi BHI dan fraksi etil asetat dengan konsentrasi berturut-turut 50%, 25%, 12,5%, 6,2%, 3,1%, 1,5%, 0,8% serta tabung 1 berisi fraksi etil asetat dan tabung 9 berisi suspensi bakteri. Hasil pengujian antibakteri secara dilusi menunjukkan bahwa pada konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,2%, dan 3,1% tidak ada pertumbuhan bakteri, hal ini menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi dari fraksi etil asetat maka semakin tinggi pula aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Pembanding antibiotik siprofloksasin dipilih untuk pengujian daya antibakteri karena merupakan turunan kuinolon yang mekanisme kerjanya menghambat secara selektif sintesis DNA bakteri dengan memblok sub unit A DNA – girase, suatu tipe II topoisomerase. DNA – girase adalah enzim yang penting untuk replikasi DNA, berfungsi untuk memelihara kromosom pada keadaan superkoil dan memperbaiki single strand DNA yang pecah selama proses replikasi. Hambatan reproduksi DNA akan menyebabkan kematian bakteri. Mamalia tidak mengandung enzim tersebut sehingga turunan kuinolon dapat bekerja secara selektif menghambat sintesis DNA bakteri tanpa mempengaruhi DNA mamalia (Siswandono & Soekardjo 2008).

Tabel 11. Hasil pengujian antibakteri fraksi teraktif etil asetat dan pembanding siprofloksasin terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Inokulasi VJA								
No	Konsentrasi (%)	Fraksi etil asetat			Konsentrasi (%)	Siprofloksasin		
		Replikasi				Replikasi		
		1	2	3		1	2	3
1	Kontrol (-)	-	-	-	Kontrol (-)	-	-	-
2	50 %	-	-	-	1,82 %	-	-	-
3	25 %	-	-	-	0,91 %	-	-	-
4	12,5 %	-	-	-	0,46 %	-	-	-
5	6,2 %	-	-	-	0,23 %	-	-	-
6	3,1 %	-	-	-	0,12 %	+	+	+
7	1,5 %	+	+	+	0,06 %	+	+	+
8	0,7 %	+	+	+	0,03 %	+	+	+
9	Kontrol (+)	+	+	+	Kontrol (+)	+	+	+

Keterangan : (-) = tidak ada pertumbuhan bakteri
(+) = ada pertumbuhan bakteri

Penelitian ini membuktikan pada hasil goresan pada cawan petri dapat diketahui Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) diperoleh pada konsentrasi 3,1% yang merupakan konsentrasi terendah dari fraksi etil asetat yang dapat membunuh pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Pembuktian secara goresan pada media terlihat adanya pertumbuhan koloni *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang bercirikan koloni berwarna hitam karena mereduksi kalium tellurite menjadi metalik tellurite, medium di sekitar koloni berwarna kuning karena fermentasi manitol menjadi asam dan indikator phenol red. Hasil dilusi fraksi etil asetat terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menunjukkan bahwa semakin rendah konsentrasi fraksi etil asetat tidak dapat membunuh pertumbuhan bakteri. Perbandingan konsentrasi fraksi etil asetat sebagai fraksi teraktif dibandingkan antibiotik siprofloksasin sebagai antibakteri menunjukkan hasil yang masih jauh dari yang diharapkan. Siprofloksasin lebih aktif jika dibandingkan dengan fraksi etil asetat yaitu memiliki Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) sebesar 0,23%.

11. Identifikasi fraksi paling aktif secara KLT

Analisis kualitatif hanya dilakukan pada fraksi etil asetat karena fraksi ini merupakan fraksi yang mempunyai aktivitas antibakteri paling aktif. Analisis ini dilakukan untuk mengetahui senyawa kimia yang terkandung pada fraksi etil asetat. Identifikasi senyawa tersebut dilakukan menggunakan fase gerak dan penampak bercak yang sesuai dengan senyawa yang diuji. Hasil identifikasi fraksi paling aktif secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dapat dilihat pada tabel 12.

Tabel 12. Hasil identifikasi fraksi paling aktif secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Pengujian	Rf	Hasil			Ket
		UV 254 nm	UV 366 nm	Sinar tampak	
Flavonoid	0,86	Berwarna gelap	Kuning kehijauan	Sitroborat : Kekuningan	(+)
Alkaloid	0,45	Peredaman	Kehijauan	Dragendrof : Kekuningan	(+)
Triterpenoid	0,68	-	-	Lieberman Bouchardat : Ungu	(+)
Steroid	0,5	-	-	Lieberman Bouchardat : Ungu	(+)

Hasil identifikasi Kromatografi Lapis Tipis golongan senyawa flavonoid dengan standar baku quercetin sebagai baku pembanding. Dideteksi pada sinar UV 254 nm berwarna gelap dan pada sinar UV 366 nm menunjukkan fluoresensi warna kuning kehijauan dan pada sinar tampak menunjukkan adanya bercak berwarna kuning kecoklatan. Nilai Rf sampel fraksi etil asetat senyawa flavonoid sebesar 0,86 dan nilai Rf standar baku senyawa quercetin sebesar 0,9. Dapat disimpulkan bahwa fraksi etil asetat positif mengandung senyawa flavonoid. Hasil identifikasi golongan senyawa flavonoid dapat dilihat pada lampiran 16.

Hasil identifikasi Kromatografi Lapis Tipis golongan senyawa alkaloid dengan menggunakan standar baku ephedrine sebagai baku pembanding. Dideteksi pada sinar UV 254 nm berwarna gelap dan pada sinar UV 366 nm menunjukkan fluoresensi warna kuning kehijauan dan pada sinar tampak menunjukkan adanya bercak berwarna kuning. Nilai Rf sampel fraksi etil asetat senyawa alkaloid sebesar 0,45 dan nilai Rf standar baku senyawa ephedrin sebesar 0,45. Dapat disimpulkan bahwa fraksi etil asetat positif mengandung senyawa alkaloid. Hasil identifikasi golongan senyawa alkaloid dapat dilihat pada lampiran 16.

Hasil identifikasi Kromatografi Lapis Tipis golongan senyawa steroid dan triterpenoid dengan menggunakan standar baku senyawa stigma sterol sebagai baku pembanding. Dideteksi pada sinar tampak menunjukkan adanya bercak berwarna ungu. Identifikasi senyawa triterpenoid dideteksi pada sinar tampak menunjukkan adanya bercak berwarna ungu. Nilai Rf sampel fraksi etil asetat senyawa steroid sebesar 0,5 dan triterpenoid sebesar 0,68 dan nilai Rf standar baku stigmasterol untuk steroid sebesar 0,5. Dapat disimpulkan bahwa fraksi etil asetat positif mengandung senyawa steroid dan triterpenoid. Hasil identifikasi golongan senyawa alkaloid dapat dilihat pada lampiran 16.

Hasil identifikasi fraksi teraktif secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT) menunjukkan bahwa senyawa kimia yang terkandung pada fraksi etil asetat adalah senyawa yaitu flavonoid, alkaloid, triterpenoid dan steroid. Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan

diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler serta mendenaturasi dan koagulasi protein sel mikroba (IndoBIC 2005). Mekanisme kerja alkaloid dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga pada lapisan dinding sel tidak akan terbentuk secara utuh dan menyebabkan sel tersebut mengalami kematian (Juliantina *et al.* 2008). Mekanisme kerja triterpenoid sebagai antibakteri adalah bereaksi dengan porin (protein transmembran) yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Porin yang rusak akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri dan mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (Cowan 1999).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil pengamatan dapat disimpulkan bahwa :

Pertama, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air dari ekstrak etanol buah maja (*Aegle marmelos* Linn.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Kedua, fraksi etil asetat dari ekstrak etanol buah maja (*Aegle marmelos* Linn.) pada konsentrasi 50% mempunyai aktivitas antibakteri teraktif terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Ketiga, Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) fraksi etil asetat dari ekstrak etanol buah maja (*Aegle marmelos* Linn.) sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, yaitu sebesar 3,1%.

B. Saran

Pertama, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang aktivitas antibakteri buah maja (*Aegle marmelos* Linn.) dengan bakteri lain.

Kedua, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang aktivitas antibakteri buah maja (*Aegle marmelos* Linn.) dengan menggunakan pelarut dan metode yang lain.

Ketiga, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan pembanding antibiotik yang sesuai dengan mekanisme senyawa – senyawa yang terkandung di dalam buah maja (*Aegle marmelos* Linn.).

DAFTAR PUSTAKA

- Abdurahman D. 2008. *Biologi Kelompok Pertanian dan Kesehatan*. Bandung: Grafindo Media Pratama. hlm. 63.
- Abrar, M. 2001. Isolasi, karakteristik dan aktivitas biologi hemaglutinin *Staphylococcus aureus* dalam proses adhesi pada permukaan sel ephitel kambing sapi perah. Disertasi Program Pasca Sarjana. Institusi Pertanian Bogor. Bogor.
- Ajizah, A. 2004. Sensitivitas Salmonella Typhimurium Terhadap Ekstrak Daun Psidium Guajava L. Jurnal Biologi Pertanian 1: 31-8.
- Akhyar. 2010. Uji daya hambat dan analisis KLT bioautografi ekstrak akar dan buah bakau (rhizophora stylosa griff.) terhadap vibrio harveyii [Skripsi]. Makasar: Program Studi Farmasi Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin Makasar.
- Alamsyah, H. K., Widowati. I., Sabdono, A., . 2014. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Rumput Laut *Sargassum cinereum* (J.G Agardh) Dari Perairan Pulau Panjang Jepara Terhadap Bakteri *Escherichia coli* Dan *Staphylococcus epidermidis*. Program Studi Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro. *Journal Of Marine Research*. 3:69-78.
- Ambarwati dan Gama A. 2009. *Isolasi Actinomycetes dari Tanah Sawah Sebagai Penghasil Antibiotik*. Jurnal Penelitian Sanins dan Teknologi. vol 10 : 110-111.
- Anyasor GN, Aina DA, Olushola M, Aniyikaya AF. 2011. Phytochemical constituent, proximate analysis, antioxidant, antibacterial and wound healing properties of leaf extracts of *Chromolaena odorata*. *Ann. Biol. Res.*, 2: 441-451.
- Appelbaum, P.C. Microbiology resistance in Staphylococcus aureus. *CID Supplement 3*. 2007. 45: S166- S170.
- Ayuningtyas A. K., 2008. Efektivitas Campuran Meniran Phyllanthus niruri dan Bawang Putih Allium sativum untuk Pengendalian Infeksi Bakteri Aeromonas hydrophila pada Ikan Lele Dumbo Clarias gariepinus. [Skripsi]. Institut Pertanian Bogor.
- Bela, B., 2011, Microbial and Susceptibility Pattern of Gram Negative Infection: Infection Diseases New Challenges New Solutions, Proceeding 12th Jakarta Antimicrobial Update (JADE) 2011, Jakarta.

- Bonang G, Koeswardono, E.S., 1982. *Mikrobiologi Kedokteran untuk Laboratorium dan Klinik*. Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran. Universitas Katolik Indonesia Atma Jaya. Gramedia. Jakarta. Hlm 190-191.
- BPOM RI.(2008), *Direktorat Obat Asli Indonesia*. Jakarta
- Brooks G., Butel J., Morse S. 2005. *Medical Microbiology*. Mc Graw Hill. New York.
- Bruckler, J., Schwarz, S., and F. Untermann, F. 1994. Staphylokokkeninfektionen und enterotoxine, band. II/1, In: Blobel, H. Und Schließer (Eds.), *Handbuch der bakteriellen Infektionen bei Tieren*, 2. Auflage. Gustav Fischer Verlag Jena, Stuttgart.
- Cowan, M., 1999. Plant Product as Antimicrobial. *Clinical Microbiology Reviews*. Vol 12 : 564-582.
- Dahanukar, S.A., Kulkarni R.A. and Rege N.N. *Indian J. Pharmacol.* 2000, 32: 81-118.
- DeLeo, F.R. and Chambers H.F. Reemergence of antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus* in the genomics area. 2009. 119(9): 2464- 2474.
- Depkes RI. (1979). *Farmakope Indonesia*. Edisi III. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Depkes RI. (1986), *Sediaan Galenik*. J. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Depkes RI. (1987). *Analisis Obat Tradisional*. Jilid I. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Depkes RI. (2000), *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hal 3-11.
- Depkes RI. (2005). *Materia Medika Indonesia. Jilid III*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia. hlm 301-304.
- Depkes RI. (2008), Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2008. *Farmakope Herbal Indonesia*. Edisi 1. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Dwiprahasto, I., 2005, Kebijakan untuk Meminimalkan Resiko Terjadinya Resistensi Bakteri di Unit Perawatan Intensif Rumah Sakit, *JMPK*, 8(04), 177-180.
- Farouq. 2003. *Ekstrak Sebagai Salah Satu Pengembangan Bentuk Obat Tradisional*. Seminar POKJANAS TOI XXIII. Universitas Pancasila, Jakarta. Hal. 12.

- Ganiswara, S. G., 2005, *Farmakologi dan Terapi*, Edisi 4, 571-571, Jakarta, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Garrity, G.M., Lilburn, J.R. Cole, S.H. Harrison, J. Euzeby, and B.J. Tindall. 2007. *Taxonomic Outline of The Bacteria and Archaea, Release 7.7*. Michigan: Michigan State University Board of Trustees. P. 364, 464.
- Goodman A, Gilman H. 2007. *Dasar Farmakologi Terapi*. Edisi kesepuluh. Volume 1. Jakarta: EGC. Hal 682-684.
- Gunawan D, Mulyani S. 2004. *Farmakognosi*. Jakarta: Penebar Swadaya. Hlm 106.
- Harborne J.B. 1987. *Metode Fitokimia dan Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Edisi III. Bandung : ITB.
- Harborne, J, B. 2007. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Edisi III. Padmawinata K, penerjemah; Bandung : ITB.
- Harborne, J. B. 2006. *Metode Fitokimia Penuntun dan Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Edisi III. Padmawinata K, penerjemah; Bandung : ITB.
- Huttner A., Harbarth, S., Carlet J., Cosgrove, S., Goossens, H., Holmes, A. et al. Antimicrobial resistance: a Global View from the 2013 World Healthcare-Associated Infections Forum. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*. 2013. 2: 31.
- Indonesian Biotechnology Information Centre (IndoBIC). 2005. *Senyawa Antimikroba Dari Tanaman*. http://indobic.or.id/berita_detail.php?id_berita=124 diakses pada tanggal 21 Januari 2008.
- Irianto, K. 2006, *Mikrobiologi: Mengukir Dunia Mikroorganisme* Jilid 2, CV. Yrama Widya. Bandung.
- Jawetz, E., Melnick, J.L., Adelberg, E.A., 2001, *Mikrobiologi Kedokteran*. Surabaya: Salemba Medika. Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.
- Jawetz, E., Melnick, J.L., Adelberg, E.A., 2005, *Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan*, Diterjemahkan Oleh Bonang G., Edisi XXIV, ECG., Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta.
- Jawetz, E., Melnick, J.L., Adelberg, E.A., 2012, *Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan*, Diterjemahkan Oleh Bonang G., Edisi XXVI, ECG., Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta. Jawetz, E., Melnick, J.L., E.A., 2012, *Medical Microbiology*, 26th Ed. Elferia N, Penerjemah : Jakarta: UI. Hlm 256-263.

- Jawetz, Ernest, MD. PhD dkk, 1986. *Mikrobiologi untuk Profesi Kesehatan*. Edisi 16, Jakarta : Buku Kedokteran. Hlm 299-301.
- Juliantina F., Dewa A. C. M., Bunga N., Titis N., Endrawati T. B., 2008. Manfaat Sirih Merah (*Piper crocatum*) Sebagai Agen Anti Bakterial terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*. 60:58-62.
- Khopkar SM. 2003. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta: UI Press.
- Kristijono A. 2008. *Obat Tradisional Dan Fitofarmaka*. Kediri: Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wijaya Kediri.
- Kuswandi, M., 2011, Strategi Mengatasi Bakteri yang Resisten terhadap Antibiotika, 10-12, Pidato pengukuhan jabatan guru besar pada Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Lay, B. W. 1994. Analisis mikroba di laboratorium. PT Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Lencastre, H., Oliveira, D. Antibiotic resistant *Staphylococcus aureus*: a paradigm of adaptive power. 2007. *Curr Opin Microbiol*. 10(5): 428- 435.
- Lenny. S. 2006. *Senyawa Flavonoida, Fenil Propanoida, alkaloid*. USU Repository.
- List PH, Schamidt PC. 2000. *Phytopharmaceuticals Technology*. David E, Penerjemah; Florida: CRC Press. Hal. 67. 71. 73. 107-111. Terjemahan dari *Phytopharmaceuticals Technology*.
- Nickerson, E.K., West, T. E., Day, N. P. & Peacock, S. J., 2009, *Staphylococcus aureus* Disease and Drug Resistance in Resource-Limited Countries in South and East Asia. *Lancet infect Dis*, 9 (130), 5.
- Nurchayati, S. 2008. *Efektivitas Ekstrak Daun Mojo (aegle marmelos l.) Terhadap Kematian Aedes Aegypti Instar III*. Skripsi. Fakultas Ilmu Kesehatan Muhammadiyah Surakarta. Surakarta.
- Pandey, A., Mishra, R., 2011, Antibacterial properties of *Aegle marmelos* leaves, fruits and peels against various pathogens, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, 13, 13.
- Patil, D.N., Kulkarni, A.R., and Patil, B.S. 2010. *Fruit Gum of Aegle marmelos as Pharmaceutical Aid*. International Journal of Pharmacology. India.
- Pelczar Jr, M.J Chan E. C. S. 1986. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jakarta: UI-Press.
- Pengov A, Ceru S. 2012. Antimicrobial drug susceptibility of *Staphylococcus aureus* stains isolated from bovine and ovine mammary glands. *J.dairy sei*. 86: 3157-3163.

- Power D.A, Mc Cuen P.J. 1988. *Manual of BBL Product and Laboratory procedures. Sixth edition*. Maryland: Becton Dickinson.
- Praeparandi. 2006. Card System Analisa Kimia Farmasi Kualitatif. Bandung : Seksi Diktat Stenhl. Hlm 9.
- Prastowo, Eko Andri. 2013. *Standarisasi Simplisia*. Surabaya : Universitas Airlangga.
- Prayudhani *et al.* 2012. Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Daun dan Kulit Batang Sawo Kercik (*Manilkara kauki* L Dubard) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal SMK Negeri 1 Pasuruan dan Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Malang*.
- Prihatman, K. 2001. *Saponin untuk Pembasmi Hama Udang*. Penelitian Perkebunan Gambung. Bandung.
- Putri, W. S., Warditiani, N. K., Larasanty, L. P. F. 2013. Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.). [Skripsi]. Fakultas Farmasi, Universitas Udayana, Bali.
- Radji, M., 2011, Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi & Kedokteran, Jakarta, Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Ramya S, Kalayansundaram M, Kalaivani T and Jayakumararaj R. 2008, 12: 1051-1056.
- Saputri IK. 2014. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kelapa Sawit (*Elais guineensis* Jacq) dan Fraksi-fraksinya terhadap *Pseudomonas aeruginosa* serta profil KLTnya [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Sengupta, S., Chattopadhyay, M.K. Antibiotic Resistance of Bacteria: A Global Challenge, 2012. 17(2): 177-191.
- Setyowati WA, Sri RDA, Ashadi, Bakti Mulyani, Cici PR. 2014. Skrining Fitokimia Dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Kayu Durian (*Durio zibethinus* Mur.) Varietas Petruk. *Seminar Nasional Kimia Dan Pendidikan VI*. ISBN : 9779373174-0 : 271-280.
- Shituu, A.O., Okon, K., Adesida, S., Oyedara, O., Witte, W., Strommrnenger, B., Layer, F., Nubel, U. Antibiotic Resistance and Molecular Epidemiology of *Staphylococcus aureus* in Nigeria, *BMC Microbiology*, 2011. 11: 92.
- Siswandono dan Soekardjo, B., 2004, Kimia Medisinal, Surabaya, Erlangga.
- Sridhar, N., Raghavendra, M., Prasad, M.N.V., Kiran, B.V.V.S.S., Kanthal, L.K., 2014, Screening the fruits of *Aegle marmelos* for antibacterial,

- Anthelmintic and Cardiotonic Properties, *International Journal of Pharma Research & Review*, 3, 48-55.
- Sriyanti DP, Wijayani A. 2008. *Teknik Kultur Jaringan*. Cetakan ke-9. Yogyakarta : Penerbit Kanisius. hlm 86.
- Sumarno. 2000. *Kromatografi Teori Dasar*. Yogyakarta: bagian Kimia Farmasi Universitas Gajah Mada Yogyakarta.
- Suriawiria U. 2005. *Mikrobiologi Dasar*. Jakarta: Papas Sinar Sinanti.
- Suryono. Bambang., 2007. *Bakteriologi Umum dan Bakteriologi klinik*. Semarang : AKK Bhakti Widya. hlm 212-214.
- Sutton S, 2011. Measurement of Microbial Cells by Optical Density. *Journal of Validation Technology*. 17: 46-49.
- Thomson, R.H. 2008. *The Chemistri Of Natural Productst*. 2 Edition, Chapman and hall ltd.glasgow,UK. hlm 209-211.
- Thorfeldt S. *Alt Med Rev*. 2005, 9: 13-18.
- Tseng, C. W., Zhang, S., Steward, G. C., 2004, Accesory Gene Regulator Control of Staphylococcal Enterotoxin D gene Expression. *J Bacteriology*, 186, 1793-1801.
- Waluyo, L. 2004. *Mikrobiologi umum*. Edisi I. Malang : Diterjemahkan Universitas Muhammadiyah Malang.
- Werckenthin C, Cardoso M, Loismartel J, Schawarz S. 2009. Antimicrobial resistance in *staphylococci* from animals with particular refrence to bovine *staphylococcus aureus*, porcine *S. hyicus*and canine *S. intermedius*. *Journal Vet Res*. 32:341-362.
- WHO.World health Statistics (<http://www.who.int/whosis /whostat /2008 /en/>), 2008.
- Widyaningrum, Herlina. 2011. *Kitab Tanaman Obat Nusantara*. Yogyakarta: Media Pressindo.

\mathcal{L}

\mathcal{A}

\mathcal{M}

\mathcal{P}

I

\mathcal{R}

\mathcal{A}

\mathcal{N}

Lampiran 1. Hasil determinasi tanaman



No : 143/DET/UPT-LAB/24/V/2017
Hal : Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan

Menerangkan bahwa :

Nama : Dika Putri Ratna Sari
NIM : 19133802 A
Fakultas : Farmasi Universitas Setia Budi

Telah mendeterminasikan tumbuhan : **Maja / *Aegle marmelos* Correa.**

Determinasi berdasarkan Steenis : Flora

1b – 2b – 3b – 4b – 6b – 7b – 9b – 10b – 11b – 12b – 13b – 15b. golongan 9. 197a – 198b – 200b – 201b – 202b – 203a. familia 62. Rutaceae. 1b – 2b – 3a.2. *Aegle marmelos* Correa.

Deskripsi :

Habitus : Pohon, tinggi 10 – 15 m.
Akar : Tunggang.
Batang : Percabangan monopodial, ranting berkayu.
Daun : Anak daun bulat telur sampai bulat lanset, meruncing, bergerigi beringgit tidak dalam, panjang 5 – 12 cm.
Bunga : Malai atau tandan. Daun mahkota 4 – 5, bulat telur terbalik memanjang, panjang 1 – 1,5 cm, dariluar hijau, dari dalam keputih-putihan.
Buah : **Bentuk bola atau bulat memanjang, diameter 5 – 12,5 cm.**
Pustaka : Steenis C.G.G.J., Bloembergen S. Eyma P.J. (1978): *FLORA*, PT Pradnya Paramita. Jl. Kebon Sirih 46. Jakarta Pusat, 1978.

Surakarta, 24 Mei 2017

Tim determinasi

Dra. Kartinah Wirjosoendjojo, SU.

Lampiran 2. Hasil perhitungan prosentase bobot kering terhadap bobot basah

No	Bobot basah (gram)	Bobot kering (gram)	Prosentase % ^(b/b)
1	7000	1900	27,14

$$\text{prosentase} = \frac{\text{bobot kering}}{\text{bobot basah}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \text{prosentase} &= \frac{1900}{7000} \times 100\% \\ &= 27,14 \% \end{aligned}$$

**Lampiran 3. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk buah maja dengan
*Moisture Balance***

No	Bobot awal (gram)	Bobot akhir (gram)	Kadar susut pengeringan (%)
1	2,00	1,86	6,0
2	2,00	1,87	5,5
3	2,00	1,87	6,5
Rata-rata			6,0

Lampiran 4. Perhitungan rendemen ekstrak buah maja secara maserasi menggunakan pelarut etanol 70%

Berat serbuk (gram)	Berat wadah kosong (gram)	Berat wadah + ekstrak (gram)	Berat ekstrak (gram)	Rendemen (b/b%)
700	600	940	340	48,57

Berat ekstrak kental total 340 gram

Perhitungan :

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Hasil ekstraksi}}{\text{Bobot serbuk}} \times 100\%$$

$$= \frac{340}{700} \times 100\%$$

$$= 48,57\%$$

Lampiran 5. Perhitungan rendemen fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air buah maja

Nama pelarut	Replikasi	Bobot ekstrak (gram)	Berat wadah kosong (gram)	Berat wadah + ekstrak (gram)	Bobot fraksi (gram)	Rendemen (% b/b)
<i>n</i> -heksana	1	10,09	82,32	83,56	1,24	12,28
	2	10,11	88,23	89,50	1,27	12,56
	3	10,13	90,45	91,70	1,25	12,34
Etil asetat	1		79,57	81,67	2,10	20,81
	2		85,74	87,76	2,02	19,98
	3		92,13	94,18	2,05	20,24
Air	1		197,80	204	6,20	61,15
	2		198,21	204,18	5,97	59,05
	3		172,32	178,64	6,32	62,39

Perhitungan rendemen fraksi *n*-heksana dari ekstrak etanol buah maja

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{bobot fraksi}}{\text{bobot ekstrak}} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen (\%)} (1) = \frac{1,24}{10,09} \times 100\% = 12,28\%$$

$$\text{Rendemen (\%)} (2) = \frac{1,27}{10,09} \times 100\% = 12,56\%$$

$$\text{Rendemen (\%)} (3) = \frac{1,34}{10,09} \times 100\% = 12,34\%$$

$$\text{Rata-rata rendemen (\%)} = \frac{12,28+12,56+12,34}{3} = 12,39\%$$

Perhitungan rendemen fraksi etil asetat dari ekstrak etanol buah maja

$$\text{Rendemen (\%)} (1) = \frac{2,10}{10,09} \times 100\% = 20,81\%$$

$$\text{Rendemen (\%)} (2) = \frac{2,02}{10,09} \times 100\% = 19,98\%$$

$$\text{Rendemen (\%)} (3) = \frac{2,05}{10,09} \times 100\% = 20,24\%$$

$$\text{Rata-rata rendemen (\%)} = \frac{20,81+19,98+20,24}{3} = 20,34\%$$

Perhitungan rendemen fraksi air dari ekstrak etanol buah maja

$$\text{Rendemen (\%)} (1) = \frac{6,20}{10,09} \times 100\% = 61,15\%$$

$$\text{Rendemen (\%)} (2) = \frac{5,97}{10,09} \times 100\% = 59,05\%$$

$$\text{Rendemen (\%)} (3) = \frac{6,32}{10,09} \times 100\% = 62,39\%$$

$$\text{Rata-rata rendemen (\%)} = \frac{61,15+59,05+62,39}{3} = 60,86\%$$

Lampiran 6. Hasil preparasi sampel



Gambar buah maja



Gambar simplisia buah maja



Gambar serbuk buah maja

Lampiran 7. Hasil tes bebas etanol









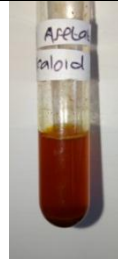









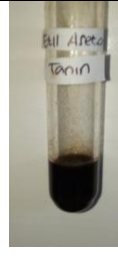
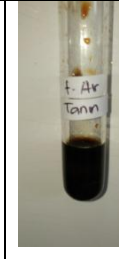







Gambar ekstrak buah maja



Gambar tes bebas etanol

Lampiran 8. Hasil Identifikasi kandungan senyawa kimia pada serbuk, ekstrak dan fraksi buah maja

Senyawa	Serbuk	Ekstrak	Fraksi		
			<i>n</i> -heksana	Etil asetat	Air
Flavonoid					
Alkaloid					
Saponin					
Tanin					
Triterpenoid					

Lampiran 9. Hasil fraksinasi



Fraksi *n*-heksana

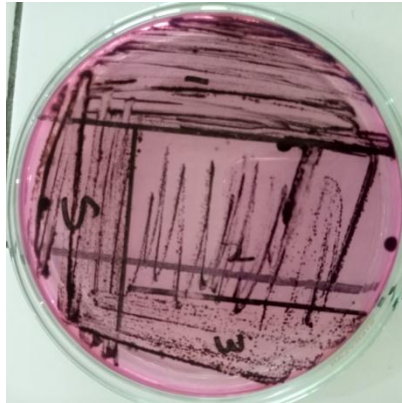


Fraksi etil asetat

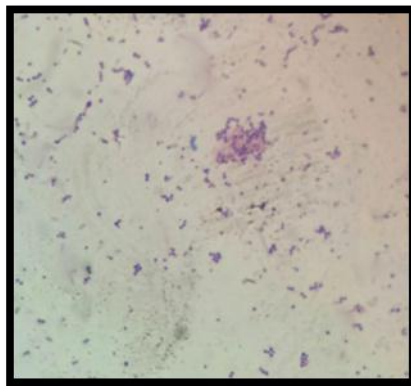


Fraksi Air

Lampiran 10. Hasil identifikasi bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923



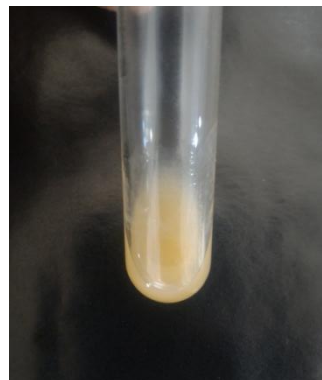
Gambar hasil identifikasi berdasarkan koloni



Gambar hasil mikroskopis secara morfologi



Gambar hasil uji katalase



Gambar hasil uji koagulase

Lampiran 11. Hasil pembuatan suspensi bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

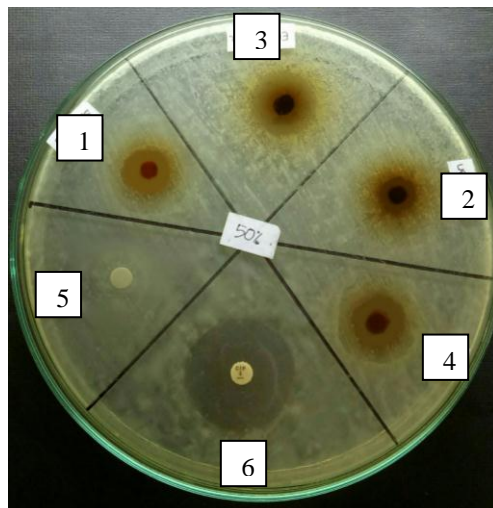


Lampiran 12. Hasil uji aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara difusi dan dilusi

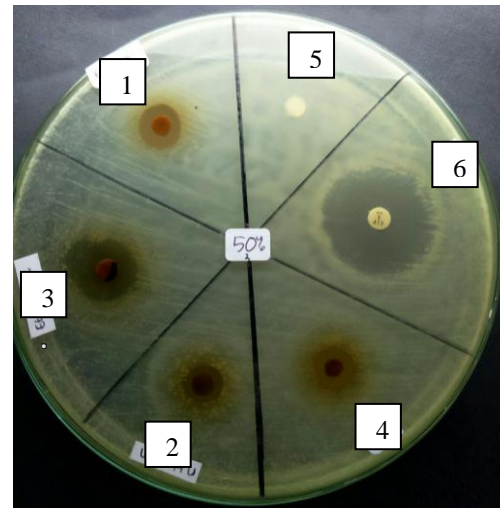
1. Konsentrasi 50%



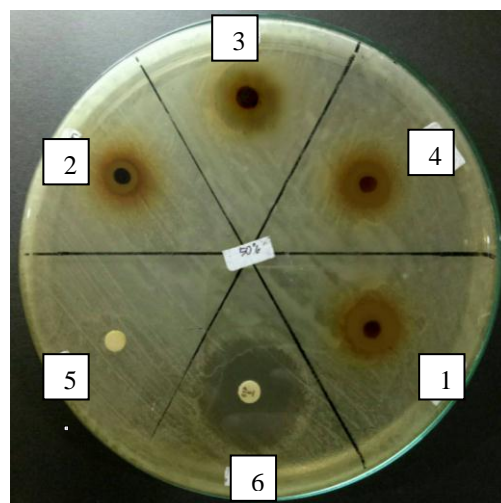
Larutan stok konsentrasi 50%



Replikasi 1



Replikasi 2

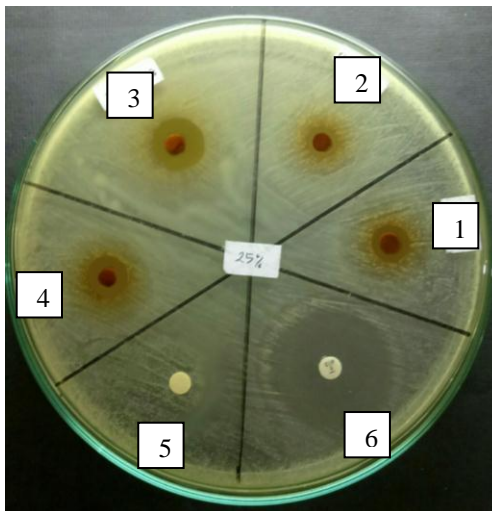


Replikasi 3

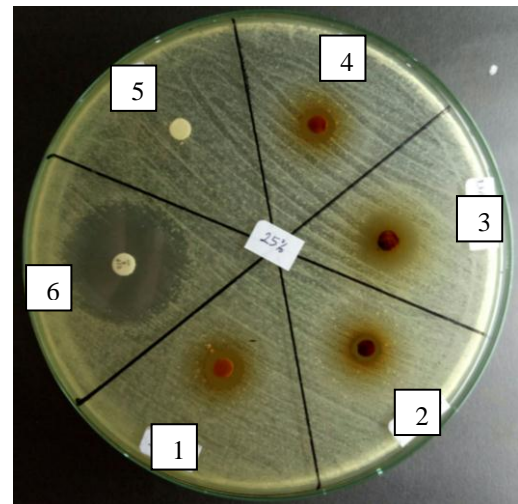
2. Konsentrasi 25%



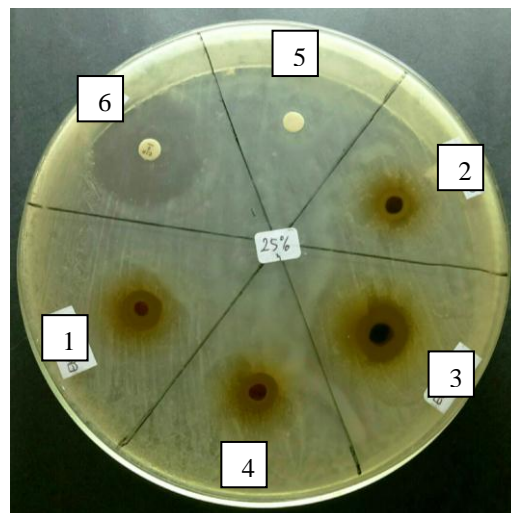
Larutan stok konsentrasi 25%



Replikasi 1



Replikasi 2

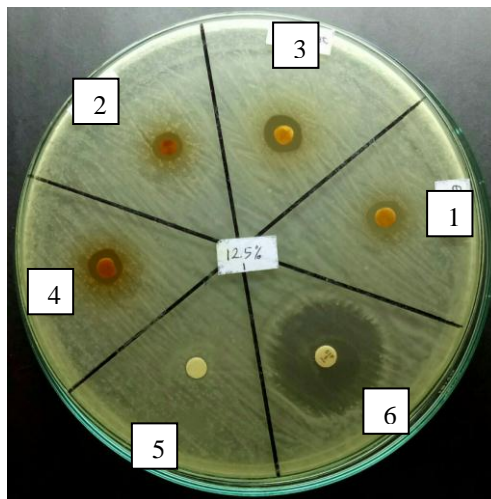


Replikasi 3

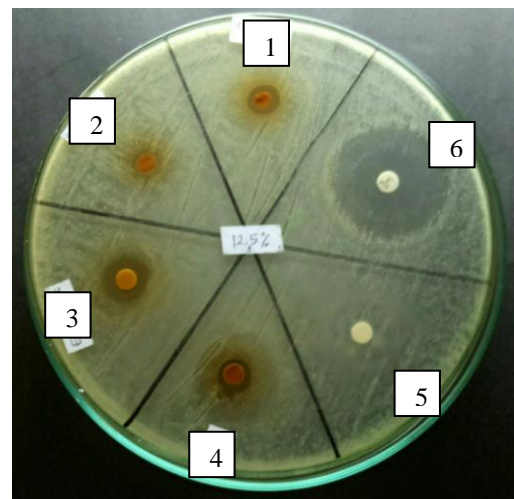
3. Konsentrasi 12,5%



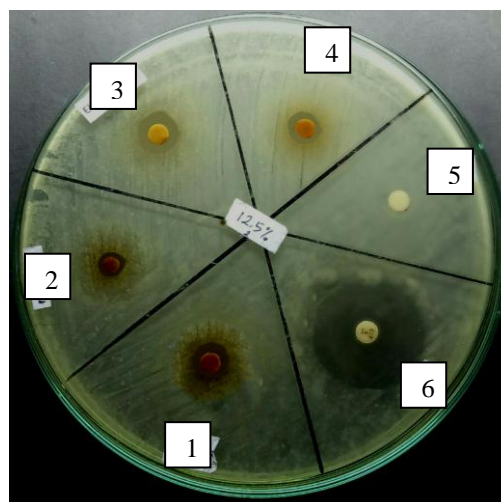
Larutan stok konsentrasi 12,5%



Replikasi 1



Replikasi 2

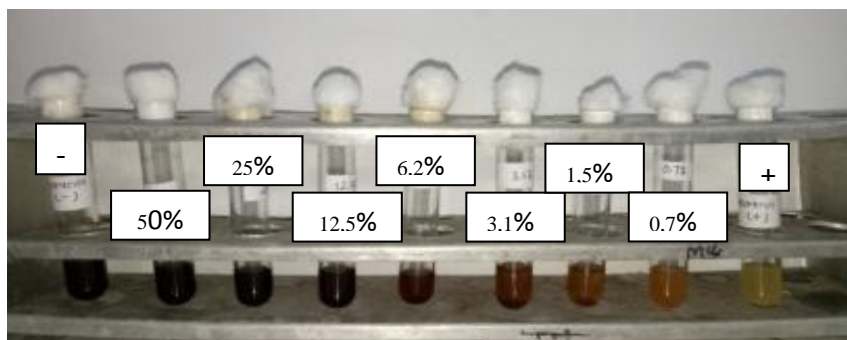


Replikasi 3

Keterangan :

1. Ekstrak
2. Fraksi *n*-heksana
3. Fraksi etil asetat

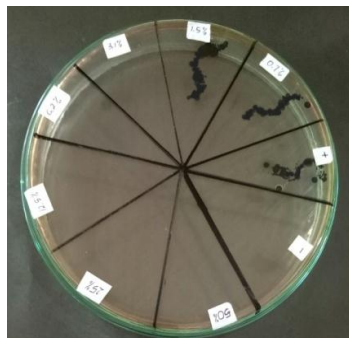
4. Fraksi air
5. Kontrol (-) DMSO 5%
6. Kontrol (+) Siprofloksasin 5 μ g



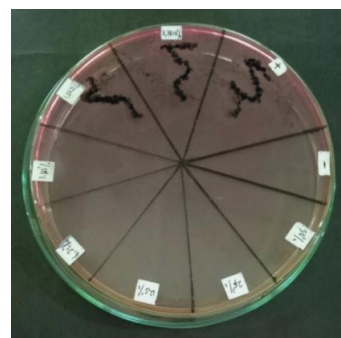
Gambar hasil metode dilusi fraksi etil asetat



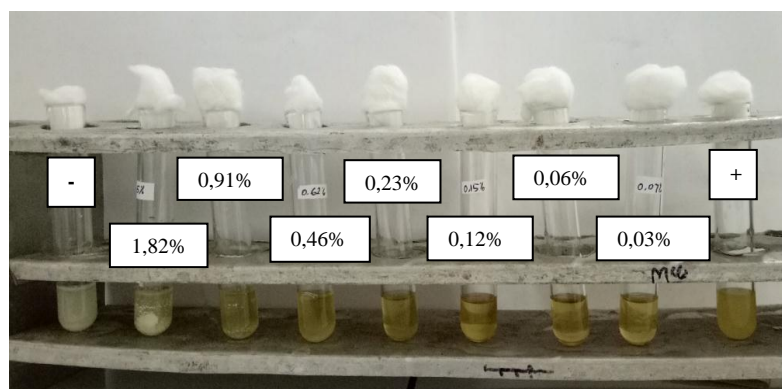
Replikasi 1



Replikasi 2



Replikasi 3



Gambar dilusi pembeding siprofloksasin



Replikasi 1



Replikasi 2



Replikasi 3

Lampiran 13. Pembuatan seri konsentrasi ekstrak, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air metode difusi

1. Konsentrasi 50%

Menimbang 0,5 gram ekstrak dilarutkan dengan DMSO 5% sampai 1 ml

2. Konsentrasi 25%

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 50\% = 1 \text{ ml} \cdot 25\%$$

$$V_1 \cdot 25\% = 25\%$$

$$V_1 = \frac{25\%}{50\%}$$

$$V_1 = 0,5 \text{ ml}$$

Dipipet 0,5 ml dari sediaan awal (50%) kemudian ditambah DMSO 5% sampai 1 ml.

3. Konsentrasi 12,5%

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 25\% = 1 \text{ ml} \cdot 12,5\%$$

$$V_1 \cdot 25\% = 12,5\%$$

$$V_1 = \frac{12,5\%}{25\%}$$

$$V_1 = 0,5 \text{ ml}$$

Dipipet 0,5 ml dari sediaan awal (25%) kemudian ditambah DMSO 5% sampai 1 ml.

Lampiran 14. Pembuatan larutan stok fraksi etil asetat metode dilusi

Larutan stok 50% =% b/v = 50 gram/100mL

Konsentrasi 50% = 0,5 gram/mL

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi 25\%} &= V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ &0,5 \cdot 50\% &= 1 \cdot C_2 \\ &C_2 &= 25\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi 12,5\%} &= V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ &0,5 \cdot 25\% &= 1 \cdot C_2 \\ &C_2 &= 12,5\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi 6,25\%} &= V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ &0,5 \cdot 12,5\% &= 1 \cdot C_2 \\ &C_2 &= 6,25\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi 3,125\%} &= V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ &0,5 \cdot 6,25\% &= 1 \cdot C_2 \\ &C_2 &= 3,125\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi 1,56\%} &= V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ &0,5 \cdot 3,125\% &= 1 \cdot C_2 \\ &C_2 &= 1,56\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi 0,78\%} &= V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ &0,5 \cdot 1,56\% &= 1 \cdot C_2 \\ &C_2 &= 0,78\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi 0,39\%} &= V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ &0,5 \cdot 0,78\% &= 1 \cdot C_2 \\ &C_2 &= 0,39\% \end{aligned}$$

Kontrol negatif (-) : 1 mL fraksi etil asetat buah maja

Kontrol positif (+) : 1 mL suspensi bakteri

Lampiran 15. Pembuatan larutan stok pembanding siprofloksasin metode dilusi

Larutan stok siprofloksasin = 125 mg/5 ml

Berat tablet siprofloksasin 500 mg = 686,3 mg

$$\text{Siprofloksasin} = \frac{125 \text{ mg}}{686,3 \text{ mg}} \times 500 \text{ mg} = 91,07 \text{ mg}$$

Konsentrasi siprofloksasin = 91 mg/5 ml

$$= 1820 \text{ mg}/100 \text{ ml} = 1,82 \% \text{ b/v}$$

Konsentrasi 1,82% = 1,82 gram/100mL

$$= 0,36 \text{ gram}/20\text{mL}$$

Konsentrasi 0,91% = $V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$

$$= 0,36 \cdot 1,82\% = 1 \cdot C_2$$

$$C_2 = 0,65\%$$

Konsentrasi 0,46% = $V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$

$$= 0,36 \cdot 0,91\% = 1 \cdot C_2$$

$$C_2 = 0,33\%$$

Konsentrasi 0,23% = $V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$

$$= 0,36 \cdot 0,46\% = 1 \cdot C_2$$

$$C_2 = 0,17\%$$

Konsentrasi 0,12% = $V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$

$$= 0,36 \cdot 0,23\% = 1 \cdot C_2$$

$$C_2 = 0,08\%$$

Konsentrasi 0,06% = $V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$

$$= 0,36 \cdot 0,12\% = 1 \cdot C_2$$

$$C_2 = 0,04\%$$

Konsentrasi 0,03% = $V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$

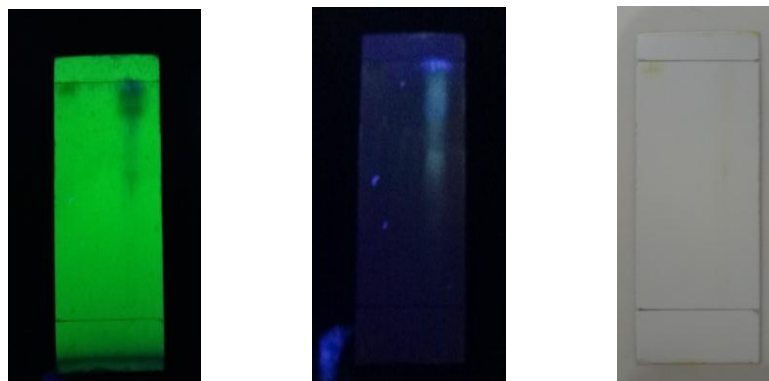
$$= 0,36 \cdot 0,06\% = 1 \cdot C_2$$

$$C_2 = 0,02\%$$

Kontrol negatif (-) : 1 mL antibiotik siprofloksasin

Kontrol positif (+) : 1 mL suspensi bakteri

Lampiran 16. Foto hasil identifikasi golongan senyawa fraksi etil asetat dengan Kromatografi Lapis Tipis

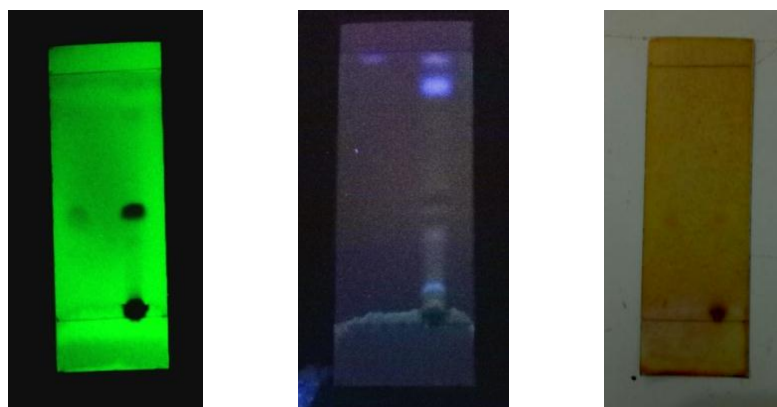


A

B

C

Gambar hasil identifikasi flavonoid



A

B

C

Gambar hasil identifikasi alkaloid



C



D

Gambar hasil identifikasi triterpenoid



C



D

Gambar hasil identifikasi steroid

Keterangan :

A = UV 254

B = UV 366

C = Sinar Tampak

D = Sinar Tampak (setelah dipanaskan)

Lampiran 17. Perhitungan Rf

$$R_f = \frac{\text{jarak yang ditempuh senyawa}}{\text{jarak yang ditempuh pelarut pengembang}}$$

1. Flavonoid

$$R_f \text{ sampel} = \frac{4,3}{5,0} = 0,86$$

$$R_f \text{ standar baku} = \frac{4,5}{5,0} = 0,9$$

2. Alkaloid

$$R_f \text{ sampel} = \frac{2,2}{4,9} = 0,45$$

$$R_f \text{ standar baku} = \frac{2,2}{4,9} = 0,45$$

3. Triterpenoid

$$R_f \text{ sampel} = \frac{3,6}{5,2} = 0,68$$

4. Steroid

$$R_f \text{ sampel} = \frac{2,6}{5,2} = 0,5$$

$$R_f \text{ baku standar} = \frac{2,6}{5,2} = 0,5$$

Lampiran 18. Gambar alat yang digunakan



Moisture Balance



Botol Maserai



Waterbath



Rotary Evaporator



Oven



Inkas



Inkubator



Autoclav



Timbangan Analitik



Autovotex



Chamber

Lampiran 19. Formulasi dan pembuatan media

1. Formulasi dan pembuatan Mueller Hinton Agar (MHA)

Beef, dehydrated infusion	300	gram
Casein hydrolysate	17,5	gram
Starch	1,5	gram
Agar	17	gram

Reagen-reagen di atas dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml, panaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan masukkan ke dalam plat.

2. Formulasi dan pembuatan *Vogel Johnson Agar* (VJA)

Peptone.....	10,0	gram
Yeast extract.....	5,0	gram
di-potasium hydrogen phosphate.....	10,0	gram
D(-)mannitol.....	10,0	gram
Lithium chloride	5,0	gram
Glycine	10,0	gram
Phenol red.....	0,025	gram
Agar	13,0	gram

Reagen-reagen di atas dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 mL, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. VJA steril dituangkan dalam cawan petri yang sudah diberi kalium tellurite.

3. Formulasi dan pembuatan Brain Heart Infusion (BHI)

Brain infusion	12,5	gram
Heart infusion	5,0	gram
Proteose peptone.....	10,0	gram
Glucose	2,0	gram
Sodium chloride.....	5,0	gram
di-sodium hydrogen phosphate	2,5	gram

Reagen-reagen diatas dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 mL, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituangkan dalam tabung.

Lampiran 20. Hasil data difusi secara ANOVA *one way*

Uji Kolmogorov Smirnov

Tujuan : mengetahui kenormalan data sebagai syarat uji ANOVA

Kriteria uji :

Sig. < 0,05 berarti H_0 ditolak

Sig. > 0.05 H_0 diterima

Hasil :

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test		
		diameter hambat
N		42
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	15.5881
	Std. Deviation	6.67960
Most Extreme Differences	Absolute	.175
	Positive	.150
	Negative	-.175
Kolmogorov-Smirnov Z		1.132
Asymp. Sig. (2-tailed)		.154

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Kesimpulan : sig > 0,05 maka data persen diameter hambat terdistribusi normal

Uji Levene

Tujuan : untuk mengetahui homogenitas data

Kriteria uji :

Sig. < 0,05 berarti H_0 ditolak

Sig. > 0.05 H_0 diterima

Hasil :

Test of Homogeneity of Variances			
diameter hambat			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.446	13	28	.200

Kesimpulan : sig > 0,05 (H_0 diterima) maka data persen diameter hambat homogen

Uji One Way ANOVA

Tujuan : untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna dari persen diameter hambat dari setiap kelompok perlakuan

Kriteria uji :

Sig. < 0,05 berarti H_0 ditolak

Sig. > 0.05 H_0 diterima

Hasil :**ANOVA**

diameter hambat

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1827.213	13	140.555	1886.461	.000
Within Groups	2.086	28	.075		
Total	1829.299	41			

Kesimpulan : sig < 0,05 (H_0 ditolak) maka terdapat perbedaan persen diameter hambat antar kelompok perlakuan.

Uji Post Hoc (HSD)

Tujuan : untuk mengetahui pada kelompok mana terdapat perbedaan persen diameter hambat yang bermakna

Kriteria uji :

Sig. < 0,05 berarti H_0 ditolak

Sig. > 0.05 H_0 diterima

Hasil :**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: diameter hambat

Tukey HSD

(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
ekstrak 50%	ekstrak 25%	1.00000	.22287	.007	.1842	1.8158
	ekstrak 12,5%	2.77667	.22287	.000	1.9609	3.5925
	fraksi n-heksana 50%	2.00000	.22287	.000	1.1842	2.8158
	fraksi n-heksana 25%	3.22333	.22287	.000	2.4075	4.0391
	fraksi n-heksana 12,5%	4.22333	.22287	.000	3.4075	5.0391
	fraksietilasetat 50%	-8.22333	.22287	.000	-9.0391	-7.4075
	fraksietilasetat 25%	-6.55333	.22287	.000	-7.3691	-5.7375
	fraksietilasetat 12,5%	-2.55667	.22287	.000	-3.3725	-1.7409
	fraksi air 50%	-.88667	.22287	.024	-1.7025	-.0709
	fraksi air 25%	1.00000	.22287	.007	.1842	1.8158
	fraksi air 12,5%	2.22333	.22287	.000	1.4075	3.0391
	Ciprofloxacin	-14.22333	.22287	.000	-15.0391	-13.4075
	Dmso	15.55667	.22287	.000	14.7409	16.3725
ekstrak 25%	ekstrak 50%	-1.00000	.22287	.007	-1.8158	-.1842
	ekstrak 12,5%	1.77667	.22287	.000	.9609	2.5925
	fraksi n-heksana 50%	1.00000	.22287	.007	.1842	1.8158

	fraksi n-heksana 25%	2.22333	.22287	.000	1.4075	3.0391
	fraksi n-heksana 12,5%	3.22333	.22287	.000	2.4075	4.0391
	fraksietilasetat 50%	-9.22333	.22287	.000	-10.0391	-8.4075
	fraksietilasetat 25%	-7.55333	.22287	.000	-8.3691	-6.7375
	fraksietilasetat 12,5%	-3.55667	.22287	.000	-4.3725	-2.7409
	fraksi air 50%	-1.88667	.22287	.000	-2.7025	-1.0709
	fraksi air 25%	.00000	.22287	1.000	-.8158	.8158
	fraksi air 12,5%	1.22333	.22287	.001	.4075	2.0391
	Ciprofloxacin	-15.22333	.22287	.000	-16.0391	-14.4075
	Dmso	14.55667	.22287	.000	13.7409	15.3725
	ekstrak 50%	-2.77667	.22287	.000	-3.5925	-1.9609
ekstrak 12,5%	ekstrak 25%	-1.77667	.22287	.000	-2.5925	-.9609
	fraksi n-heksana 50%	-.77667	.22287	.074	-1.5925	.0391
	fraksi n-heksana 25%	.44667	.22287	.753	-.3691	1.2625
	fraksi n-heksana 12,5%	1.44667	.22287	.000	.6309	2.2625
	fraksietilasetat 50%	-11.00000	.22287	.000	-11.8158	-10.1842
	fraksietilasetat 25%	-9.33000	.22287	.000	-10.1458	-8.5142
	fraksietilasetat 12,5%	-5.33333	.22287	.000	-6.1491	-4.5175
	fraksi air 50%	-3.66333	.22287	.000	-4.4791	-2.8475
	fraksi air 25%	-1.77667	.22287	.000	-2.5925	-.9609
	fraksi air 12,5%	-.55333	.22287	.452	-1.3691	.2625
	Ciprofloxacin	-17.00000	.22287	.000	-17.8158	-16.1842
	Dmso	12.78000	.22287	.000	11.9642	13.5958
	ekstrak 50%	-2.00000	.22287	.000	-2.8158	-1.1842
	ekstrak 25%	-1.00000	.22287	.007	-1.8158	-.1842
	ekstrak 12,5%	.77667	.22287	.074	-.0391	1.5925
fraksi n- heksana 50%	fraksi n-heksana 25%	1.22333	.22287	.001	.4075	2.0391
	fraksi n-heksana 12,5%	2.22333	.22287	.000	1.4075	3.0391
	fraksietilasetat 50%	-10.22333	.22287	.000	-11.0391	-9.4075
	fraksietilasetat 25%	-8.55333	.22287	.000	-9.3691	-7.7375
	fraksietilasetat 12,5%	-4.55667	.22287	.000	-5.3725	-3.7409
	fraksi air 50%	-2.88667	.22287	.000	-3.7025	-2.0709
	fraksi air 25%	-1.00000	.22287	.007	-1.8158	-.1842
	fraksi air 12,5%	.22333	.22287	.999	-.5925	1.0391
	Ciprofloxacin	-16.22333	.22287	.000	-17.0391	-15.4075
	Dmso	13.55667	.22287	.000	12.7409	14.3725
	ekstrak 50%	-3.22333	.22287	.000	-4.0391	-2.4075
	ekstrak 25%	-2.22333	.22287	.000	-3.0391	-1.4075
	ekstrak 12,5%	-.44667	.22287	.753	-1.2625	.3691
	fraksi n-heksana 50%	-1.22333	.22287	.001	-2.0391	-.4075
	fraksi n-heksana 12,5%	1.00000	.22287	.007	.1842	1.8158
fraksi n- heksana 25%	fraksietilasetat 50%	-11.44667	.22287	.000	-12.2625	-10.6309
	fraksietilasetat 25%	-9.77667	.22287	.000	-10.5925	-8.9609
	fraksietilasetat 12,5%	-5.78000	.22287	.000	-6.5958	-4.9642
	fraksi air 50%	-4.11000	.22287	.000	-4.9258	-3.2942
	fraksi air 25%	-2.22333	.22287	.000	-3.0391	-1.4075
	fraksi air 12,5%	-1.00000	.22287	.007	-1.8158	-.1842
	Ciprofloxacin	-17.44667	.22287	.000	-18.2625	-16.6309
	Dmso	12.33333	.22287	.000	11.5175	13.1491
	ekstrak 50%	-4.22333	.22287	.000	-5.0391	-3.4075
	ekstrak 25%	-3.22333	.22287	.000	-4.0391	-2.4075
	ekstrak 12,5%	-1.44667	.22287	.000	-2.2625	-.6309
	fraksi n-heksana 50%	-2.22333	.22287	.000	-3.0391	-1.4075
	fraksi n-heksana 25%	-1.00000	.22287	.007	-1.8158	-.1842
	fraksietilasetat 50%	-12.44667	.22287	.000	-13.2625	-11.6309
	fraksietilasetat 25%	-10.77667	.22287	.000	-11.5925	-9.9609
	fraksietilasetat 12,5%	-6.78000	.22287	.000	-7.5958	-5.9642
fraksi n- heksana 12,5%	fraksi air 50%	-5.11000	.22287	.000	-5.9258	-4.2942
	fraksi air 25%	-3.22333	.22287	.000	-4.0391	-2.4075
	fraksi air 12,5%	-2.00000	.22287	.000	-2.8158	-1.1842
	Ciprofloxacin	-18.44667	.22287	.000	-19.2625	-17.6309

fraksietilasetat 50%	Dmso	11.33333	.22287	.000	10.5175	12.1491
	ekstrak 50%	8.22333	.22287	.000	7.4075	9.0391
	ekstrak 25%	9.22333	.22287	.000	8.4075	10.0391
	ekstrak 12,5%	11.00000	.22287	.000	10.1842	11.8158
	fraksi n-heksana 50%	10.22333	.22287	.000	9.4075	11.0391
	fraksi n-heksana 25%	11.44667	.22287	.000	10.6309	12.2625
	fraksi n-heksana 12,5%	12.44667	.22287	.000	11.6309	13.2625
	fraksietilasetat 25%	1.67000	.22287	.000	.8542	2.4858
	fraksietilasetat 12,5%	5.66667	.22287	.000	4.8509	6.4825
	fraksi air 50%	7.33667	.22287	.000	6.5209	8.1525
fraksietilasetat 25%	fraksi air 25%	9.22333	.22287	.000	8.4075	10.0391
	fraksi air 12,5%	10.44667	.22287	.000	9.6309	11.2625
	Ciprofloxacin	-6.00000	.22287	.000	-6.8158	-5.1842
	Dmso	23.78000	.22287	.000	22.9642	24.5958
	ekstrak 50%	6.55333	.22287	.000	5.7375	7.3691
	ekstrak 25%	7.55333	.22287	.000	6.7375	8.3691
	ekstrak 12,5%	9.33000	.22287	.000	8.5142	10.1458
	fraksi n-heksana 50%	8.55333	.22287	.000	7.7375	9.3691
	fraksi n-heksana 25%	9.77667	.22287	.000	8.9609	10.5925
	fraksi n-heksana 12,5%	10.77667	.22287	.000	9.9609	11.5925
fraksietilasetat 12,5%	fraksietilasetat 50%	-1.67000	.22287	.000	-2.4858	-.8542
	fraksietilasetat 12,5%	3.99667	.22287	.000	3.1809	4.8125
	fraksi air 50%	5.66667	.22287	.000	4.8509	6.4825
	fraksi air 25%	7.55333	.22287	.000	6.7375	8.3691
	fraksi air 12,5%	8.77667	.22287	.000	7.9609	9.5925
	Ciprofloxacin	-7.67000	.22287	.000	-8.4858	-6.8542
	Dmso	22.11000	.22287	.000	21.2942	22.9258
	ekstrak 50%	2.55667	.22287	.000	1.7409	3.3725
	ekstrak 25%	3.55667	.22287	.000	2.7409	4.3725
	ekstrak 12,5%	5.33333	.22287	.000	4.5175	6.1491
fraksi air 50%	fraksi n-heksana 50%	4.55667	.22287	.000	3.7409	5.3725
	fraksi n-heksana 25%	5.78000	.22287	.000	4.9642	6.5958
	fraksi n-heksana 12,5%	6.78000	.22287	.000	5.9642	7.5958
	fraksietilasetat 50%	-5.66667	.22287	.000	-6.4825	-4.8509
	fraksietilasetat 25%	-3.99667	.22287	.000	-4.8125	-3.1809
	fraksi air 50%	1.67000	.22287	.000	.8542	2.4858
	fraksi air 25%	3.55667	.22287	.000	2.7409	4.3725
	fraksi air 12,5%	4.78000	.22287	.000	3.9642	5.5958
	Ciprofloxacin	-11.66667	.22287	.000	-12.4825	-10.8509
	Dmso	18.11333	.22287	.000	17.2975	18.9291
fraksi air 25%	ekstrak 50%	.88667	.22287	.024	.0709	1.7025
	ekstrak 25%	1.88667	.22287	.000	1.0709	2.7025
	ekstrak 12,5%	3.66333	.22287	.000	2.8475	4.4791
	fraksi n-heksana 50%	2.88667	.22287	.000	2.0709	3.7025
	fraksi n-heksana 25%	4.11000	.22287	.000	3.2942	4.9258
	fraksi n-heksana 12,5%	5.11000	.22287	.000	4.2942	5.9258
	fraksietilasetat 50%	-7.33667	.22287	.000	-8.1525	-6.5209
	fraksietilasetat 25%	-5.66667	.22287	.000	-6.4825	-4.8509
	fraksietilasetat 12,5%	-1.67000	.22287	.000	-2.4858	-.8542
	fraksi air 25%	1.88667	.22287	.000	1.0709	2.7025
fraksi air 25%	fraksi air 12,5%	3.11000	.22287	.000	2.2942	3.9258
	Ciprofloxacin	-13.33667	.22287	.000	-14.1525	-12.5209
	Dmso	16.44333	.22287	.000	15.6275	17.2591
	ekstrak 50%	-1.00000	.22287	.007	-1.8158	-.1842
	ekstrak 25%	.00000	.22287	1.000	-.8158	.8158
	ekstrak 12,5%	1.77667	.22287	.000	.9609	2.5925
	fraksi n-heksana 50%	1.00000	.22287	.007	.1842	1.8158
	fraksi n-heksana 25%	2.22333	.22287	.000	1.4075	3.0391
	fraksi n-heksana 12,5%	3.22333	.22287	.000	2.4075	4.0391
	fraksietilasetat 50%	-9.22333	.22287	.000	-10.0391	-8.4075
fraksi air 25%	fraksietilasetat 25%	-7.55333	.22287	.000	-8.3691	-6.7375
	fraksietilasetat 12,5%	-3.55667	.22287	.000	-4.3725	-2.7409

fraksi air 12,5%	fraksi air 50%	-1.88667	.22287	.000	-2.7025	-1.0709
	fraksi air 12,5%	1.22333	.22287	.001	.4075	2.0391
	Ciprofloxacin	-15.22333	.22287	.000	-16.0391	-14.4075
	Dmso	14.55667	.22287	.000	13.7409	15.3725
	ekstrak 50%	-2.22333	.22287	.000	-3.0391	-1.4075
	ekstrak 25%	-1.22333	.22287	.001	-2.0391	-.4075
	ekstrak 12,5%	.55333	.22287	.452	-.2625	1.3691
	fraksi n-heksana 50%	-.22333	.22287	.999	-1.0391	.5925
	fraksi n-heksana 25%	1.00000	.22287	.007	.1842	1.8158
	fraksi n-heksana 12,5%	2.00000	.22287	.000	1.1842	2.8158
	fraksietilasetat 50%	-10.44667	.22287	.000	-11.2625	-9.6309
	fraksietilasetat 25%	-8.77667	.22287	.000	-9.5925	-7.9609
	fraksietilasetat 12,5%	-4.78000	.22287	.000	-5.5958	-3.9642
	fraksi air 50%	-3.11000	.22287	.000	-3.9258	-2.2942
	fraksi air 25%	-1.22333	.22287	.001	-2.0391	-.4075
Ciprofloxacin	Ciprofloxacin	-16.44667	.22287	.000	-17.2625	-15.6309
	Dmso	13.33333	.22287	.000	12.5175	14.1491
	ekstrak 50%	14.22333	.22287	.000	13.4075	15.0391
	ekstrak 25%	15.22333	.22287	.000	14.4075	16.0391
	ekstrak 12,5%	17.00000	.22287	.000	16.1842	17.8158
	fraksi n-heksana 50%	16.22333	.22287	.000	15.4075	17.0391
	fraksi n-heksana 25%	17.44667	.22287	.000	16.6309	18.2625
	fraksi n-heksana 12,5%	18.44667	.22287	.000	17.6309	19.2625
	fraksietilasetat 50%	6.00000	.22287	.000	5.1842	6.8158
	fraksietilasetat 25%	7.67000	.22287	.000	6.8542	8.4858
	fraksietilasetat 12,5%	11.66667	.22287	.000	10.8509	12.4825
	fraksi air 50%	13.33667	.22287	.000	12.5209	14.1525
	fraksi air 25%	15.22333	.22287	.000	14.4075	16.0391
	fraksi air 12,5%	16.44667	.22287	.000	15.6309	17.2625
	Dmso	29.78000	.22287	.000	28.9642	30.5958
Dmso	ekstrak 50%	-15.55667	.22287	.000	-16.3725	-14.7409
	ekstrak 25%	-14.55667	.22287	.000	-15.3725	-13.7409
	ekstrak 12,5%	-12.78000	.22287	.000	-13.5958	-11.9642
	fraksi n-heksana 50%	-13.55667	.22287	.000	-14.3725	-12.7409
	fraksi n-heksana 25%	-12.33333	.22287	.000	-13.1491	-11.5175
	fraksi n-heksana 12,5%	-11.33333	.22287	.000	-12.1491	-10.5175
	fraksietilasetat 50%	-23.78000	.22287	.000	-24.5958	-22.9642
	fraksietilasetat 25%	-22.11000	.22287	.000	-22.9258	-21.2942
	fraksietilasetat 12,5%	-18.11333	.22287	.000	-18.9291	-17.2975
	fraksi air 50%	-16.44333	.22287	.000	-17.2591	-15.6275
	fraksi air 25%	-14.55667	.22287	.000	-15.3725	-13.7409
	fraksi air 12,5%	-13.33333	.22287	.000	-14.1491	-12.5175
	Ciprofloxacin	-29.78000	.22287	.000	-30.5958	-28.9642

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

Homogeneous Subsets

TukeyHSD^a

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Dmso	3	.0000										
fraksi n-heksana 12,5%	3		11.3333									
fraksi n-heksana 25%	3			12.3333								
ekstrak 12,5%	3			12.7800	12.7800							
fraksi air 12,5%	3				13.3333							
fraksi n-heksana 50%	3				13.5567							
ekstrak 25%	3					14.5567						
fraksi air 25%	3					14.5567						
ekstrak 50%	3						15.5567					
fraksi air 50%	3							16.4433				
fraksietilasetat 12,5%	3								18.1133			
fraksietilasetat 25%	3									22.1100		
fraksietilasetat 50%	3										23.7800	
Ciprofloxacin	3											29.7800
Sig.		1.000	1.000	.753	.074	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Kesimpulan : Subset 1 terdapat kontrol negatif, subset 11 terdapat kontrol positif, sedangkan pada subset 2 sampai 10 terdapat sediaan uji dengan konsentrasi yang berbeda. Pada subset 10 terdapat fraksi etil asetat 50%, sehingga dapat diketahui bahwa fraksi etil asetat 50% merupakan fraksi yang paling aktif. Sediaan uji pada subset 3 sampai 4 terdapat lebih dari satu sediaan uji dalam satu subset, sehingga tidak mempunyai perbedaan yang signifikan dalam penghambatan aktivitas antibakteri.

➤ **Konsentrasi 50%**

Uji Kolmogorov Smirnov

Tujuan : mengetahui kenormalan data sebagai syarat uji ANOVA

Kriteria uji :

Sig. < 0,05 berarti H_0 ditolak

Sig. > 0,05 H_0 diterima

Hasil :

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		DiameterHambat
N		12
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	17.3342
	Std. Deviation	4.04090
Most Extreme Differences	Absolute	.315
	Positive	.315
	Negative	-.192
Kolmogorov-Smirnov Z		1.092
Asymp. Sig. (2-tailed)		.184

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Kesimpulan : sig > 0,05 maka data persen diameter hambat terdistribusi normal

Uji Levene

Tujuan : untuk mengetahui homogenitas data

Kriteria uji :

Sig. < 0,05 berarti H_0 ditolak

Sig. > 0.05 H_0 diterima

Hasil :

Test of Homogeneity of Variances

DiameterHambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.004	3	8	1.000

Kesimpulan : sig > 0,05 (H_0 diterima) maka data persen diameter hambat homogen

Uji One Way ANOVA

Tujuan : untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna dari persen diameter hambat dari setiap kelompok perlakuan

Kriteria uji :

Sig. < 0,05 berarti H_0 ditolak

Sig. > 0.05 H_0 diterima

Hasil :

ANOVA

DiameterHambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	179.314	3	59.771	1573.966	.000
Within Groups	.304	8	.038		
Total	179.618	11			

Kesimpulan : sig < 0,05 (H0 ditolak) maka terdapat perbedaan persen diameter hambat antar kelompok perlakuan.

Uji Post Hoc (HSD)

Tujuan : untuk mengetahui pada kelompok mana terdapat perbedaan persen diameter hambat yang bermakna

Kriteria uji :

Sig. < 0,05 berarti Ho ditolak

Sig. > 0,05 Ho diterima

Hasil :

Multiple Comparisons

Dependent Variable: DiameterHambat

Tukey HSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
ekstrak 50%	fraksi n-heksan 50%	2.00000*	.15911	.000	1.4905	2.5095
	fraksi etil asetat 50%	-8.22333*	.15911	.000	-8.7329	-7.7138
	fraksi air 50%	-.88667*	.15911	.002	-1.3962	-.3771
fraksi n-heksan 50%	ekstrak 50%	-2.00000*	.15911	.000	-2.5095	-1.4905
	fraksi etil asetat 50%	-10.22333*	.15911	.000	-10.7329	-9.7138
	fraksi air 50%	-2.88667*	.15911	.000	-3.3962	-2.3771
fraksi etil asetat 50%	ekstrak 50%	8.22333*	.15911	.000	7.7138	8.7329
	fraksi n-heksan 50%	10.22333*	.15911	.000	9.7138	10.7329
	fraksi air 50%	7.33667*	.15911	.000	6.8271	7.8462
fraksi air 50%	ekstrak 50%	.88667*	.15911	.002	.3771	1.3962
	fraksi n-heksan 50%	2.88667*	.15911	.000	2.3771	3.3962
	fraksi etil asetat 50%	-7.33667*	.15911	.000	-7.8462	-6.8271

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

Homogeneous Subsets

DiameterHambat

Tukey HSD^a

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
fraksi n-heksan 50%	3	13.5567			
ekstrak 50%	3		15.5567		
fraksi air 50%	3			16.4433	
fraksi etil asetat 50%	3				23.7800
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Kesimpulan : Subset 1 sampai 4 konsentrasi 50% dari fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air dapat diketahui terdapat perbedaan yang signifikan.

➤ Konsentrasi 25%

Uji Kolmogorov Smirnov

Tujuan : mengetahui kenormalan data sebagai syarat uji ANOVA

Kriteria uji :

Sig. < 0,05 Ho ditolak

Sig. > 0.05 Ho diterima

Hasil :

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		DiameterHambat
N		12
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	15.8892
	Std. Deviation	3.87709
	Absolute	.373
Most Extreme Differences	Positive	.373
	Negative	-.182
Kolmogorov-Smirnov Z		1.294
Asymp. Sig. (2-tailed)		.070

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Kesimpulan : sig > 0,05 maka data persen diameter hambat terdistribusi normal

Uji Levene

Tujuan : untuk mengetahui homogenitas data

Kriteria uji :

Sig. < 0,05 Ho ditolak

Sig. > 0.05 Ho diterima

Hasil :

Test of Homogeneity of Variances			
DiameterHambat			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.912	3	8	.477

Kesimpulan : sig > 0,05 (H0 diterima) maka data persen diameter hambat homogen

Uji One Way ANOVA

Tujuan : untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna dari persen diameter hambat dari setiap kelompok perlakuan

Kriteria uji :

Sig. < 0,05 Ho ditolak

Sig. > 0,05 Ho diterima

Hasil :

ANOVA					
DiameterHambat					
	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	164.681	3	54.894	656.428	.000
Within Groups	.669	8	.084		
Total	165.350	11			

Kesimpulan : sig < 0,05 (H0 ditolak) maka terdapat perbedaan persen diameter hambat antar kelompok perlakuan.

Uji Post Hoc (HSD)

Tujuan : untuk mengetahui pada kelompok mana terdapat perbedaan persen diameter hambat yang bermakna

Kriteria uji :

Sig. < 0,05 berarti Ho ditolak

Sig. > 0.05 Ho diterima

Hasil :

Multiple Comparisons

Dependent Variable: DiameterHambat

Tukey HSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
ekstrak 25%	fraksi n-heksan 25%	2.22333*	.23611	.000	1.4672	2.9795
	fraksi etil asetat 25%	-7.55333*	.23611	.000	-8.3095	-6.7972
	fraksi air 25%	.00000	.23611	1.000	-.7561	.7561
fraksi n-heksan 25%	ekstrak 25%	-2.22333*	.23611	.000	-2.9795	-1.4672
	fraksi etil asetat 25%	-9.77667*	.23611	.000	-10.5328	-9.0205
	fraksi air 25%	-2.22333*	.23611	.000	-2.9795	-1.4672
fraksi etil asetat 25%	ekstrak 25%	7.55333*	.23611	.000	6.7972	8.3095
	fraksi n-heksan 25%	9.77667*	.23611	.000	9.0205	10.5328
	fraksi air 25%	7.55333*	.23611	.000	6.7972	8.3095
fraksi air 25%	ekstrak 25%	.00000	.23611	1.000	-.7561	.7561
	fraksi n-heksan 25%	2.22333*	.23611	.000	1.4672	2.9795
	fraksi etil asetat 25%	-7.55333*	.23611	.000	-8.3095	-6.7972

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

Homogeneous Subsets

DiameterHambat

Tukey HSD^a

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
fraksi n-heksan 25%	3	12.3333		
ekstrak 25%	3		14.5567	
fraksi air 25%	3		14.5567	
fraksi etil asetat 25%	3			22.1100
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Kesimpulan : Subset 1 sampai 3 konsentrasi 25% dari fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air dapat diketahui pada subset 2 tidak mempunyai perbedaan yang signifikan.

➤ **Konsentrasi 12,5%**

Uji Kolmogorov Smirnov

Tujuan : mengetahui kenormalan data sebagai syarat uji ANOVA

Kriteria uji :

Sig. < 0,05 berarti H_0 ditolak

Sig. > 0.05 H_0 diterima

Hasil :

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		DiameterHambat
N		12
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	13.8900
	Std. Deviation	2.67626
Most Extreme Differences	Absolute	.283
	Positive	.283
	Negative	-.171
Kolmogorov-Smirnov Z		.980
Asymp. Sig. (2-tailed)		.293

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Kesimpulan : sig > 0,05 maka data persen diameter hambat terdistribusi normal

Uji Levene

Tujuan : untuk mengetahui homogenitas data

Kriteria uji :

Sig. < 0,05 H_0 ditolak

Sig. > 0,05 H_0 diterima

Hasil :

Test of Homogeneity of Variances

DiameterHambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.809	3	8	.524

Kesimpulan : sig > 0,05 (H_0 diterima) maka data persen diameter hambat homogen

Uji One Way ANOVA

Tujuan : untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna dari persen diameter hambat dari setiap kelompok perlakuan

Kriteria uji :Sig. < 0,05 berarti H_0 ditolakSig. > 0.05 H_0 diterima**Hasil :****ANOVA**

DiameterHambat

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	77.745	3	25.915	199.193	.000
Within Groups	1.041	8	.130		
Total	78.786	11			

Kesimpulan : sig < 0,05 (H_0 ditolak) maka terdapat perbedaan persen diameter hambat antar kelompok perlakuan.

Uji Post Hoc (HSD)

Tujuan : untuk mengetahui pada kelompok mana terdapat perbedaan persen diameter hambat yang bermakna

Kriteria uji :Sig. < 0,05 berarti H_0 ditolakSig. > 0.05 H_0 diterima**Hasil :****Multiple Comparisons**

Dependent Variable: DiameterHambat

Tukey HSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
ekstrak 12,5%	fraksi n-heksan 12,5%	1.44667 [*]	.29451	.005	.5036	2.3898
	fraksi etil asetat 12,5%	-5.33333 [*]	.29451	.000	-6.2764	-4.3902
	fraksi air 12,5%	-.55333	.29451	.308	-1.4964	.3898
fraksi n-heksan 12,5%	ekstrak 12,5%	-1.44667 [*]	.29451	.005	-2.3898	-.5036
	fraksi etil asetat 12,5%	-6.78000 [*]	.29451	.000	-7.7231	-5.8369
	fraksi air 12,5%	-2.00000 [*]	.29451	.001	-2.9431	-1.0569
fraksi etil asetat 12,5%	ekstrak 12,5%	5.33333 [*]	.29451	.000	4.3902	6.2764
	fraksi n-heksan 12,5%	6.78000 [*]	.29451	.000	5.8369	7.7231
	fraksi air 12,5%	4.78000 [*]	.29451	.000	3.8369	5.7231

	ekstrak 12,5%	.55333	.29451	.308	-.3898	1.4964
fraksi air 12,5%	fraksi n-heksan 12,5%	2.00000*	.29451	.001	1.0569	2.9431
	fraksi etil asetat 12,5%	-4.78000*	.29451	.000	-5.7231	-3.8369

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

Homogeneous Subsets

DiameterHambat

Tukey HSD^a

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
fraksi n-heksan 12.5%	3	11.3333		
ekstrak 12,5%	3		12.7800	
fraksi air 12,5%	3		13.3333	
fraksi etil asetat 12,5%	3			18.1133
Sig.		1.000	.308	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Kesimpulan : Subset 1 sampai 3 konsentrasi 12,5% dari fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air dapat diketahui pada subset 2 tidak mempunyai perbedaan yang signifikan.