

Lampiran 1. Surat dan Hasil Determinasi Tanaman



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
 UNIVERSITAS DIPONEGORO
 FAKULTAS SAINS DAN MATEMATIKA
 LABORATORIUM EKOLOGI DAN BIOSISTEMATIK DEPARTEMEN BIOLOGI
 Jl. Prof. H. Soedarto SH Tembalang Semarang 024 7474754. 024 76480923

SURAT KETERANGAN

Yang bertanda tangan dibawah ini, menyatakan bahwa mahasiswa sbb :

Nama	: DEVI NISA HIDAYATI, M.Sc., Apt.
NIDN	: 0602128901
Fakultas / Prodi	: FAKULTAS FARMASI
Perguruan Tinggi	: UNIVERSITAS WAHID HASYIM SEMARANG
Judul Skripsi	: "Standarisasi Non Spesifik Ekstrak Etanol Daun dan Kulit Batang Berenuk (<i>Crescentia cujete</i> Linn.)"

Telah melakukan determinasi / identifikasi sampel tumbuhan (satu jenis) di Laboratorium Ekologi dan Biosistematik Departemen Biologi Fakultas Sains dan Matematika UNIVERSITAS DIPONEGORO. Hasil determinasi / identifikasi terlampir.

Demikian Surat Keterangan ini dibuat untuk dapat digunakan seperlunya.

Surat, Agustus 2017

Laboratorium Ekologi Dan Biosistematika

Kepala,



Dr. Mochamad Hadi, M.Si.

NIP. 196001081987031002

Lampiran 1. Lanjutan



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
 UNIVERSITAS DIPONEGORO
 FAKULTAS SAINS DAN MATEMATIKA
 LABORATORIUM EKOLOGI DAN BIOSISTEMATIK DEPARTEMEN BIOLOGI
 Jl. Prof. H. Soedarto SH Tembalang Semarang, 024 7474754. 024 76480923

HASIL DETERMINASI / IDENTIFIKASI

KLASIFIKASI

Kindom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Class	: Magnoliopsida
Ordo	: Lamiales
Famili	: Bignoniaceae
Genus	: <i>Crescentia</i>
Species	: <i>Crescentia cujete</i> Linn. (Berenuk)

DETERMINASI

- 1b, 2b, 3b, 4b, 6b, 7b, 9b, 10b, 11b, 12b, 13b, 14b, 16b,
 Golongan 11. Tumbuhan dengan daun majemuk berhadapan
 286a, 287b, Famili 113. Bignoniaceae 1b, 3a, Genus *Crescentia*
 Spesies *Crescentia cujete* Linn. (Berenuk)

DESKRIPSI

Berenuk (*Crescentia cujete*) adalah tumbuhan berbentuk pohon asal Amerika Tengah dan Amerika Selatan tropis. Daunnya tersusun khas, tiga berpasangan. Buahnya besar dan dapat dipakai sebagai bahan obat. Buah berenuk kerap dianggap sebagai buah maja.

Perdu atau pohon, dapat mencapai tinggi 8 m. Daun dalam berkas, bentuk solet, 10-20 cm panjangnya. Bunga simetris tunggal, tunggal atau dalam berkas dari 2-3 bunga pada batang dan cabang, bertangkai menggantung, panjang lk 5 cm, kuning kehijauan dengan urat merah. Kelopak mula-mula menutup, kemudian terbelah bentuk upih atau dalam 2-3 taju yang tidak beraturan sampai pangkal, atau agak kurang dalam, lk 1 cm panjangnya. Tabung mahkota membengkok, bentuk lonceng, berperut dengan lipatan melintang. Benang sari 4, panjang dua, terdapat sisa-sisa benang sari yang ke 5. Buah bulat bola, licin, hijau, dengan kulit berkaru yang keras, mencapai diameter 25 cm. Biji banyak, pipih, tidak bersayap, tertanam dalam daging buah yang lumat. Berasal dari Amerika tropis, taaman hias, sering digunakan sebagai pagar hidup.

Daun, batang, dan buah berenuk mengandung saponin dan polifenol, di samping itu buahnya juga mengandung flavonoid. Daun berenuk berkhasiat sebagai obat luka baru dan daging buahnya untuk urus-urus. Untuk obat luka baru dipakai 10 gram daun berenuk, dicuci dan ditumbuk sampai halus, ditempelkan pada bagian yang luka dan dibalut dengan kain bersih. Daunnya dilaporkan dipakai sebagai obat hipertensi. Buah dan bijinya yang diperas dipakai untuk mengobati diare, sakit perut, pilek, bronkitis, asma, dan susah buang

Lampiran 1. Lanjutan



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
 UNIVERSITAS DIPONEGORO
FAKULTAS SAINS DAN MATEMATIKA
 LABORATORIUM EKOLOGI DAN BIOSISTEMATIK DEPARTEMEN BIOLOGI
 Jl. Prof. H. Soedarto SH Tembalang Semarang, 024 7474754. 024 76480923

air kecil. Buah berenuk sekilas hampir mirip dengan buah Maja. Bentuk buahnya buni (bulat), hanya buah Maja relatif lebih kecil dari buah Berenuk. Padahal keduanya merupakan 2 (dua) jenis buah yang berbeda.

Tanaman asli Amerika ini tumbuh subur di kawasan Mojokerto Jawa Timur, daerah yang memiliki sejarah sebagai cikal bakal Kerajaan Majapahit. Keduanya sama-sama menjadi maskot Mojokerto. Buah Berenuk (*Crescentia cujete*) menjadi maskot Kabupaten Mojokerto, sementara Buah Maja (*Aegle marmelos*) menjadi maskot Kota Mojokerto.

Mungkin karena sama-sama pahitnya, maka keduanya diyakini bisa sebagai obat herbal untuk menyembuhkan beberapa macam penyakit. Hampir semua bagian tanaman Berenuk (daun, batang, kulit, akar) bisa dijadikan obat. Berenuk mengandung *saponin*, *poliferol*. Buah, dan daun Berenuk mengandung *flavonoid*, *saponin*, *tanin*, *polifenol*, vitamin A, C, E, *niasin*, *riboflavin*, *thiamin*, *karbohidrat*, dan mineral-mineral yang mencakup *natrium*, *kalsium*, *fosfor*, dan *magnesium*. Riset terus digalakkan untuk budidaya buah Berenuk.

PUSTAKA :

Backer and van den Brink (1968) Flora of Java, Vol. I – III, Wolters – Noordhoff NV – Groningen – The Netherlands.

Van Steenis, 2003. Flora Untuk Sekolah di Indonesia. Terjemahan Moeso Surjowinoto. Cetakan ke 9. PT Pradnya Paramita, Jakarta



Lampiran 1. Lanjutan

Dengan hormat,

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Devi Nisa Hidayati, M. Sc., Apt

NIDN : 0602128901

Selaku Pembimbing Skripsi dari mahasiswa:

Nama : Rizqi Nur Amalia

NIM : 145010195

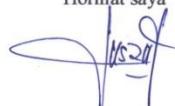
Judul Skripsi : Aktivitas Antibakteri Fraksi *n*-Heksan Ekstrak Etanol Daun dan Kulit

Batang Berenuk (*Crescentia cujete* Linn.) Terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bacillus cereus*.

Menyatakan bahwa tanaman berenuk (*Crescentia cujete* Linn.) yang digunakan dalam penelitian skripsi tersebut sama dengan tanaman yang digunakan oleh Devi Nisa Hidayati, M. Sc., Apt (0602128901) dalam penelitian lain dan telah dilakukan identifikasi di Laboratorium Ekologi dan Biosistematika Fakultas MIPA Universitas Diponegoro Semarang.

Dengan surat pernyataan ini dibuat dengan sebenar-benarnya dan dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Hormat saya



Devi Nisa Hidayati, M.Sc., Apt

NIDN.0602128901

Lampiran 2. Sertifikat Biakan Murni

LABORATORIUM MEDIS SARANA MEDIKA

Jalan Ahmad Dahlan No.6 Semarang

SERTIFIKAT BIAKAN MURNI

Dengan ini kami menerangkan bahwa:

Nama : Rizqi Nur Amalia

NIM : 145010195

Instansi : Fakultas Farmasi

Universitas Wahid Hasyim

SEMARANG.

Telah menggunakan strain bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 untuk keperluan penelitian dengan judul Aktivitas Antibakteri Fraksi n-heksan Ekstrak Etanol Kulit Batang dan Daun Berenuk (*Crescentia cujete linn.*) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bacillus cereus*.

Bentuk : Biakan Murni

Media Inkubasi : Nutrien Agar

Pemeliharaan : Biakan dari Nutrien agar dipindahkan seminggu sekali ke media Nutrien agar yang baru dan diinkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam.

Penyimpanan : Biakan di media nutrien agar disimpan pada suhu ≥4° C.

Semarang, 26 Maret 2018

Laboratorium Mikrobiologi


(Seno Ari)

Lampiran 2. Lanjutan

LABORATORIUM MEDIS SARANA MEDIKA

Jalan Ahmad Dahlan No.6 Semarang

SERTIFIKAT BIAKAN MURNI

Dengan ini kami menerangkan bahwa:

Nama : Rizqi Nur Amalia

NIM : 145010195

Instansi : Fakultas Farmasi

Universitas Wahid Hasyim

SEMARANG.

Telah menggunakan strain bakteri *Bacillus cereus* ATCC 14579 untuk keperluan penelitian dengan judul Aktivitas Antibakteri Fraksi n-heksan Ekstrak Etanol Kulit Batang dan Daun Berenuk (*Crescentia cujete* linn.) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bacillus cereus*.

Bentuk : Biakan Murni

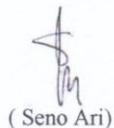
Media Inkubasi : Nutrien Agar

Pemeliharaan : Biakan dari Nutrien agar dipindahkan seminggu sekali ke media Nutrien agar yang baru dan diinkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam.

Penyimpanan : Biakan di media nutrien agar disimpan pada suhu ≥4° C.

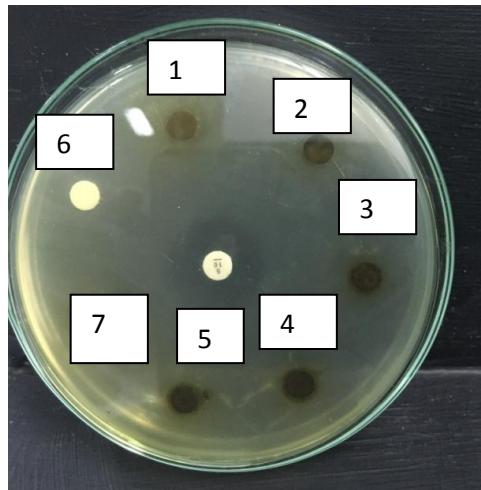
Semarang, 26 Maret 2018

Laboratorium Mikrobiologi

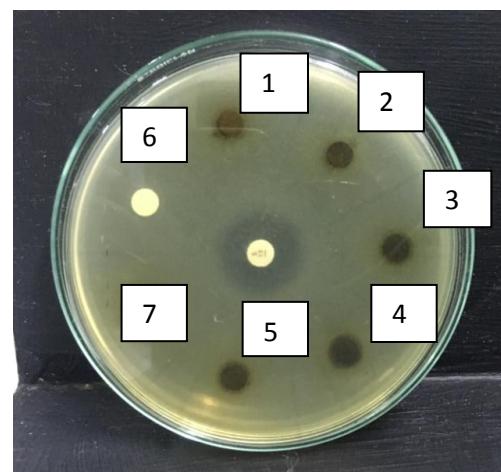


(Seno Ari)

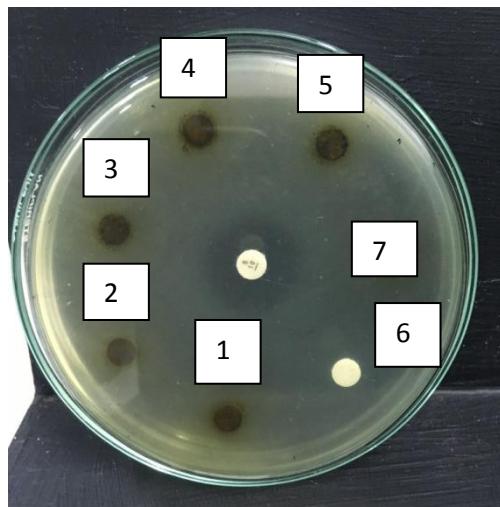
Lampiran 3. Dokumentasi Uji Aktivitas Fraksi *n*-heksan Ekstrak Daun Berenuk Terhadap *Pseudomonas aeruginosa*.



Replikasi I



Replikasi II

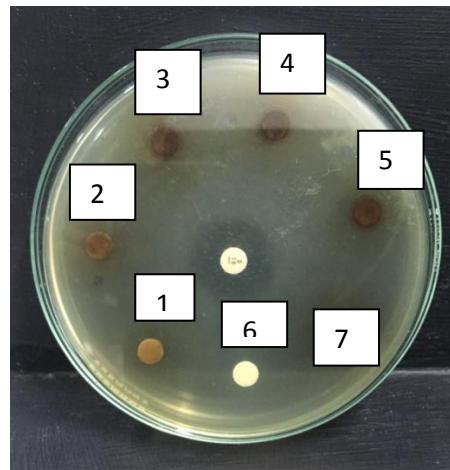


Replikasi III

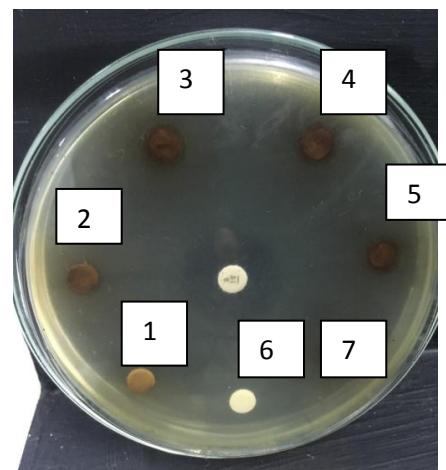
Keterangan :

1. Konsentrasi 10%
2. Konsentrasi 20%
3. Konsentrasi 30%
4. Konsentrasi 40%
5. Konsentrasi 50%
6. Kontrol negatif (-)
7. Kontrol positif (+)

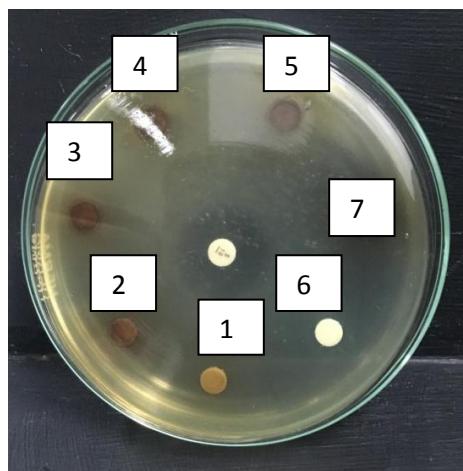
Lampiran 4. Dokumentasi Uji Aktivitas Fraksi *n*-heksan Ekstrak Kulit Batang Berenuk Terhadap *Pseudomonas aeruginosa*.



Replikasi I



Replikasi II

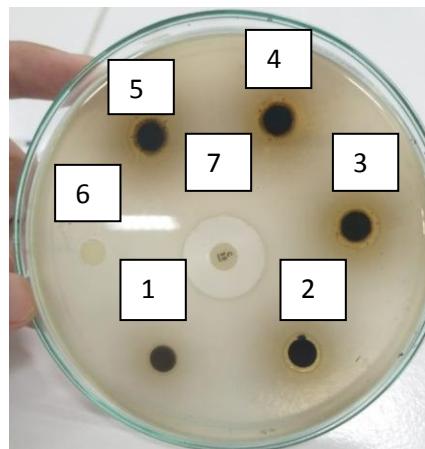


Replikasi III

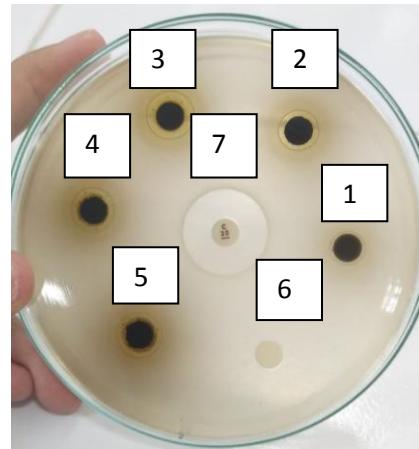
Keterangan :

1. Konsentrasi 20%
2. Konsentrasi 40%
3. Konsentrasi 60%
4. Konsentrasi 80%
5. Konsentrasi 100%
6. Kontrol negatif (-)
7. Kontrol positif (+)

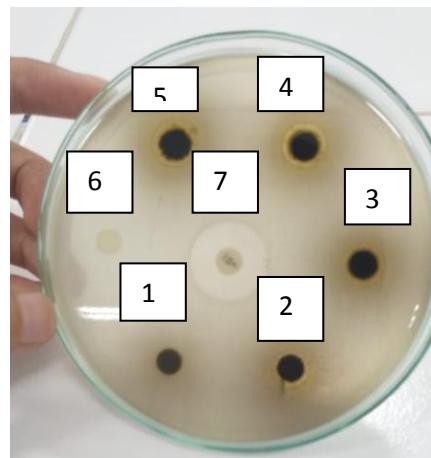
Lampiran 5. Dokumentasi Uji Aktivitas Fraksi *n*-heksan Ekstrak Daun Berenuk Terhadap *Bacillus cereus*.



Replikasi I



Replikasi II

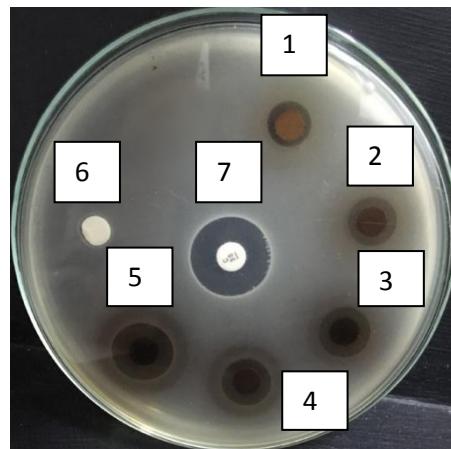


Replikasi III

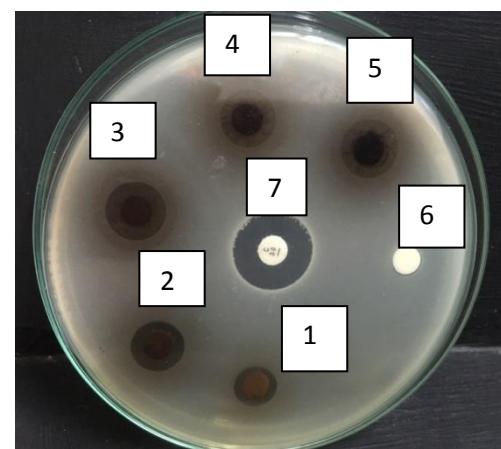
Keterangan :

1. Konsentrasi 10%
2. Konsentrasi 20%
3. Konsentrasi 30%
4. Konsentrasi 40%
5. Konsentrasi 50%
6. Kontrol negatif (-)
7. Kontrol positif (+)

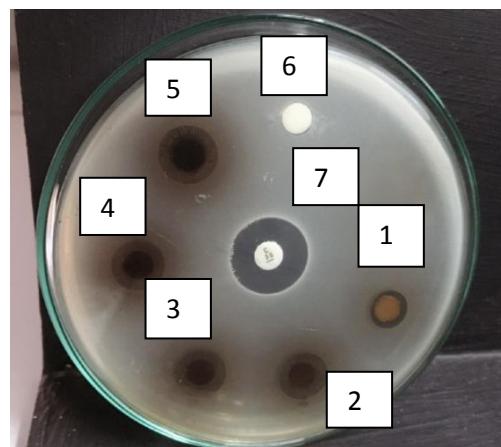
Lampiran 6. Dokumentasi Uji Aktivitas Fraksi *n*-heksan Ekstrak Kulit Batang Berenuk Terhadap *Bacillus cereus*.



Replikasi I



Replikasi II



Replikasi III

Keterangan :

1. Konsentrasi 20%
2. Konsentrasi 40%
3. Konsentrasi 60%
4. Konsentrasi 80%
5. Konsentrasi 100%
6. Kontrol negatif (-)
7. Kontrol positif (+)

Lampiran 7. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi *n*-heksan Ekstrak Etanol Daun dan Kulit Batang Berenuk Terhadap *Pseudomonas aeruginosa*.

Tabel IV. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi *n*-heksan Ekstrak Etanol Daun Berenuk Terhadap *Pseudomonas aeruginosa*.

Perlakuan	DDH (Diameter Daerah Hambat) (mm)			Rata-rata±SD (mm)
	Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III	
10%	-	-	-	-
20%	-	-	-	-
30%	-	-	-	-
40%	-	-	-	-
50%	-	-	-	-
Streptomisin (+)	17,32	19,59	20,3	19,07±1,56
DMSO 99% (-)	-	-	-	-

Tabel V. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi *n*-heksan Ekstrak Etanol Kulit Batang Berenuk Terhadap *Pseudomonas aeruginosa*.

Perlakuan	Diameter Daerah Hambat (DDH) (mm)			Rata-rata±SD (mm)
	Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III	
20%	-	-	-	-
40%	-	-	-	-
60%	-	-	-	-
80%	-	-	-	-
100%	-	-	-	-
Steptomisin (+)	21,5	19,42	19,25	20,05±1,25
DMSO 99% (-)	-	-	-	-

Lampiran 8. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi *n*-heksan Ekstrak Etanol Daun dan Kulit Batang Berenuk Terhadap *Bacillus cereus*.

Tabel VI. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi *n*-heksan Ekstrak Etanol Daun Berenuk Terhadap Bakteri *Bacillus cereus*.

Perlakuan	Diameter Daerah Hambat (DDH) (mm)			Rata-rata±SD (mm)
	Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III	
10%	7,7	6,9	7,76	7,45±0,48
20%	10,45	7,55	9,3	9,1±1,46
30%	11,77	12,88	11,08	11,91±0,90
40%	15,15	8,94	14,33	12,8±3,37
50%	16,19	11,57	16,78	14,84±2,58
Kloramfenikol (+)	22,36	20,78	21,56	21,57±2,85
DMSO 99% (-)	-	-	-	-

Tabel VII. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi *n*-heksan Ekstrak Etanol Kulit Batang Berenuk Terhadap Bakteri *Bacillus cereus*.

Perlakuan	Diameter Daerah Hambat (DDH) (mm)			Rata-rata±SD (mm)
	Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III	
20%	7,2	6,68	6,73	6,87±0,28
40%	9,12	9,51	9,47	9,37±0,21
60%	11,55	11,42	11,3	11,42±0,12
80%	12	12,1	11,15	11,75±0,52
100%	11,19	12,41	13,82	12,47±1,83
Kloramfenikol (+)	16,75	16,73	17,1	16,86±0,20
DMSO 99% (-)	-	-	-	-

Lampiran 9. Foto-foto Penelitian

Proses penirisan daun segar
setelah pencucian



Proses penimbangan daun segar



Proses Pengeringan daun berenuk



Pengujian kadar air

Lampiran 9. Lanjutan



Proses penimbangan serbuk daun berenuk



Proses maserasi daun berenuk



Proses pengadukan pada saat maserasi



Proses *Rotary evaporator*

Lampiran 9. Lanjutan



Penimbangan kulit batang



Proses penganginan kulit batang



Proses pengeringan



Pengecekan kadar air



Proses penimbangan serbuk



Proses pengadukan saat maserasi

Lampiran 9. Lanjutan



Proses *rotary evaporator* bererenuk



Penimbangan ekstrak etanol kulit batang bererenuk



Penimbangan ekstrak etanol daun bererenuk



Proses penggojukan



Proses pemisahan pelarut

Lampiran 9. Lanjutan



Penimbangan fraksi *n*-heksan ekstrak daun berenuk setelah RE



FRAKSI *N*-HEKSAN
DAUN BERENUK

Fraksi *n*-heksan ekstrak
daun berenuk



Penimbangan fraksi *n*-heksan
ekstrak kulit batang berenuk setelah RE



FRAKSI *N*-HEKSAN
KULIT BATANG BERENUK

Fraksi *n*-heksan ekstrak
kulit batang berenuk

Lampiran 9. Lanjutan



Proses Pembuatan media



Proses pengecekan pH media



Biakan murni *Pseudomonas aeruginosa* (kiri)
dan *Bacillus cereus* (kanan)



Proses pembandingan suspensi
bakteri dan Mc Farland

Lampiran 10. Perhitungan Seri Konsentrasi Fraksi *n*-heksan Ekstrak Etanol Daun Berenuk

Pembuatan seri konsentrasi ekstrak berenuk

1. Pembuatan pembuatan larutan stok 50%

0,5 gram fraksi *n*-heksan ekstrak etanol daun berenuk dilarutkan dalam 1 mL DMSO 99%.

2. Perhitungan seri konsentrasi ekstrak daun berenuk 40%, 30%, 20% dan 10%.

- a. Konsentrasi 40%

$$VI.CI = V2.C2$$

$$1 \text{ mL.}50\% = V2.40\%$$

$$\begin{array}{r} V2 = 1 \text{ mL.}40\% \\ \hline 50\% \end{array}$$

$$V2 = 0,8 \text{ mL ditambah } 0,2 \text{ mL DMSO 99\%}.$$

- b. Konsentrasi 30 %

$$VI.CI = V2.C2$$

$$1 \text{ mL.}40\% = V2.30\%$$

$$\begin{array}{r} V2 = 1 \text{ mL.}30\% \\ \hline 40\% \end{array}$$

$$V2 = 0,75 \text{ mL ditambah } 0,25 \text{ mL DMSO 99\%}$$

- c. Konsentrasi 20%

$$VI.CI = V2.C2$$

$$1 \text{ mL.}30\% = V2.20\%$$

$$\begin{array}{r} V2 = 1 \text{ mL.}20\% \\ \hline 30\% \end{array}$$

$$V2 = 0,67 \text{ mL ditambah } 0,33 \text{ mL DMSO 99\%}$$

Lampiran 10. Lanjutan

d. Konsentrasi 10%

$$VI.CI = V2.C2$$

$$1 \text{ mL.}20\% = V2.10\%$$

$$\frac{V2 = 1 \text{ mL.}10\%}{20\%}$$

$V2 = 0,5 \text{ mL}$ ditambah $0,5 \text{ mL DMSO 99\%}$.

Lampiran 11. Pembuatan Seri Konsentrasi Fraksi *n*-heksan Ekstrak Etanol Kulit Batang Berenuk

1. Pembuatan pembuatan larutan stok 100%

1 gram fraksi *n*-heksan ekstrak etanol kulit batang berenuk
dilarutkan dalam 1 mL DMSO 99%.

2. Perhitungan seri konsentrasi 80%, 60%, 40% dan 20%.

- a. Konsentrasi 80%

$$VI.CI = V2.C2$$

$$1 \text{ mL.}100\% = V2.80\%$$

$$\frac{V2 = 1 \text{ mL.}80\%}{100\%}$$

$$V2 = 0,8 \text{ mL ditambah } 0,2 \text{ mL DMSO 99\%}.$$

- a. Konsentrasi 60 %

$$VI.CI = V2.C2$$

$$1 \text{ mL.}80\% = V2.60\%$$

$$\frac{V2 = 1 \text{ mL.}60\%}{80\%}$$

$$V2 = 0,75 \text{ mL ditambah } 0,25 \text{ mL DMSO 99\%}$$

- b. Konsentrasi 40%

$$VI.CI = V2.C2$$

$$1 \text{ mL.}60\% = V2.40\%$$

$$\frac{V2 = 1 \text{ mL.}40\%}{60\%}$$

$$V2 = 0,67 \text{ mL ditambah } 0,33 \text{ mL DMSO 99\%}$$

- c. Konsentrasi 20%

$$VI.CI = V2.C2$$

$$1 \text{ mL.}40\% = V2.20\%$$

$$\frac{V2 = 1 \text{ mL.}20\%}{40\%}$$

$$V2 = 0,5 \text{ mL ditambah } 0,5 \text{ mL DMSO 99\%}.$$

Lampiran 12. Perhitungan Pembuatan Suspensi Biakan Bakteri dan Media Pertumbuhan Bakteri

- a. Pembuatan suspensi bakteri *Bacillus cereus* dalam media Nutrien broth (NB)

Kelarutan media NB: 8 gram larut dalam 1000 mL

$$8 \text{ gram} = 1000 \text{ mL}$$

$$x = 20 \text{ mL}$$

$$x = \frac{8 \text{ gram}.20 \text{ mL}}{1000 \text{ mL}}$$

$$x = 0,16 \text{ gram}$$

Suspensi dibuat 2 tabung @ 10 mL

- b. Pembuatan suspensi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dalam media Nutrien broth (NB)

Kelarutan media NB: 8 gram larut dalam 1000 mL

$$8 \text{ gram} = 1000 \text{ mL}$$

$$x = 20 \text{ mL}$$

$$x = \frac{8 \text{ gram}.20 \text{ mL}}{1000 \text{ mL}}$$

$$x = 0,16 \text{ gram}$$

Suspensi dibuat 2 tabung @ 10 mL

- c. Pembuatan media Nutrien agar pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus*

Kelarutan media NA: 20 gram larut dalam 1000 mL

$$20 \text{ gram} = 1000 \text{ mL}$$

$$x = 45 \text{ mL}$$

$$x = \frac{20 \text{ gram}.45 \text{ mL}}{1000 \text{ mL}}$$

$$x = 0,9 \text{ gram}$$

Media dibuat 3 petri @ 15 mL

Lampiran 13. Lanjutan

- d. Pembuatan media Nutrien agar pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

Kelarutan media NA: 20 gram larut dalam 1000 mL

$$20 \text{ gram} = 1000 \text{ mL}$$

$$x = 45 \text{ mL}$$

$$x = \frac{20 \text{ gram} \cdot 45 \text{ mL}}{1000 \text{ mL}}$$

$$x = 0,9 \text{ gram}$$

Media dibuat 3 petri @ 15 mL

- e. Pembuatan media pertumbuhan bakteri digunakan perbandingan (1:15) yaitu 1 mL suspensi bakteri dalam 15 mL media Nutrien agar (NA).