

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI AIR EKSTRAK  
ETANOL DAUN KAMBOJA (*Plumeria alba* L cv. Kuning)  
TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* DAN  
*Staphylococcus aureus***

**SKRIPSI**



oleh :

Gita Ulwiyatur Rizki

155010031

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS WAHID HASYIM  
SEMARANG  
Januari 2021**

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI AIR EKSTRAK  
ETANOL DAUN KAMBOJA (*Plumeria alba* L cv. Kuning)  
TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* DAN  
*Staphylococcus aureus***

**SKRIPSI**

**Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat  
dalam mencapai derajat Sarjana Farmasi  
Program Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi  
Universitas Wahid Hasyim**

**oleh :**

**Gita Ulwiyyatur Rizki**

**155010031**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS WAHID HASYIM  
SEMARANG  
Januari 2021**

## INTISARI

### AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI AIR EKSTRAK ETANOL DAUN KAMBOJA (*Plumeria alba* L cv. Kuning) TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* DAN *Staphylococcus aureus*

Berbagai macam tanaman dapat ditemui dan dimanfaatkan sebagai tanaman obat. Tanaman obat merupakan sumber utama ditemukannya senyawa kimia baru dengan efek terapeutik. Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai tanaman obat adalah tanaman kamboja (*Plumeria alba* L cv. Kuning). Tanaman kamboja merupakan tanaman tradisional yang dilaporkan memiliki khasiat antara lain daunnya sebagai pencahar, antigatal, antiinflamasi dan antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri fraksi air ekstrak etanol daun kamboja kuning (FAEEDKK) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

Daun kamboja kuning dimaserasi menggunakan etanol 70% hingga diperoleh ekstrak kental, dilanjutkan fraksinasi secara bertingkat menggunakan *n*-heksan, etil asetat dan air secara partisi cair-cair. FAEEDKK diuji aktivitas antibakteri dengan metode difusi agar dengan seri konsentrasi 10, 15, 20, 25 dan 30% terhadap kedua bakteri. Kontrol positif yang digunakan adalah kloramfenikol, sedangkan kontrol negatif menggunakan DMSO. Parameter uji aktivitas antibakteri yang diamati yaitu diameter daerah hambat (DDH) yang dianalisis secara statistik dengan taraf kepercayaan 95%.

Fraksi air ekstrak etanol daun kamboja kuning memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dengan rata-rata nilai DDH tiap konsentrasi secara berturut-turut sebesar (7,78; 7,98; 8,18; 8,35 dan 8,72) mm dan *Staphylococcus aureus* sebesar (8,38; 8,50; 8,87; 9,31 dan 9,53) mm. FAEEDKK terbukti mengandung senyawa golongan flavonoid dan fenolik.

Kata Kunci : Fraksi air ekstrak etanol daun kamboja kuning, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*.

## **ABSTRACT**

### **ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF CAMBODIA LEAF WATER FRACTION (*Plumeria alba L cv. Yellow*) Against *Escherichia coli* AND *Staphylococcus aureus***

Various kinds of plants can be found and used as medicinal plants. Medicinal plants are the main source for the discovery of new chemical compounds with therapeutic effects. One of the plants that can be used as a medicinal plant is the frangipani plant (*Plumeria alba L cv. Kuning*). Frangipani plant is a traditional plant that is reported to have properties, including its leaves as a laxative, anti-itch, anti-inflammatory and antibacterial. This study aims to determine the antibacterial activity of the water fraction of the ethanol extract of yellow frangipani leaves (FAEEDKK) against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*.

Fractionation of yellow frangipani leaves was macerated using 70% ethanol to obtain a thick extract, followed by fractionation in stages using n-hexane, ethyl acetate and water in partitions. FAEEDKK was tested for antibacterial activity by agar diffusion method with a concentration series of 10, 15, 20, 25 and 30% against both bacteria. The positive control used was chloramphenicol, while the negative control used DMSO. The antibacterial activity test parameter observed was the inhibition area diameter (DDH) which was analyzed statistically with a confidence level of 95%.

The water fraction of the ethanol extract of yellow frangipani leaves has antibacterial activity against *Escherichia coli* with an average DDH value for each concentration of (7.78; 7.98; 8.18; 8.35 and 8.72) mm and *Staphylococcus aureus* of (8.38; 8.50; 8.87; 9.31 and 9.53) mm. FAEEDK is proven to contain flavonoid and phenolic compounds.

**Keywords:** Water fraction of yellow frangipani leaves, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*.

## PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI AIR EKSTRAK  
ETANOL DAUN KAMBOJA KUNING (*Plumeria alba L* cv.  
Kuning) TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* DAN  
*Staphylococcus aureus***

oleh:  
Gita Ulwiatur Rizki  
155010031

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi  
Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim  
Pada tanggal: 26 Januari 2021

Pembimbing Utama,



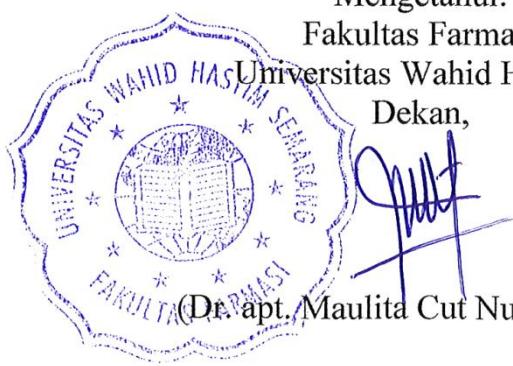
(apt. Aqnes Budiarti., M.Sc.)

Pembimbing Pendamping



( Erika Indah Safitri, M.Farm)

Mengetahui:  
Fakultas Farmasi  
Universitas Wahid Hasyim  
Dekan,



(Dr. apt. Maulita Cut Nuria, M.Sc.)

## **SURAT PERNYATAAN**

Saya yang bertandatangan di bawah ini :

Nama : Gita Ulwiyatur Rizki

NIM : 155010031

Judul Skripsi : Aktivitas Antibakteri Fraksi Air Ekstrak Etanol Daun Kamboja Kuning (*Plumeria alba* L cv. Kuning) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* Dan *Staphylococcus aureus*

Dengan ini menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan disuatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang secara tertulis digunakan sebagai acuan dalam naskah dan disebutkan dalam pustaka.

Demikian surat pernyataan ini saya buat untuk dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Semarang, 26 Januari 2021



Gita Ulwiyatur Rizki

## **PERSEMBAHAN**

*Selalu ada harapan bagi orang yang berdo'a,  
Dan selalu ada jalan bagi orang yang mau berusaha*

*Kupersembahkan untuk :*

*Kedua orang tua sebagai wujud hormat dan baktiku  
Almamater sebagai wujud terima kasih dan khidmahku*

## **KATA PENGANTAR**

Puji syukur senantiasa penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas segala rahmat serta hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi yang berjudul “Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kamboja (*Plumeria alba* L cv. Kuning) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* Dan *Staphylococcus aureus*”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam memperoleh derajat Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang. Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini, sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Ibu. Dr. apt. Maulita Cut Nuria, M.Sc, selaku Dekan Fakultas Farmasi dan dosen penguji yang telah memberikan dukungan, bantuan, serta masukan dalam penyusunan skripsi ini.
2. Ibu. apt. Aqnes Budiarti, M.Sc., selaku dosen pembimbing utama dan Ibu Erika Indah Safitri, M.Farm., selaku dosen pembimbing pendamping yang selalu memberikan bimbingan, bantuan, semangat, nasihat ilmu, waktu dan perhatian dalam persiapan penelitian hingga penyusunan skripsi ini.
3. Ibu apt. Risha Filah Fithria, M.Sc sebagai dosen penguji yang telah meluangkan waktu dan memberi masukan kepada penulis selama penyusunan skripsi ini.
4. Seluruh dosen, staf di Fakultas Farmasi dan juga staf Laboratorium Kimia analisis, laboratorium Farmakognosi dan Mikrobiologi, atas bantuannya selama penelitian dan juga selama menjadi mahasiswa.

5. Adekku Gilang Fajar Ifani, Gifna Patrica Syach, Moch. Riadun Maemunajib, dan yang tersayang Wahyu Saefullah yang sudah mendo'akan dan memberi semangat
6. Tim suksesku Dhia, Zabilla, Mbak Dina, Aul, Ummah, Nunuq, Ulfie dan Jihan yang telah meluangkan waktu, memberikan semangat, dan bantuan dalam menyelesaikan skripsi ini.
7. Sahabat terbaikku Nisa Triayu Ningsih yang telah memotivasi dan memberi semangat.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam skripsi ini. Oleh karena itu, segala kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan demi perbaikan di masa depan. Semoga penelitian ini dapat memberikan manfaat yang berarti bagi ilmu pengetahuan pada umumnya dan dunia farmasi pada khususnya.

Semarang, 26 Januari 2021



Gita Ulwiyatur Rizki

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
INTISARI .....	ii
ABSTRACT.....	iii
PENGESAHAN SKRIPSI .....	iv
SURAT PERNYATAAN .....	v
MOTTO DAN PERSEMBAHAN .....	vi
KATA PENGANTAR .....	vii
DAFTAR ISI .....	ix
DAFTAR TABEL .....	xi
DAFTAR GAMBAR .....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
BAB I. PENDAHULUAN .....	1
A. Latar Belakang Masalah .....	1
B. Perumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian.....	3
D. Manfaat Penelitian.....	3
E. Tinjauan Pustaka .....	4
1. Tanaman Kamboja Kuning ( <i>Plumeria alba</i> L cv. Kuning) .....	4
2. Bakteri <i>Escherichia Coli</i> .....	6
3. Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....	7
4. Uji Antibakteri.....	8
5. Antibiotik Kloramfenikol .....	9
6. Senyawa Flavonoid .....	10
7. Senyawa Fenolik .....	11
F.Landasan Teori .....	12
G.Hipotesis.....	14
BAB II. METODE PENELITIAN.....	15
A. Bahan dan Alat yang Digunakan.....	15
1. Bahan .....	15

2. Alat .....	15
B. Jalannya Penelitian .....	16
1. Determinasi Tanaman.....	16
2. Pengumpulan Bahan Daun Kamboja Kuning.....	16
3. Pembuatan Serbuk Simplisia Daun Kamboja Kuning.....	17
4. Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Kamboja Kuning .....	17
5. Pembuatan Fraksi Air Ekstrak Etanol Daun Kamboja Kuning ....	18
6. Identifikasi Senyawa Flavonoid dan Fenolik .....	19
7. Persiapan Uji Aktivitas Antibakteri FAEEDKK .....	19
8. Uji Aktivitas Antibakteri FAEEDKK.....	21
C. Analisis Data .....	23
<b>BAB III. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>24</b>
A. Determinasi Tanaman .....	24
B. Pembuatan Simplisia, Ekstrak dan Fraksi Air Daun Kamboja Kuning .....	24
C. Identifikasi Senyawa Flavonoid dan Fenolik FAEEDKK .....	26
D. Uji Aktivitas Antibakteri FAEEDKK .....	27
<b>BAB IV. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>33</b>
A. Kesimpulan.....	33
B. Saran .....	33
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>34</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>41</b>

## **DAFTAR TABEL**

Tabel I.	Hasil identifikasi senyawa flavonoid dan fenolik fraksi air ekstrak etanol daun kamboja kuning .....	26
Tabel II.	Hasil pengukuran DDH FAEEDKK terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Escherichia coli</i> .....	29

## **DAFTAR GAMBAR**

Gambar 1.	Daun kamboja ( <i>Plumeria alba</i> L cv. Kuning) .....	4
Gambar 2.	Tampilan mikroskop <i>Escherichia coli</i> .....	7
Gambar 3.	Tampilan mikroskop <i>Staphylococcus aureus</i> .....	8
Gambar 4.	Struktur kimia kloramfenikol.....	10
Gambar 5.	Struktur kimia dasar flavonoid.....	10
Gambar 6.	Struktur kimia senyawa flavon dan flavonol.....	11
Gambar 7.	Struktur dasar senyawa fenolik .....	12
Gambar 8.	Skema jalannya penelitian.....	22
Gambar 9.	Ekstrak etanol daun kamboja kuning (EEDKK) .....	25
Gambar 10.	Fraksi air ekstrak etanol daun kamboja kuning (FAEEDKK) ...	25
Gambar 11.	Hasil aktivitas antibakteri fraksi air daun kamboja kuning .....	28

## **DAFTAR LAMPIRAN**

Lampiran 1.	Hasil determinasi tanaman daun kamboja kuning .....	42
Lampiran 2.	Surat Keterangan Telah Melaksanakan Penelitian di Laboratorium Biologi Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang.....	43
Lampiran 3.	Surat Keterangan Telah Melaksanakan Penelitian di Laboratorium Kimia Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang .....	44
Lampiran 4.	Perhitungan simplisia, ekstrak dan fraksi air daun kamboja kuning .....	45
Lampiran 5.	Perhitungan larutan stok dan seri konsentrasi FAEEDKK....	46
Lampiran 6.	Perhitungan Diameter Daerah Hambat FAEEDKK.....	48
Lampiran 7.	Hasil Analisis statistika Nilai DDH dari Fraksi Air Daun Kamboja Kuning terhadap Bakteri <i>Escherichia coli</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i> .....	51
Lampiran 8.	Uji aktivitas antibakteri.....	67
Lampiran 9.	Dokumentasi penelitian .....	68

## **BAB I. PENDAHULUAN**

### **A. Latar Belakang**

Tanaman kamboja dengan variasi beragam banyak ditemukan di daerah Bali. Tanaman kamboja merupakan salah satu jenis tanaman yang biasanya dijadikan tanaman hias. Tanaman kamboja saat ini tidak saja berwarna putih dan kuning tetapi ada jenis persilangan baru berwarna merah muda, orange, merah, dan merah tua. Jenis tanaman kamboja diantaranya yaitu *Plumeria obtusa*, *Plumeria acuminata*, *Plumeria rubra*, *Plumeria alba*, *Plumeria lancifolea*, *Plumeria drastic* dan *Plumeria phagidenica*. *Plumeria alba* dapat menghambat bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus aureus*, dan *Streptococcus pyogenes* (Candra, dkk., 2020). Tanaman kamboja dengan warna bunga putih dan kuning termasuk dalam spesies *Plumeria alba*, sedangkan kamboja dengan warna bunga orange, merah muda, merah, dan merah tua termasuk dalam *Plumeria rubra* (Gilman dan Watson, 1994).

Tanaman kamboja mengandung senyawa agoniadin, plumerid, asam plumerat lipeol, dan asam serotianat (Dalimarta, 2003). Kamboja merupakan salah satu tanaman tradisional yang telah banyak dikenal dan digunakan secara luas. Daun kamboja secara empiris bisa digunakan sebagai anti inflamasi, antibakteri, dan antioksidan (Gupta, dkk., 2006). Daun kamboja mengandung senyawa golongan flavonoid dan fenolik, dan senyawa tersebut diketahui berpotensi sebagai antibakteri.

Bakteri *Escherichia coli* merupakan bakteri Gram negatif dan merupakan flora normal yang ditemukan dalam usus besar manusia. *Escherichia coli* dapat

menyebabkan diare dan infeksi saluran kemih (Radji, 2011). Sementara itu, bakteri *Staphylococcus aureus* dapat ditemukan pada permukaan kulit sebagai flora normal terutama di sekitar hidung, mulut, alat kelamin dan sekitar anus. Bakteri *Staphylococcus aureus* juga dapat menyebabkan penyakit meningitis, *endocarditis* dan infeksi paru (Radji, 2011).

Penelitian Widodo dkk. (2010) melaporkan bahwa ekstrak etanol daun kamboja putih (*Plumeria acuminate ait*) mengandung senyawa golongan alkaloid, saponin, flavonoid dan polifenol yang mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Penelitian Erikania dan Hariningsih (2014) melaporkan bahwa ekstrak etanol daun kamboja putih (*Plumeria sp*) mengandung senyawa golongan alkaloid, flavonoid, saponin dan ekstrak tersebut mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Penelitian Pasaribu dkk. (2013) melaporkan fraksi air daun kamboja putih mengandung senyawa golongan alkaloid, steroid dan fenolik serta mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

Sejauh ini belum ditemukan literatur yang melaporkan tentang uji aktivitas antibakteri fraksi air daun kamboja kuning. Oleh karena itu, peneliti tertarik melakukan penelitian ini yang bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri fraksi air ekstrak etanol daun kamboja kuning terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini dilakukan untuk eksplorasi atau pengembangan bahan alam dan membuktikan ada atau tidaknya aktivitas antibakteri pada daun kamboja terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

Daun kamboja kuning masih terbatas laporan penelitiannya, jenis kamboja lain seperti daun kamboja merah (*Plumeria rubra* L.) dalam bentuk ekstrak mengandung senyawa aktif triterpenoid, steroid, flavonoid dan polifenol (Budaya dkk., 2015).

## **B. Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang, rumusan masalah dalam penelitian ini adalah

1. Apakah fraksi air ekstrak etanol daun kamboja (*Plumeria alba* L. cv. Kuning) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*?
2. Apakah fraksi air ekstrak etanol daun kamboja mengandung senyawa golongan flavonoid dan fenolik?
3. Apakah ada perbedaan nilai DDH FAEEDKK dari berbagai seri konsentrasi terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*?

## **C. Tujuan Penelitian**

Tujuan penelitian sebagai berikut :

1. Mengetahui ada atau tidaknya aktivitas antibakteri fraksi air ekstrak etanol daun kamboja kuning (*Plumeria alba* L. cv. Kuning) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.
2. Melakukan skrining kandungan senyawa golongan flavonoid dan fenolik pada fraksi air ekstrak etanol daun kamboja kuning.
3. Mengetahui ada atau tidaknya perbedaan nilai DDH FAEEDKK dari berbagai seri konsentrasi terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

## **D. Manfaat Penelitian**

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah bahwa daun kamboja kuning (*Plumeria alba* L. cv. Kuning) memiliki aktivitas antibakteri secara *in vitro*, dan memberikan informasi kandungan senyawa flavonoid dan fenolik yang terdapat didalam fraksi air ekstrak etanol daun kamboja kuning.

## **E. Tinjauan Pustaka**

### **1. Tanaman Kamboja Kuning (*Plumeria alba* L. cv. Kuning)**

Tanaman kamboja kuning merupakan tanaman hias berbunga yang berasal dari Amerika Tengah dan Afrika. Tanaman ini mampu tumbuh dengan baik di dataran rendah sampai ketinggian 700 meter di atas permukaan laut. Tanaman kamboja kuning bisa beradaptasi diberbagai tempat, tidak mempunyai iklim tertentu, biasanya hidup tersebar dan tidak berkelompok dengan tanaman lainnya (Dalimartha, 2003).

Tanaman kamboja dapat bertahan hidup sampai ratusan tahun karena merupakan tanaman sekulen yang dapat menyimpan air pada seluruh bagian mulai dari akar, batang, daun dan bunganya. Tanaman kamboja ini tumbuh terutama di daerah Bali. Kamboja merupakan salah satu tanaman yang banyak dimanfaatkan untuk penghias halaman rumah, kantordan tempat-tempat lainnya. Bunga kamboja saat ini tidak saja berwarna putih dan kuning tetapi ada jenis persilangan baru berwarna merah muda, oranye dan merah. Tanaman kamboja dengan bunga warna putih dan kuning termasuk dalam genus *Plumeria alba* (Dalimartha, 2003). Daun Kamboja (*Plumeria alba* L. cv. Kuning) dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Daun Kamboja kuning (*Plumeria alba* L. cv. Kuning)

Klasifikasi tanaman daun kamboja menurut Gilman dan Watson (1994) sebagai berikut :

*Kingdom* : *Plantae*

*Divisio* : *Magnoliophyta*

*Classis* : *Magnoliopsi*

*SubClassis* : *Asteridae*

*Ordo* : *Gentianales*

*Famili* : *Apocynaceae*

*Genus* : *Plumeria*

*Spesies* : *Plumeria alba*L.

*Cultivare* : *Plumeria alba* L. cv. Kuning

*Vern. Name* : Daun Kamboja Kuning/nosegaytree

Tanaman kamboja kuning adalah jenis tanaman yang berpohon (perdu) dengan tinggi bisa mencapai 3-7 meter dan mengandung getah. Batang pokok tanaman kamboja besar, berkayu keras dan kuat, bercabang-cabang dan tumbuh membengkok. Struktur morfologi daun kamboja berbentuk daun tunggal, duduk

berkarang dan bergerombol diujung tangkai. Tangkai daunnya panjang dan helaiannya berbentuk lanset dengan panjang 20-60 cm, lebar 6-12,5cm. Daun kamboja memiliki ujung yang runcing, pangkalnya menyempit dengan tepi daun merata. Daun kamboja mempunyai pertulangan daun yang menyirip (Dalimarta, 2003).

Tanaman kamboja kuning mengandung senyawa agoniadin, plumierid, asam plumerat, lipeol dan asam serotinat. Akar dan daun kamboja kuning mengandung senyawa saponin, flavonoid, dan polifenol, serta daunnya juga mengandung alkaloid. Menurut penelitian Pasaribu dkk. (2013) Ekstrak etanol daun kamboja putih (*Plumeria acuminata ait*) sudah teridentifikasi mengandung senyawa alkaloid, steroid dan fenolik. Manfaat daun kamboja untuk obat tradisional bisa menyembuhkan beberapa macam penyakit seperti melancarkan pencernaan, mencegah penyakit kulit, bisul, tumit kaki pecah-pecah, bengkak, sakit gigi dan sebagai antibakteri alami (Ningsih dkk., 2014).

## 2. Bakteri *Escherichia coli*

Menurut Garrity (2004), klasifikasi *Escherichia coli* sebagai berikut :

<i>Kingdom</i>	: <i>Eubacteria</i>
<i>Divisi</i>	: <i>Gracilicutes</i>
<i>Class</i>	: <i>Gammaproteobacteria</i>
<i>Ordo</i>	: <i>Enterobacteriales</i>
<i>Famili</i>	: <i>Enterobacteriaceae</i>
<i>Genus</i>	: <i>Escherichia</i>
<i>Spesies</i>	: <i>Escherichia coli</i>

*Escherichia coli* merupakan bakteri gram negatif, berbentuk batang pendek lurus, tidak memiliki spora, bersifat anaerob fakultatif dan mudah tumbuh pada medium sederhana. Umumnya, bakteri ini menetap secara normal di lumen usus inang tetapi apabila daya pertahanan normal pada inang dalam keadaan lemah maka bakteri tersebut dapat menyebabkan infeksi. Penyakit yang dapat disebabkan oleh *Escherichia coli* adalah infeksi saluran kemih, diare dan sepsis (Pelczar, 2008). Tampilan mikroskopis *Escherichia coli* dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Tampilan mikroskopis *Escherichia coli* (Stevens, 2009)

### 3. Bakteri *Staphylococcus aureus*

Menurut Garrity (2004), klasifikasi *Staphylococcus aureus* sebagai berikut :

*Kingdom* : Prokaryote

*Divisi* : Bacteria

*Class* : Schizomytes

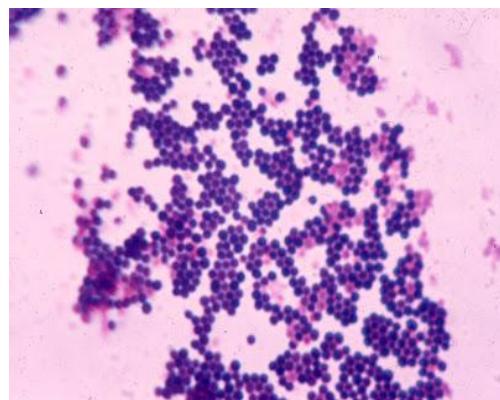
*Ordo* : Eubacteriales

*Famili* : Micrococcaceae

*Genus* : *Staphylococcus*

*Spesies* : *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif, biasanya tersusun dalam rangkaian tidak beraturan seperti buah anggur. Beberapa diantaranya tergolong flora normal pada kulit dan selaput mukosa manusia. Bakteri ini dapat menyebabkan abses, 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. *Staphylococcus aureus* tumbuh optimal pada suhu 37°C (Jawetz dkk., 1996). Tampilan mikroskopis bakteri *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 3. Tampilan mikroskopis *Staphylococcus aureus* (Jawetz dkk., 2005).

#### 4. Uji Aktivitas Antibakteri

Aktivitas antibakteri diukur secara *in vitro* untuk menentukan potensi agen antibakteri dalam larutan dan konsentrasinya dalam tubuh atau jaringan. Metode uji antibakteri dibagi menjadi dua, yaitu difusi dan dilusi. Metode difusi terbagi menjadi metode *disk* (cakram), sumuran dan parit. Sementara itu, metode dilusi dibagi menjadi *broth dilution* dan *agar dilution*. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode difusi cakram yang menggunakan medium padat.

Parameter yang diamati metode difusi agar berupa diameter daerah hambat yang ditandai adanya zona bening di sekitar *disk* (Jawetz dkk., 2005).

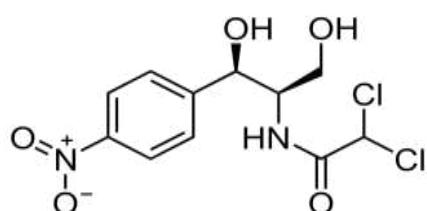
Prinsip uji metode dilusin adalah melarutkan senyawa antibakteri pada media agar atau kaldu kemudian ditanami bakteri uji untuk selanjutnya ditentukan konsentrasi terendah dari senyawa antibakteri yang dapat menghambat atau membunuh pertumbuhan bakteri (KHM/KBM) setelah dilakukan inkubasi semalam (Jawetz dkk., 2005).

Metode difusi yang paling luas digunakan dalam uji aktivitas antibakteri adalah difusi agar. Cakram kertas saring berisi sejumlah tertentu obat ditempatkan pada permukaan medium padat yang sebelumnya telah diinokulasi bakteri uji pada permukaannya. Setelah inkubasi, diameter zona hambatan sekitar cakram digunakan untuk mengukur kekuatan hambatan obat terhadap organisme uji. Metode difusi dipengaruhi banyak faktor fisik dan kimia, yaitu sifat medium, kemampuan difusi, ukuran molekul, stabilitas obat serta interaksi obat dan organisme. Meskipun demikian, standarisasi faktor-faktor tersebut memungkinkan melakukan uji kepekaan dengan baik (Jawetz dkk., 2005).

Prinsip uji metode difusi adalah menempatkan cakram kertas yang telah diberikan perlakuan senyawa antibakteri dengan konsentrasi tertentu pada media yang telah ditanami organisme yang akan diuji secara merata. Penentuan kepekaan atau aktivitas antibakteri dengan metode difusi dilakukan dengan mengukur diameter daya hambat yang ditandai adanya zona bening yang terbentuk di sekitar cakram. Semakin besar diameter daya hambat, maka semakin kecil nilai konsentrasi hambat minimum dari suatu senyawa (Soleha, 2015).

## 5. Antibiotik Kloramfenikol

Kloramfenikol merupakan antibiotik yang memiliki kemampuan menghambat bakteri melalui penghambatan sintesis protein suatu organisme. Obat ini berikatan dengan subunit 50s ribosom. Kloramfenikol menghambat ikatan asam amino baru pada rantai peptida yang memanjang dengan menghambat enzim *peptidil transferase*. Kloramfenikol bersifat bakteriostatik artinya kemampuan kerjanya hanya menghambat saja, tidak bisa mematikan bakteri tersebut. Mikroorganisme resisten terhadap kloramfenikol, menghasilkan enzim kloramfenikol asetiltransferase (*Chloramphenicol acetyltransferase*) yang merusak aktivitas obat. Produksi enzim ini biasanya di bawah kontrol plasmid (Radji, 2009). Struktur kimia kloramfenikol tercantum pada gambar 4 dengan rumus molekul  $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$ , Berat molekul sebesar 323,13 gram/mol, hablur halus berbentuk jarum atau lempeng memanjang, putih sampai kelabu atau putih kekuningan, tidak berbau dan rasa sangat pahit (Depkes RI., 1979).

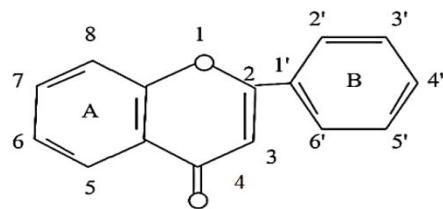


Gambar 4. Struktur kimia kloramfenikol (Depkes RI., 1979).

## 6. Senyawa Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu jenis komponen yang terkandung dalam tanaman, dan dapat ditemukan pada semua tanaman. Hampir semua bagian tanaman yaitu daun, akar, kayu, tepung sari, nektar, bunga, buah dan biji dapat mengandung flavonoid. Senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu dan biru

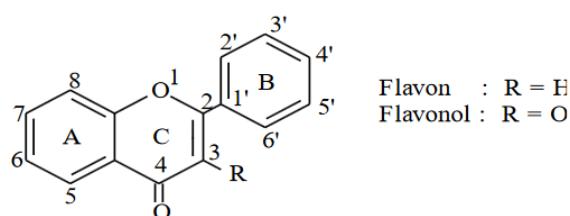
dan sebagai zat warna kuning yang ditemukan dalam tumbuh-tumbuhan (Markham, 1988).



Gambar 5. Struktur kimia dasar flavonoid (Markham, 1988)

Senyawa flavonoid ada yang berupa aglikon saja (Gambar 5) dan ada pula yang berbentuk glikosida (aglikon dan gula). Flavonoid aglikon dibagi dalam beberapa subgolongan seperti flavon, flavonol, isoflavon, katekin, flavanon, leukoantosianin, auron, kalkon, dan dihidroflavonol (Parwata, 2016).

Menurut Mursyidi (1990), senyawa flavonoid merupakan senyawa polar, karena mempunyai gugus hidroksi yang dapat berikatan dengan gula, maka umumnya larut dalam senyawa polar. Aglikon dari flavonoid yang kurang polar seperti isoflavon, flavonon, dan flavon yang cenderung larut dalam pelarut seperti etil asetat, eter dan klorofom. Flavon dan flavonol adalah jenis flavonoid yang sering ditemukan di alam, flavon mempunyai struktur dari 2-fenilbenzofiran-4-on, sedangkan flavonol dapat dianggap 3-hidroksiflavon. Struktur dasar kedua senyawa dapat dilihat pada Gambar 6.

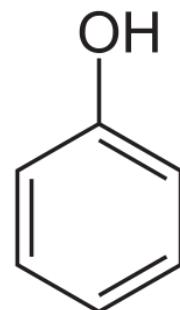


Gambar 6. Struktur kimia senyawa flavon dan flavonol (Parwata, 2016)

Flavon memiliki gugus benzopiranon yang dapat bereaksi dengan asam mineral menghasilkan garam benzopirilium yang berwarna atau disebut garam flavilium (Parwata, 2016).

## 7. Senyawa Fenolik

Senyawa fenolik adalah senyawa yang memiliki satu atau lebih gugus hidroksil yang menempel di cincin aromatik. Beberapa senyawa yang termasuk dalam kelompok fenolik adalah fenol, saponin, tannin, dan flavonoid. Senyawa tersebut biasanya berada dalam bentuk glikosida atau ester pada tanaman. Senyawa fenolik berperan sebagai antibakteri dengan merusak lipid pada membran plasma mikroorganisme sebagai isi sel bakteri keluar (Pratiwi, 2008).



Gambar 7. Struktur dasar senyawa fenolik (Proestos dan Kokaitis, 2006)

Ciri-ciri senyawa fenolik diantaranya cenderung mudah larut dalam pelarut polar, bila murni tak berwarna, jika terkena udara akan teroksidasi menimbulkan warna gelap, membentuk komplek dengan protein, sangat peka terhadap oksidasi enzim, mudah teroksidasi oleh basa kuat, dan menyerap sinar UV-Vis (Julianto, 2018).

## **F. Landasan Teori**

Tanaman kamboja kuning (*Plumeria alba* L. cv. Kuning) merupakan hasil persilangan kamboja putih dan kuning dengan taksonomi kultivar kuning yang termasuk *Plumeria alba*. Ekstrak etanol daun kamboja putih (*Plumeria acuminate ait*) mengandung alkaloid, saponin, flavonoid dan polifenol dan ekstrak tersebut mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* (Widodo, dkk.,2010). Fraksi air daun kamboja putih (*Plumeria acuminate ait*) mampu menghambat bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dan fraksi tersebut mengandung senyawa golongan alkaloid, dan fenolik (Pasaribu, dkk.,2013)

Ekstrak etanol daun kamboja putih (*Plumeria sp*) yang mengandung senyawa alkaloid, flavonoid dan saponin serta mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* (Erikania dan Hariningsih, 2014).

Penelitian lainnya melaporkan ekstrak etanol daun kamboja merah (*Plumeria rubra* L) dan ekstrak etanol daun kamboja putih (*Plumeria lancifolia* L) mengandung senyawa triterpenoid, steroid, flavonoid, dan polifenol (Budaya, dkk.,2015)

Dari beberapa pustaka tersebut, kandungan kimia ekstrak daun kamboja putih memiliki kemiripan kandungan kimia. Tanaman kamboja putih dan kamboja kuning merupakan genus *plumeria* sehingga dimungkinkan kandungan daun kamboja kuning dan putih memiliki kesamaan diantaranya senyawa golongan fenolik dan flavonoid. Kedua senyawa tersebut bersifat polar sehingga bisa tersari dalam pelarut.

## **G. Hipotesis**

Berdasarkan landasan teori tersebut dapat disusun hipotesis sebagai berikut :

1. Fraksi air ekstrak etanol daun kamboja kuning (*Plumeria alba* L. cv. Kuning) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.
2. Fraksi air daun kamboja kuning mengandung senyawa golongan flavonoid dan fenolik.
3. Fraksi air ekstrak etanol daun kamboja kuning tidak ada perbedaan nilai DDH dari berbagai konsentrasi terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

## **BAB II. METODE PENELITIAN**

### **A. Bahan dan Alat yang Digunakan**

#### **1. Bahan Penelitian**

Bahan yang digunakan pada penelitian antara lain :

- a. Bahan tanaman yang digunakan adalah daun kamboja kuning. (*Plumeria alba L. cv. Kuning*).
- b. Bahan ekstraksi dan fraksinasi yaitu pelarut etanol 70% (teknis), *n*-heksan (teknis), etil asetat (teknis) dan aquades.
- c. Bahan yang digunakan untuk uji fitokimia yaitu fraksi air ekstrak etanol daun kamboja kuning, serbuk Mg, HCl pekat, dan amil alkohol, sedangkan bahan untuk uji fenolik adalah  $\text{FeCl}_3$  5%.
- d. Bahan uji aktivitas antibakteri antara lain media *Nutrien Broth* (NB), *Nutrien Agar* (NA), suspensi larutan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, larutan *McFarland I*, *Dimetil Sulfoksida* (DMSO), dan cakram kloramfenikol 30  $\mu\text{g}/\text{mL}$ .

#### **2. Alat Penelitian**

Alat-alat yang digunakan penelitian antara lain :

- a. Alat pembuatan simplisia adalah lemari pengering (Memmert), mesin penyerbuk, moisture balances (Ohaus).
- b. Alat untuk ekstraksi dan fraksinasi adalah seperangkat alat maserasi, penguap vakum putar (Heidolph), vacum pump, corong Buchner (Pyrex), corong pisah, alat-alat gelas (Pyrex), timbangan analitik (Ohaus).
- c. Alat yang digunakan uji fitokimia uji flavonoid dan fenolik adalah alat-alat

gelas, corong pisah dan kompor.

- d. Alat yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri adalah alat-alat gelas (Pyrex), autoclave (All American), Laminar Air Flow (Airtech), inkubator (Binder), mikropipet 5-10  $\mu$ l (Socorex), mikropipet 100-1000  $\mu$ l (Socorex), blue tip, autoclave tape, yellow tip, ose bulat, pinset, dan jangka sorong (Mitutoyo).

## B. Jalannya Penelitian

### 1. Determinasi Tanaman

Daun kamboja kuning dilakukan determinasi yang bertujuan untuk membuktikan bahwa tanaman yang digunakan memang benar-benar tanaman kamboja kuning, sehingga kesalahan pengumpulan bahan penelitian dapat dihindari. Determinasi terhadap tanaman daun kamboja kuning dilakukan di laboratorium Ekologi dan Biosistematika Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang. Proses determinasi dilakukan dengan mengamati ciri-ciri tanaman kamboja kuning dengan mencocokkan kunci determinan pada buku standar Flora of Java Vol 1-III (Backer dan Brink, 1986).

### 2. Pengumpulan Bahan Daun Kamboja Kuning

Tanaman kamboja kuning yang memiliki bunga berwarna putih kuning diperoleh dari tempat pemakaman umum Kedungpane, Ngaliyan, Kota Semarang, Jawa Tengah. Ciri-ciri daun kamboja kuning yang sesuai dengan syarat penelitian yaitu warna daun yang masih hijau muda, tidak rusak, tidak memiliki bercak, dan daun utuh (Depkes RI, 1986).

### **3. Pembuatan Serbuk Simplisia Daun Kamboja Kuning**

Daun kamboja kuning yang sudah dipanen sebanyak 38,795 kg kemudian disortasi basah dan diperoleh daun kamboja kuning sebanyak 29,18 kg. Daun dicuci dan dibilas dengan air bersih yang mengalir untuk menghilangkan pengotor yang menempel. Daun diangin-anginkan untuk menghilangkan air yang masih menempel pada daun. Daun kamboja kuning dikeringkan pada suhu 50°C sampai kering dalam lemari pengering. Simplisia daun disortasi kering dan diserbuk sampai halus dengan mesin penyerbuk yang sudah dilengkapi dengan ayakan ukuran 40 mesh dan diukur kadar airnya dengan alat *moisture balance* dengan syarat kadar air tidak boleh lebih dari 10%. Serbuk simplisia yang diperoleh sebanyak 5,34 kg disimpan dalam wadah kedap udara dengan silika gel yang sudah aktif di dalamnya (Depkes RI, 1986).

### **4. Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Kamboja Kuning (EEDK)**

Serbuk simplisia daun kamboja kuning diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan perbandingan antara serbuk dan pelarut yaitu 1:10. Serbuk sebanyak 1.000 gram dalam pelarut etanol 70% sebanyak 10.000 mL, jumlah pelarut yang digunakan untuk maserasi selama 3 hari sebanyak 7.500mL. dan remaserasi selama 2 hari sebanyak 2.500 mL dari total jumlah pelarut etanol 70%. Pembuatan ekstrak daun kamboja kuning dilakukan sebanyak 3 kali dengan masing-masing berat serbuk simplisia sebanyak 1.000 gram. Maserat dari masing-masing tahapan dicampurkan dalam satu wadah kemudiandipekatkan menggunakan penguap vakum putardengan suhu 50°C dengan kecepatan 60 rpm

hingga diperoleh masa ekstrak kental dan kemudian dihitung rendemen ekstraknya menggunakan rumus berikut (Depkes RI, 2000) :

$$Rendemen (\%) = \frac{\text{Bobot ekstrak kental yg diperoleh (g)}}{\text{Bobot serbuk simplisia (g)}} \times 100\%$$

## 5. Pembuatan Fraksi Air Ekstrak Etanol Daun Kamboja Kuning

Proses fraksinasi dilakukan dengan menggunakan corong pisah, ekstrak kental daun kamboja yang digunakan sebanyak 240 gram. Ekstrak kental sebanyak 10 gram dilarutkan dalam 100 mL aquades. masukkan dalam corong pisah dan ditambahkan pelarut *n*-heksan 100 mL campuran larutan digojog satu arah secara pelan-pelan kemudian didiamkan sejenak hingga terbentuk dua lapisan karena adanya perbedaan berat jenis dan polaritas. Fase air berada di bagian bawah karena memiliki berat jenis yang lebih besar daripada *n*-heksan. Proses ini dihentikan ketika fase *n*-heksan menjadi jernih. Lapisan air ditambahkan etil asetat 100 mL untuk memisahkan senyawa semi polar hingga fase etil asetat jernih. Lapisan bawah (air) diambil sebagai fraksi air kemudian dipekatkan dengan penguap vakum putarpada suhu 50°C dengan kecepatan 60 rpm. Fraksi kental yang diperoleh dimasukkan dalam botol kaca yang terlapisi aluminium foil untuk mencegah paparan sinar secara langsung dan disimpan dalam desikator yang sudah berisi silika gel aktif (Depkes RI, 1985)

## 6. Identifikasi Senyawa Flavonoid dan Fenolik

### a. Uji Flavonoid

Fraksi air ekstrak etanol daun kamboja kuning ditimbang sebanyak 0,1 gram dimasukan kedalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 10 ml aquades dipanaskan sampai mendidih selama 5 menit. Filtrat dibagi 2 bagian yakni A dan

B. Filtrat A sebagai blangko, filtrat B ditambahkan serbuk Mg dan 1 mL HCl pekat dan 1 mL amil alkohol. Uji flavonoid dikatakan positif dapat ditandai dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga (Harborne, 1987).

b. Uji Fenolik

Uji fenolik fraksi air ekstrak etanol daun kamboja kuning ditimbang sebanyak 0,1 gram dan dilarutkan dalam 10 mL akuades diaduk hingga larut, filtrat dibagi 2 bagian yakni A dan B. Filtrat A digunakan sebagai blangko, sedangkan filtrat B ditambahkan 3 tetes pereaksi  $\text{FeCl}_3$  5 %. Hasil positif fenolik jika terbentuk warna hitam, hijau atau hijau kebiruan (Harborne, 1987).

## 7. Persiapan Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Air Daun Kamboja Kuning

a. Sterilisasi alat

Alat gelas yang akan digunakan dicuci bersih dan ditiriskan kemudian dibungkus dengan kertas payung kemudian dibungkus dengan metode amplop dan indikator *autoclavetape* ditempelkan pada alat gelas tersebut. Setelah itu alat-alat yang telah dibungkus dimasukkan ke dalam *autoclave* dengan pengaturan suhu 121°C selama 15 menit (Fitri dkk., 2014).

b. Pembuatan Media Uji

Media *Nutrient Agar* (NA) ditimbang seberat 20 gram dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer, ditambahkan dengan 1000 mL akuades, lalu dipanaskan di atas kompor hingga mendidih sambil diaduk sampai homogen. Media disterilkan dengan autoklaf suhu 121°C selama 15 menit, lalu ditunggu hingga suhu hangat. Media NA yang sudah hangat dituangkan sekitar 25 mL ke dalam cawan petri steril, kemudian didiamkan sampai memadat. Media *Nutrient Broth* (NB) dibuat

dengan cara melarutkan 8 gram serbuk NB dalam 1000 mL akuades, lalu dipanaskan hingga mendidih, media disterilkan dengan autoklaf suhu 121°C selama 15 menit. Setelah agak dingin media tersebut disimpan dalam lemari pendingin hingga waktunya digunakan (Dwidjoseputro, 2005).

**c. Peremajaan Bakteri**

Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* diinokulasikan ke media NA dengan cara mengambil masing-masing sebanyak 1 jarum ose secara aseptis lalu digoreskan pada media tersebut. Selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C (Dwidjoseputro, 2005).

**d. Pembuatan Larutan 0,5 Mc. Farland I**

Asam sulfat sebanyak 99,5 mL dan BaCl<sub>2</sub> sebanyak 0,5 mL kemudian dimasukan kedalam tabung reaksi dan dikocok homogen. Apabila kekeruhan suspensi bakteri uji sama dengan kekeruhan suspensi standar 0,5 Mc. Farland I maka konsentrasi bakteri uji adalah 10<sup>8</sup> CFU/ml (Sutton, 2011).

**e. Pembuatan Suspensi Bakteri**

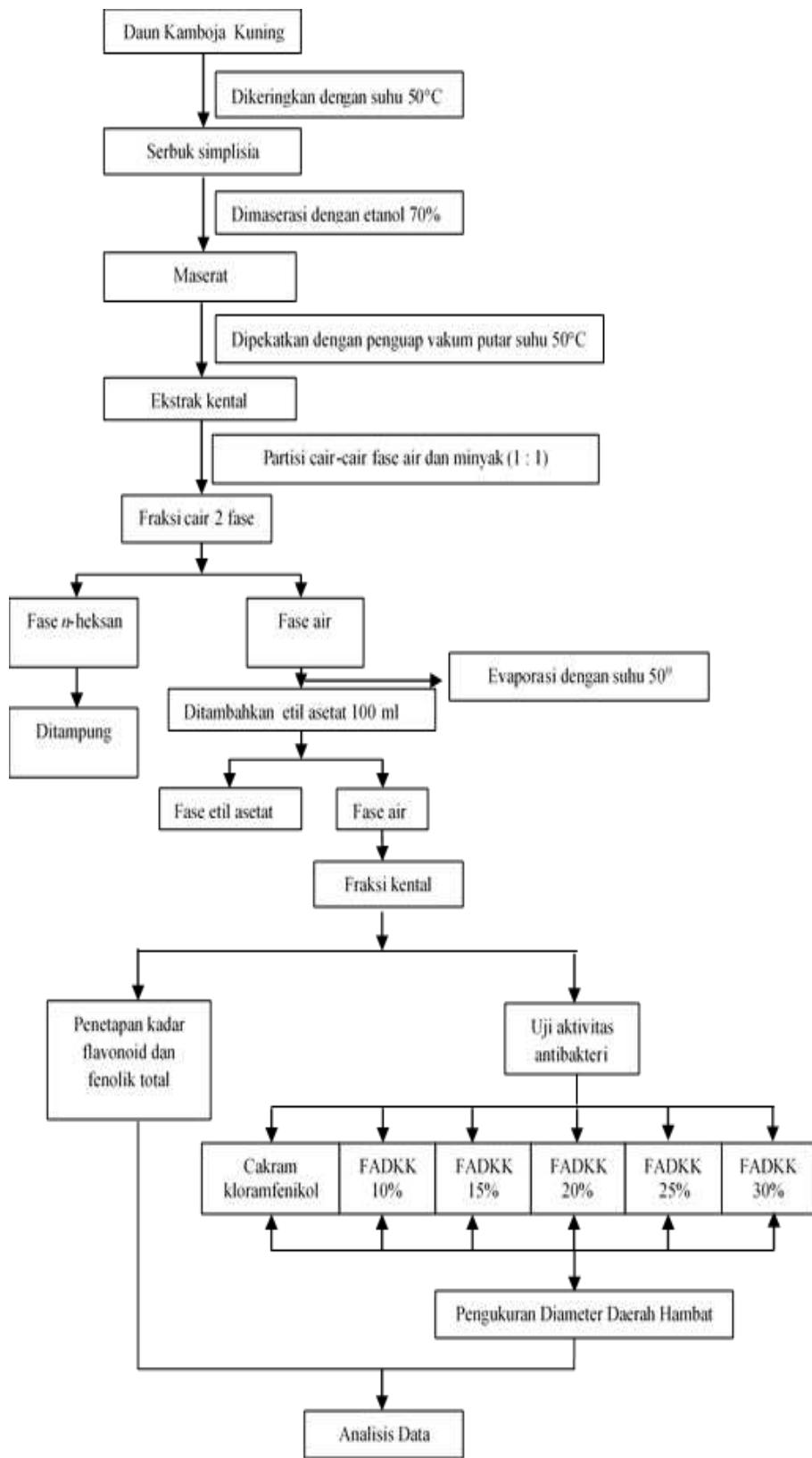
Biakan *Staphylococcus aureus* dalam media agar diambil secara aseptik sebanyak 1 ose, dimasukkan dalam 10 mL media NB dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Suspensi bakteri tersebut kemudian diencerkan menggunakan NaCl 0,9% steril hingga kekeruhannya sama dengan larutan standar 0,5 Mc. Farland I ( $1 \times 10^8$  CFU/ml). Pembuatan suspensi bakteri *Escherichia coli* dilakukan dengan cara yang sama dengan *Staphylococcus aureus* (Oonmetta-aree dkk., 2005).

#### **f. Pembuatan Larutan Uji**

Larutan stok fraksi air ekstrak etanol daun kamboja kuning konsentrasi 30% dibuat dengan menimbang 1,5 gram dilarutkan ke dalam DMSO 100% ad 5 mL. Larutan stok fraksi air tersebut dibuat seri konsentrasi 10%, 15%, 20%, dan 25% b/v. Perhitungan pengenceran konsentrasi dapat dilihat pada lampiran 3.

#### **8. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Air Daun Kamboja Kuning**

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi agar menggunakan kertas cakram dengan bakteri uji *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Suspensi bakteri *Escherichia coli* sebanyak 2,5 mL dicampurkan ke dalam 22,5 mL media NA digojog perlahan agar bakteri bercampur merata dengan media NA, kemudian dituang ke dalam cawan petri dan ditunggu hingga media memadat. Larutan uji FAEEDKK dan kontrol negatif (DMSO 100%) diteteskan sebanyak 10  $\mu$ L pada masing-masing kertas cakram dalam petri kosong steril kemudian didiamkan selama 10 menit untuk memberi kesempatan larutan uji menyebar secara merata pada kertas cakram. Kertas cakram yang berisi larutan uji berbagai konsentrasi, kontrol positif (cakram kloramfenikol 30  $\mu$ g/disk), kontrol negatif (DMSO 100%) ditempelkan pada permukaan media yang sudah dicampurkan dengan suspensi bakteri. Pengujian FAEEDKK terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dilakukan sama seperti bakteri *Escherichia coli*, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Doss dkk,2011). Skema jalannya penelitian tersaji pada Gambar 8.



Gambar 8. Skema jalannya penelitian.

### C. Analisis Data

Data diameter daerah hambat (DDH) fraksi air ekstrak etanol daun kamboja kuning bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* diuji normalitasnya dengan uji *Shapiro Wilk* dan homogenitas variannya menggunakan uji *Levene's test*. Nilai DDH dari FAEEDKK terhadap *Eschericia coli* menunjukkan hasil data tidak normal dan tidak homogen ( $p<0,05$ ), sedangkan nilai DDH dari FAEEDKK terhadap *Staphylococcus aureus* menunjukkan hasil data normal ( $p>0,05$ ) dan tidak homogen ( $p<0,05$ ), selanjutnya kedua bakteri dilakukan pengujian non parametrik menggunakan uji *Kruskall Wallis* ( $p<0,05$ ) dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney* dengan taraf kepercayaan 95%. Fraksi air ekstrak etanol daun kamboja kuning mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* apabila nilai DDH lebih besar secara signifikan dibanding kontrol negatif pada kedua masing-masing bakteri dan Fraksi air ekstrak etanol daun kamboja kuning tidak ada perbedaan nilai DDH dari berbagai konsentrasi terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aures*.

Fraksi air dikatakan mengandung flavonoid jika menunjukkan perubahan warna dari coklat menjadi merah jingga pada lapisan amil alkohol dan mengandung fenolik menunjukan perubahan warna dari coklat menjadi kehitaman.



**HALAMANINI TIDAK TERSEDIA**

**BAB III**

**DAPAT DIAKSES MELALUI**

**UPT PERPUSTAKAAN UNWAHAS**

## **BAB IV. KESIMPULAN DAN SARAN**

### **A. Kesimpulan**

1. Fraksi air ekstrak etanol daun kamboja kuning memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.
2. Fraksi air ekstrak etanol daun kamboja kuning mengandung senyawa flavonoid dan fenolik
3. Fraksi air ekstrak etanol daun kamboja kuning tidak ada perbedaan nilai DDH dari berbagai konsentrasi terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

### **B. Saran**

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang aktivitas antibakteri FAEEDKK dengan metode dilusi cair untuk menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM).

## DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, A.R. Sakinah, Wisdawati, Waode Asrifa. (2014). *Study of Antibacterial activity and determination of Phenol and Flavonoid content of Pepino's Leaf extract (Solanum muricatum Aiton)* Fakultas Farmasi Universitas Muslim Indonesia, Makasar, 87.
- Backer dan Brink, V.D., 1986, *Flora Of Java*, Wolters, Noordhoff NV, Groningen, III, 191-197.
- Budaya, Antari ,P.Y., Astiti, Ni P.A., dan Kriswiyanti, E., 2015, Kandungan Fitokimia Ekstrak Daun Kamboja (*Plumeria* sp.) dan Pengaruhnya Terhadap Pertumbuhan Tanaman Jahe Emprit (*Zingiber officinale var. Amarum*), *Jurnal Biologi* 19(1) : 44-49.
- Banjara, R.A., Jadhav, S.K., dan Bhoite, S.A., 2012, Antibacterial activity of di-2-ethylaniline phosphate screen by paper disc diffusion method, *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2(7), 230-3.
- Barnes, J., 2005, *Herba Medicine*, Pharmaceutical Press, London, 406.
- Bawa, I.G.A.G. 2011, Aktifitas Antibakteri Dan Antijamur Senyawa Atsiri Bunga kamboja Putih (*Plumeria acuminata*), Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana Bukit Jimbaran, Vol 5(1), 43-50.
- Brock, T.D., et al, 1988, *Biology of Microorganisms*, 6<sup>th</sup> Edition, Prentice Hall, Englewood Cliffs, New Jersey, 67.
- Brooks, GF, Butel, JS dan Morse, SA, 2007, *Mikrobiologi Kedokteran*, Edisi 23 EGC, Jakarta, 141.
- Budaya, P.Y.A., Astiti, N.P.A., dan Kriswiyanti, E., 2015, Kandungan Fitokimia Ekstrak Daun Kamboja (*Plumeria* sp.) Dan Pengaruhnya Terhadap Pertumbuhan Tanaman Jahe Emprit (*Zingiber officinale var. Amarum*), *Jurnal Biologi*, 19 (1) , 44-49.
- Candra, Krishna Purnawan, Wijayanti K.W., Anton R., Miftakhur R., dan Yuliani, 2020, Study of White Frangipani Flower and Bitter Grape Stem Ethanol Extract Combination on Antibacterial and Antioxidant Activities, *Jurnal Natural*, 20 (3), 74.
- Champoux, J.J., W.L. Drew, F.C. Neidhardt & J.J. Plorde. 2004. *Sherris medical microbiology*. 4th Ed. Mc. Graw Hill, USA, 151.

- Chandra, Vinay D, Abhimanyu KJ, Kumar S, 2011, Detection of antimicrobial activity of Oscimum and Trigonella foenum graecum againt some selected and fungsional Strain, Research *Journal of pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 2 (4), 809.
- Dalimartha, S., 2003, *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia, jilid 3*, Puspa Swara, Jakarta. 127.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1985, *Cara Pembuatan Simplisia*, Jakarta, Ditjen POM, 28-37.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1986, *Sediaan Galenik dan Uji Klinik Obat Tradisional*, Katalog dalam terbitan Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 5-7, 16-21.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1979, *Farmakope Indonesia*, Edisi III, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 151-152, 673.
- Departemen Kesehatan RI, 1995, *Farmakope Indonesia*, Edisi IV, Jakarta. 17-18.
- Departemen Kesehatan RI, 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Dikjen POM, Direktorat Pengawasan Obat Tradisional, Jakarta 5-12
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2009, *Farmakope Herbal Indonesia Edisi I*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 162-163.
- Dhuha, S., Widdhi B., dan Novel, K., 2016, Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Lamun (*Syringodium isoetifolium*) Terhadap bakteri *Pseudomonas Aeruginosa* *Jurnal Ilmiah Farmasi*, Program Studi Farmasi Fakultas MIPA UNSRAT Manado, 5(1), 2302-2493.
- Doss, A., Parivuguna, V., Vijayasanthi, M., dan Surendran, S., 2011, Antibacterial Evaluation Phytochemical Analysis of *Medicago sativa* L. Against Some Microbial Pathogens, *Indian Journal of Science and Technology*, 4(5), 551.
- Dwidjoseputro, 2005, *Dasar-Dasar Mikrobiologi*, Djambatan, Malang, 118-142.
- Erikania, S., dan Hariningsih, Y., 2014, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kamboja (*Plumeria* sp) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* Secara In Vitro, *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 80-83.
- Ergina., Nuryanti, S., dan Puspitasari, I. D., 2014, Uji Kualitas Senyawa Metabolit Sekunder Pada Daun Palado (*Agave angustifolia*) Yang Diekstraksi Dengan Pelarut Air Dan Etanol, *J. Akad. Kim*, 3(3), 169.

- Febriyanti, M., Sanjaya, B.W., Supriyatna, Diantini, A., Subarnas, A., 2013, Aktivitas Antioksidan dan Ekstrak etanol dan Fraksi-fraksi Daun Ekor Kucing (*Acalypha hipsida Brum*, F) Dengan Metode Penghambatan Reduksi Water Aoulble Tetrazolium Salt-1 (WST-1), *Fitofarmaka*, 2, 2087-9164
- Garrity, G.M., Bell, J.A., and Lilburn, T.G., 2004, *Taxonomic Outline Of The Prakaryotes Bergey's Manual Of Sistematic Bacteriology*, Edisi dua, Spinger, New York Berlin Hendelberg, 88-95.
- Gaylord Chemical Company, 2007, *Dimethyl Sulfoxide (DMSO) Health and Safety Information*, Amerika Serikat, 7.
- Gilman, E.F.D.G., dan Watson, 1994, *Plumeria alba White Frangipani and Plumeria rubra Frangipani*, Fact Sheet ST 490-491, Environmental Horticulture Departemen, *Florida Co Operative Extension Service*, Institute of Agricultural Sciences, University of Florida, 490-491.
- Gunawan, P., Dwi, N., Aprilia, M., 2010, Aktivitas Antibakteri dan Penyembuhan Luka Fraksi Ekstrak Etanol Daun Kamboja (*Plumeria acuminate*) Pada Kulit Kelinci yang Diinjeksikan *Staphylococcus aureus*, *Jurnal Farmasi Indonesia*, Hal 73-77.
- Gupta, M, Mazumder U.K,Gomathi P, and Selvan V.T., 2006, Antiinflammatory evaluation of leaves of *Plumeria acuminata*, *BMC Complem. and Alter, Med.*, 6, 36-42.
- Hapsari, I.P., 2018, Uji Fitokimia Dan Uji Aktivitas antibakteri minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) terhadap pertumbuhan *Propionibacterium acnes* ATCC 11827 Secara *In Vitro*, Skripsi, Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta, 56.
- Harborne, J.B., 1987, *Phytochemical Methods*, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro, Edisi II, Penerbit ITB, Bandung, 2-28, 34-37, 47-48, 69-103.
- Harborne, J.B., 1996, *Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Terbitan II, ITB, Bandung 6-15, 25-38.
- Harliana, A., 2006, *Tumbuhan Obat Dan Khasiatnya*, Cetakan 1, Penebar Swadaya, Jakarta, 141.
- Heyne, K., 1987, *Tanaman Berguna Indonesia*, Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan, Departemen Kehutanan, Jakarta 41-46.

Himedia, 2019, BHI Agar (Special Infusion Agar), *Himedia Laboratories*, No M211, 96-98.

Ikalinus, R., Widayastuti, S. K., dan Setiasih, N. L. E., 2015, Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera*), *Indonesia Medicus Veterinus*, 4(1), 76.

Jawetz, E., J. L. Melnick, E. A. Adelbergs, G. F. Brooks, J. S. Butel, L. N. Ornston 1995, *Mikrobiologi kedokteran*, Ed. 20, University of California, San Francisco, 84, 211-212, 357-258.

Jawetz E., Melnick J.L, dan Adelberg E.A., 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*, diterjemahkan oleh Edi Nugroho dan RF Maulany, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, 1, 35, 229, 235, 237

Jawetz, E., J. L. Melnick, E. A., Adelbergs, 2001, *Mikrobiologi Kedokteran* diterjemahkan oleh Bagian Mikrobiologi Kedokteran Universitas Airlangga, Edisi I, Penerbit Salemba Medika, Surabaya, 211-249

Jawetz E., Melnick GE., Adelberg CA. 2011. *Mikrobiologi Kedokteran*, diterjemahkan oleh Bagian Mikrobiologi Kedokteran Universitas Airlangga, Edisi I, Penerbit Salemba Medika, Surabaya, 211-249.

Kristiani, A.N., N.S. Aminah., Tanjung, M., dan Kurniadi, B., 2008, *Buku Ajar Fitokimia*, Jurusan Kimia, Laboratorium Kimia Organik FMIPA, Universitas Airlangga, Surabaya, 4.

Markham, K. R., 1988, *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*, Institute Teknologi Bandung, Bandung, 5-6.

Ningsih, R., Zusfahair, dan Purwati., 2014, Potensi Ekstrak Daun Kamboja (*Plumeria alba* L.) Sebagai Antibakteri dan Identifikasi Golongan Senyawa Bioaktifnya, *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 02, 101-109.

Oonmetta-aree, J., Suzuki, T., Gasaluck, P., Eumkeb, G. 2005, Antimicrobial properties and action of galangal (*Alpinia galanga* Linn.) on *Staphylococcus aureus*. ELSEVIER. 1214-1220 pp.

Oktalia, 2009, *Kapita Selekta Dispending I*, UGM Press, Yogyakarta, 27.

Parwata, I. M. O. A., 2016, *Flavonoid*, Buku Ajar Kimia Organik Bahan Alam, Jurusan Kimia, Universitas Udayana, Denpasar, 2-29.

Parija, 2009, *Textbook of Microbiology & Immunology*, Elsevier, India, 23.

- Pasaribu, S.P., Wahidatul, N., dan Erwin, 2013, Uji Toksisitas Dan Aktivitas Antibakteri berbagai Fraksi Ekstrak Daun Tanaman Kamboja (*Plumeria acuminata ait*). *Jurnal Kimia Mulawarman*, 10 (2), 1693-5616.
- Pelczar, M.J., dan Chan, E.C.S., 1988, *Dasar-Dasar Mikrobiologi*, UI Press, Jakarta, 997.
- Pelczar, M.J., and Chan, E.C.S., 2008, *Dasar-Dasar Mikrobiologi*, diterjemahan oleh Hadioetomo, Ratna Sari, UniversitasIndonesia, Jakarta, 140-145.
- Pratiwi, S.T., 2008, *Mikrobiologi Farmasi*, Erlangga, Yogyakarta, 18-20.
- Proestos, C., dan Kokaitis, M., 2006, Ultrasonically Assisted Extraction Of Phenolic Compounds From Aromatic Plants : Comparison With Conventional Extraction Techniques, *Jurnal Food Quality*, 29 (5), 567-580.
- Prihardini, dan Kristianingsih, I., 2016, Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri dan Ekstrak Etanol Bunga Kamboja Putih (*Plumeria acuminata L.*) Terhadap *Escherichia coli*, *Jurnal Ilmiah Farmasi*, Fakultas Farmasi Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata Kediri, Jawa Timur, 219.
- Putra, A.H., Corvianindya, Y., dan Wahyukundari, M.A, 2017, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kambija Putih (*Plumeria acuminate*) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*, *e-Jurnal Pustaka Kesehatan*, vol 5, no 5. 26-32.
- Putri, H.D., Sumpono., dan Nurhamidah., 2018, Uji Aktivitas Asap Cair Cangkang Buah Karet (*Hevea brasiliensis*) Dan Aplikasinya Dalam Penghambatan Ketengikan Daging Sapi, *Jurnal Pendidikan Dan Ilmu Kimia*, 2(2): 97-105.
- Radji, M., 2011, *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, 50-51.
- Rifai, M.A., 1976, *Sendi-Sendi Botani Sistemik*, Lembaga Biologi Nasional LIPI, Bogor, 263-264.
- Robinson, T., 1995, *Kandungan Kimia Organik Tumbuhan Tinggi*, ITB, Bandung, 57-59, 221-225.
- Rupiniasih, N.N., Indriani., Syamsuddin., Razak A.R., 2019, Aktivitas Antibakteri Fraksi n-heksan, Kloroform, Etil asetat Bungan Kamboja (*plumeria alba*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*, Jurusan Kimia Fakultas MIPA,Universitas Todolako Palu, Kovalen 5(2): 173-181.

- Sastrohamidjojo, H., 2001, *Spektroskopi*, Yogyakarta, 45-48.
- Setiabudi, D. A., dan Tukiran, 2017, Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Tumbuhan Klapok Watu (*Syzygium litorale*), *UNESA Journal Of Chemistry*, 6(3), 157.
- Soleha, T. U., 2015, Uji Kepekaan terhadap Antibiotik,*Jurnal Kesehatan Unila*, 5(9), 119 – 123.
- Soebagio, B., Rusdiana, T., dan Kairudin, 2007, *Pembuatan gel dengan aupac HV-505 dari ekstrak umbi bawang merah (Allium Cepa L.) Sebagai Antioksidan, Prosiding Seminar Penelitian Dosen* Fakultas Farmasi Universitas Padjajaran, Bandung, 11-14.
- Stevens, J.R., 2009, Antibacterial Effect of some Medicinal Plant Extract Against some Pathogenic Bacteria Strains, *Journal of Duhok University*, 12, 11, 244-249.
- Sulastrianah., Imran., dan Fitria, E.S., 2014, Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata L.*) Dan Daun Sirih (*Piper betle L.*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia Coli*, *Jurnal FK UHO*, 76-84.
- Suryati, N., Bahar, E., dan Ilmiawati, 2017, Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Aloe Vera Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* Secara *In Vitro*, *Jurnal Kesehatan Andalas*, 6 (3).
- Sutton, S., 2011, Measurement of Microbial Cells by Optical Density. *Journal of Validation Technology*.17: 46-49.
- Sutiknowati Lies Indah, 2016, *Bioindikator Pencemaran Bakteri Escherichia coli*, Oseana, Vol XLI, No 4, 63-71.
- Tjitosoepomo, G., 2000, *Morfologi Tumbuhan*, Universitas Gadjah Mada Press, Yogyakarta, 15-18.
- Tampubolon, A.S., 1967, *Obat Asli Indonesia*, Dian Rakjat, Jakarta 214-215.
- Voight , R, 1995, *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Diterjemahkan Oleh Soedani Noerono Soewandi, Apt., Yogyakarta : Universitas Gadjah Mada Press.
- Wahyudi, R.T. dan Sukarjati., 2013, *Pengaruh Ekstrak Etil Asetat Getah Kamboja (Plumeria Acumenate.W.T.Ait) Terhadap Pertumbuhan Dan Daya Hambat Bakteri Staphylococcus Aureus*. Laboratorium

Mikrobiologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tanjungpura, Pontianak, 18-25.

Widodo, Ningsih, dan Aprilia., 2010, Aktivitas Antibakteri dan Penyembuhan Luka Fraksi-Fraksi Ekstrak Etanol Daun Kamboja (*Plumeria acuminata* Ait) pada Kulit Kelinci yang Diinfeksi *Staphylococcus aureus*, *Jurnal Farmasi Indonesia*, (2) 28-35.

Wrasiati, L.P., Hartati, A., dan Yuarini, D.A.A., 2011, Kandungan Senyawa Bioaktif Dan Karakteristik Sensoris Ekstrak Simplisia Bunga Kamboja (*Plumeria sp.*), *Jurnal Biologi XV* (2) : 39-43.

Zukhri, S., dan Hidayati, N., 2017, Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol Pelepas Pisang Raja (*Musa X Paradisiaca L.*)Pada Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Jurnal Stikes Muhammadiyah Klaten*, 15(20), 25.