

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak, Fraksi Air, Fraksi Etil Asetat, Fraksi *n*-Heksan Daun Petai Cina (*Leucaena leucocephala*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Muhammad Andira Ibnu Shina^{1*}, Tatiana Siska Wardani², Kusumaningtyas Siwi Artini³

¹⁻³ Universitas Duta Bangsa, Indonesia

Alamat: Jl. Pinang No.47, Jati, Cemani, Kec. Grogol, Kabupaten Sukoharjo, Jawa Tengah

Korespondensi penulis: ibnuandira7@email.com*

Abstract. Shina, mai., 2024, test of antibacterial activity of extract, water fraction, ethyl acetate fraction, and *n*-hexane fraction of chinese petai leaf (*leuncaena leucocephala*) against *staphylococcus aureus* atcc 25923, thesis, faculty of health sciences, duta bangsa university, surakarta one of the traditional medicines that currently has the potential to be developed is the chinese petai plant (*leucaena leucocephala*). Chinese petai leaves are used by the people of indonesia as a remedy for new and swollen wounds. *Staphylococcus aureus* is a gram-positive coccus bacterium that is the main pathogen in humans. Almost everyone has experienced a wide variety of *staphylococcus aureus* infections during their lifetime, from severe food poisoning to minor skin infections. The methods used in this study are diffusion and dilution. The purpose of this study was to determine the antibacterial activity of water extracts and fractions, ethyl acetate fractions, and *n*-hexane fractions of chinese petai leaves (*leuncaena leucocephala*), to find the most active extracts and fractions based on their inhibitory zones, and to determine the *k_{hm}* and *k_{bm}* of the most active extracts against *staphylococcus aureus* atcc 25923. Based on research conducted on ethanol extract, water fraction, ethyl acetate fraction, and *n*-hexane fraction of chinese petai leaves have antibacterial activity against *staphylococcus aureus* atcc 25923. The most active extract in inhibiting *staphylococcus aures* atcc 25923 judging from its inhibition zone value is ethanol extract. Ethanol extract of chinese petai leaves has the same *k_{hm}* and *k_{bm}* values, namely at a concentration of 25%.

Keywords: : Chinese petai leaves, *Staphylococcus aureus*, diffusion, dilution

Abstrak. Shina, mai., 2024, uji aktivitas antibakteri ekstrak, fraksi air, fraksi etil asetat, dan fraksi *n*-heksane daun petai cina (*leuncaena leucocephala*) terhadap bakteri *staphylococcus aureus* atcc 25923, skripsi, fakultas ilmu kesehatan, universitas duta bangsa, surakarta salah satu obat tradisional yang saat ini berpotensi untuk dikembangkan adalah tanaman petai cina (*leucaena leucocephala*). Daun petai cina dimanfaatkan oleh masyarakat indonesia sebagai obat luka baru dan bengkak. *Staphylococcus aureus* adalah bakteri *coccus* gram positif merupakan patogen utama pada manusia. Hampir semua orang pernah mengalami berbagai macam infeksi *staphylococcus aureus* selama hidupnya, dari keracunan makanan yang berat atau infeksi kulit yang kecil. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah difusi dan dilusi. Tujuan dilakukan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari ekstrak dan fraksi air, fraksi etil asetat, dan fraksi *n*-heksane daun petai cina (*Leuncaena leucocephala*), mencari ekstrak dan fraksi teraktif berdasarkan zona hambatnya, serta mengetahui KHM dan KBM ekstrak teraktif terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Berdasarkan penelitian yang dilakukan ekstrak etanol, fraksi air, fraksi etil asetat, dan fraksi *n*-heksane daun petai cina memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Ekstrak yang paling aktif dalam menghambat *Staphylococcus aures* ATCC 25923 dilihat dari nilai zona hambatnya adalah ekstrak etanol. Ekstrak etanol daun petai cina memiliki nilai KHM dan KBM yang sama yaitu pada konsentrasi 25%.

Kata kunci: daun petai cina, *Staphylococcus aureus*, difusi, dilusi

1. LATAR BELAKANG

Tanaman obat keluarga (TOGA) ialah sekumpulan tanaman berkhasiat obat untuk kesehatan keluarga yang ditata menjadi sebuah taman dan memiliki nilai fungsi, TOGA biasanya ditanam di pekarangan rumah atau di halaman rumah, TOGA adalah salah satu kearifan lokal yang perlu dilestarikan. Tanaman obat keluarga berkhasiat sebagai obat yang

digunakan dalam upaya peningkatan kesehatan, seperti minuman kebugaran, ramuan gangguan kesehatan ringan berdasarkan gejala, ramuan khusus untuk lansia, memelihara kesehatan ibu, dan meningkatkan gizi anak (Lestari, 2022)

Tanaman obat yang digunakan secara tepat, pengaruhnya kurang menimbulkan efek samping dibandingkan dengan obat-obatan sintesis, terutama yang dibuat dari bahan sintesis, bahkan farmakologi modern semakin menyarankan penelitian berasal dari tumbuh-tumbuhan (Almeida *et al.*, 2016)

Salah satu obat tradisional yang saat ini berpotensi untuk dikembangkan adalah tanaman petai cina (*Leucaena leucocephala*). Daun petai cina digunakan oleh masyarakat Indonesia sebagai obat luka baru dan bengkok. Petai cina mengandung alkaloid, flavonoid, dan tannin, Petai cina diketahui potensial untuk diteliti lebih lanjut pada penyakit infeksi. (Almeida *et al.*, 2016)

Staphylococcus aureus ialah bakteri *coccus* gram positif yaitu patogen utama pada manusia. Hampir semua orang pernah menderita berbagai macam infeksi *Staphylococcus aureus* selama hidupnya, dari keracunan makanan yang berat atau infeksi kulit yang kecil, sampai infeksi yang tidak bisa disembuhkan. Infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* dapat terjadi secara langsung maupun tak langsung. Bakteri ini menghasilkan nanah, oleh sebab itu bakteri tersebut disebut bakteri piogenik (Almeida *et al.*, 2016)

Pada penelitian sebelumnya menyatakan bahwa ekstrak daun petai cina dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Pada penelitian terdahulu didapatkan hasil diameter zona hambatan ekstrak daun petai cina memiliki jarak yang berbeda dan sudah cukup luas yaitu pada bakteri *Staphylococcus aureus* konsentrasi 80% rata – rata hambatan 10,2 mm dan konsentrasi 100% yaitu 15,4 mm.

Untuk mengetahui manfaat salah satu sumber daya alam Indonesia yang sangat banyak dan sekaligus sebagai penyediaan senyawa antibakteri yang berkhasiat tinggi, mudah dan murah, maka untuk mengetahui daya hambat fraksi n-heksan, etil asetat, dan air ekstrak daun petai cina (*Leucaena leucocephala*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Untuk mengetahui fraksi air, fraksi etil asetat, fraksi n-heksana dari Daun Petai Cina (*Leucaena leucocephala*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Untuk mengetahui manakah ekstrak dan fraksi air, fraksi etil asetat, fraksi n-heksana dari Daun Petai Cina (*Leucaena leucocephala*) mana yang paling aktif dalam menghambat *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dilihat dari nilai zona hambat. Untuk mengetahui berapakah Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh

Minimum (KBM) dari fraksi teraktif Daun Petai Cina (*Leucaena leucocephala*) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi bagi masyarakat dan ilmu pengetahuan dalam bidang obat tradisional serta digunakan dalam upaya pemanfaatan Daun Petai Cina (*Leucaena leucocephala*) sebagai obat antibakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

2. KAJIAN TEORITIS

Daun petai cina (*Leucaena leucocephala*) juga terdapat zat aktif flavonoid, lektin, alkaloid, saponin, dan tannin (Valerian *et al.*, 2019) Berdasarkan hasil penelitian para peneliti sebelumnya, dalam petai cina terdapat zat aktif yang berupa alkaloid, saponin, flavonoid, mimosin, lektin, protein, lemak, kalsium, fosfor, zat besi, vitamin A dan vitamin B. Berbagai kandungan yang terkandung dalam daun petai cina diperkirakan sebagai antiinflamasi adalah flavonoid. Sementara lektin berfungsi menstimulasi pertumbuhan sel kulit. Antibiotik yang terkandung dalam saponin dapat mempercepat penyembuhan luka karena menghambat pertumbuhan bakteri (I. Rahmawati, 2014)

Ekstraksi merupakan suatu proses pemisahan dari bahan padat maupun cair dengan bantuan pelarut. Pelarut yang dipakai harus dapat mengekstrak substansi yang diinginkan tanpa melarutkan material lainnya. Ekstrak ialah sediaan pekat didapat dengan cara mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau hewani, memakai pelarut yang sesuai, kemudian hampir semua pelarut dan ekstrak yang tersisa diuapkan secara baik sehingga memenuhi ketentuan baku yang ditetapkan (Sulihono *et al.*, 2012)

Etanol dipilih sebagai penyari karena lebih selektif, kapang dan bakteri sulit tumbuh, tidak beracun, netral, absorbsinya baik, etanol dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan, panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit (Wahyulianingsih *et al.*, 2016)

Ekstraksi dengan metode maserasi mempunyai kelebihan yaitu terjaminnya zat aktif yang diekstrak tidak akan rusak. Umumnya ekstraksi metode maserasi menggunakan suhu ruang pada prosesnya, akan tetapi dengan menggunakan suhu ruang terdapat kelemahan yaitu proses ekstraksi kurang sempurna yang menyebabkan senyawa menjadi kurang terlarut dengan sempurna. Oleh karena itu perlu dilakukan modifikasi suhu untuk mengetahui perlakuan suhu agar mengoptimalkan proses ekstraksi. (Chairunnisa *et al.*, 2019)

Staphylococcus aureus merupakan salah satu bakteri patogen penting yang berkaitan dengan virulensi toksin, invasif, dan ketahanan terhadap antibiotik (Rahmi *et al.*, 2015).

Menurut Herlina et al. (2015) menyatakan bahwa bakteri *S. aureus* dapat menyebabkan terjadinya berbagai jenis infeksi mulai dari infeksi kulit ringan, keracunan makanan sampai dengan infeksi sistemik. Infeksi yang terjadi antarlain keracunan makanan karena *Staphylococcus*, salah satu jenis faktor virulensi yaitu *Staphylococcus enterotoxin*.

Antiseptik merupakan zat yang dapat menghambat pertumbuhan dan perkembangan mikroorganisme. Penggunaan antiseptik untuk melenyapkan mikroba adalah langkah yang penting untuk pencegahan terjadinya infeksi. Penyakit infeksi (*infectious disease*) merupakan penyakit yang terjadi akibat mikroorganisme patogen seperti virus, bakteri, parasit, dan jamur (Susanti & Fahriani, 2020). Antibakteri adalah zat yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan digunakan untuk mengobati infeksi. Antibakteri terdiri dari senyawa-senyawa aktif baik kimia sintetik atau produk alami yang berguna untuk menghambat pertumbuhan bakteri (Widyastuti et al., 2019)

Fraksinasi merupakan proses penarikan senyawa pada suatu ekstrak dengan menggunakan dua macam pelarut yang tidak saling bercampur. Pelarut yang sering dipakai untuk fraksinasi adalah n-heksan, etil asetat, dan metanol. Untuk menarik lemak dan senyawa non polar digunakan n-heksan, etil asetat untuk menarik senyawa semi polar, sedangkan metanol untuk menarik senyawa-senyawa polar. Dari proses ini dapat diduga sifat kepolaran dari senyawa yang akan dipisahkan. Seperti mana yang diketahui bahwa senyawa-senyawa yang bersifat non polar akan larut dalam pelarut yang non polar sedangkan senyawa-senyawa yang bersifat polar akan larut dalam pelarut yang bersifat polar juga (Sudarwati & Fernanda, 2019).

Metode difusi diterapkan untuk menentukan aktivitas agen antimikroba. Piringan yang berisi agen antimikroba diletakkan pada media Agar yang telah ditanam mikroorganisme yang akan berdifusi pada media Agar tersebut. Prinsip metode ini ialah mengukur zona hambat pertumbuhan bakteri yang terjadi akibat difusi zat yang bersifat sebagai antibakteri di dalam media padat. Daerah hambat pertumbuhan bakteri ialah daerah jernih di sekitar sumuran. Luas daerah berbanding lurus dengan aktivitas antibakteri, semakin kuat aktivitas antibakteri maka semakin luas daerah hambatnya. Metode ini adalah yang paling sering digunakan (Pratiwi, 2008).

Metode ini mengukur MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) atau KHM (Kadar Hambat Minimum) dan MBC (*Minimum Bactericidal Concentration*) atau KBM (Kadar Bunuh Minimum). Cara yang digunakan adalah membuat seri pengenceran agen antimikroba pada medium cair yang ditambahkan dengan mikroba uji. Larutan uji agen antimikroba pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan mikroba uji ditetapkan sebagai

KHM. Larutan yang ditentukan sebagai KHM tersebut selanjutnya dikultur ulang pada media cair tanpa penambahan mikroba uji ataupun agen antimikroba dan diinkubasi selama 18-24 jam. Media cair yang tetap terlihat jernih setelah diinkubasi ditetapkan sebagai KBM (Pratiwi, 2008).

Metode ini serupa dengan metode dilusi cair, namun menggunakan metode padat. Keuntungan dari metode ini ialah satu konsentrasi agen antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji (Pratiwi, 2008).

Hipotesis

Terdapat aktivitas antibakteri dari fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air Ekstrak Daun Petai Cina (*Leuncaena leucocephala*) terhadap *Staphylococcus aureus*. Fraksi *n*-heksan dari Ekstrak Daun Petai Cina (*Leuncaena leucocephala*) memiliki zona hambat yang paling aktif dalam menghambat *Staphylococcus aureus*. Terdapat nilai konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari fraksi teraktif Ekstrak Daun Petai Cina (*Leuncaena leucocephala*) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.

3. METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian kuantitatif, jenis penelitian ini bersifat eksperimental dengan menguji aktivitas antibakteri ekstrak, fraksi air, fraksi etil asetat, fraksi *n*-Heksane daun petai cina terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yang ditandai dengan adanya daya hambat bakteri dan daya bunuh minimum.

Jenis penelitian ini dilakukan secara eksperimental yaitu penelitian yang bertujuan untuk mengetahui hubungan sebab akibat, yang dilakukan melalui suatu pengujian terhadap objek, ada beberapa variabel penelitian ini diantaranya :

1. Identifikasi Variabel Utama

Uji antibakteri ekstrak, fraksi air, fraksi etil asetat, fraksi *n*-Heksane daun petai cina (*Leuncaena leucocephala*)

2. Klasifikasi Variabel utama

- a. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air ekstrak daun petai cina (*Leuncaena leucocephala*).
- b. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah hasil uji antibakteri fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air ekstrak daun petai cina (*Leuncaena leucocephala*).
- c. Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah sterilisasi dalam proses praktikum agar tidak terjadi kontaminasi bakteri, dimulai dari preparasi sampel hingga proses pengujian antibakteri.

3. Definisi operasional variabel utama

Ekstrak daun petai cina (*Leuncaena leucocephala*) merupakan tanaman yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Bahan dan Alat

1. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah ekstrak daun petai cina (*Leuncaena leucocephala*), etanol 96%, pereaksi mayer, etanol, serbuk magnesium, HCl pekat, akuades, larutan FeCl₃, kloroform, asam asetat anhidrat, H₂SO₄ pekat, aquadest, n-heksan, etil asetat, NaCl 0,9%, bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, media BHI (*Brain Heart Infusion*), media MHA (*Mueller Hinton Agar*), media NB (*Nutrient Broth*), *blank disc*, *amoxicillin disc*, amoxicillin 1%.

2. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah oven (Memmert UN30 Oven Lab), *rotary evaporator* (RV 10), incubator (Memmert), blender (Cosmos), pengayak No. 40, timbangan digital (Durascale), botol kaca berwarna coklat, batang pengaduk, kertas saring, beker gelas (Pyrex), bejana maserasi, gelas ukur (Pyrex), cawan porselin, pipet tetes, waterbath (Memmert), tabung reaksi (Pyrex), timbangan milligram (Durascale), kain hitam, loyang, corong pisah (Pyrex), erlenmeyer (Pyrex), sarung tangan, masker, sendok tanduk, batang pengaduk, cawan petri (Normax), spreader glass, bunsen, jarum ose, kapas, aluminium foil, autoklaf (GEA), mikropipet, yellowtip, bluetip, Laminar Air Flow (LAF), penggaris (Snowpeak).

1. Determinasi Tanaman

Sampel tanaman yang diambil dari daerah Sragen merupakan tanaman petai cina. Tanaman tersebut dibawa dan dilakukan determinasi di laboratorium Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional Tawangmangu. Tujuan dilakukan determinasi adalah untuk menunjukkan adanya kebenaran keaslian dan identitas dari tanaman yang digunakan dalam penelitian ini.

2. Pembuatan Simplisia

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu daun petai cina yang diambil dari Kabupaten Sragen yang kemudian disortasi basah, dicuci, lalu ditiriskan. Kemudian dikeringkan dengan cara dijemur dibawah cahaya matahari dengan ditutupi kain hitam. Penggunaan kain hitam dalam pengeringan ini untuk melindungi kandungan dari daun petai cina agar tidak rusak karena terkena panas matahari secara langsung (Nugraha, 2015). Setelah didapati simplisia yang kering yaitu ditandai dengan sampel yang mengalami

perubahan warna serta mudah dipatahkan, sampel ditimbang dan kemudian dihaluskan menggunakan blender, lalu diayak hingga didapati bubuk yang halus. Serbuk yang didapat disimpan dalam wadah yang bersih, kering, dan tertutup rapat.

3. Standarisasi Simplisia

a. Susut pengeringan

Penetapan susut pengeringan serbuk daun petai cina (*Leuncaena leucocephala*) dengan cara menimbang serbuk daun petai cina (*Leuncaena leucocephala*) sebanyak 2 gram. Susut pengeringan diukur dengan alat *Moisture Balance* yang dilakukan sebanyak 3 kali. Suhu diatur 105°C selama 15 menit dan dihidupkan. Setelah alat berbunyi menandakan pengujian telah selesai. Susut pengeringan memenuhi syarat bila suatu serbuk simplisia tidak boleh lebih dari 10%.

b. Uji kadar air

Kadar air pada simplisia ditentukan dengan alat *Moisture Balance*. Simplisia ditimbang sebanyak 5 gram kemudian diletakkan ke dalam cawan alumunium pada alat dengan cara disebar ke seluruh bagian cawan. Suhu alat diatur menjadi 105°C. Nilai kadar air tertera pada alat setelah pengujian selesai dilakukan. Prosedur pengukuran kadar air direplikasi hingga 3 kali (Nabila, 2023).

4. Pembuatan ekstrak etanol 96% daun petai cina

Metode yang digunakan pada praktikum kali ini adalah ekstraksi maserasi. Serbuk simplisia 500 g yang telah terbentuk dilakukan proses maserasi dengan melakukan perendaman menggunakan etanol 96% sebanyak 5000 mL selama 5 hari diaduk sekali setiap hari dengan perbandingan 1:10. Filtrat ekstrak daun petai cina (*Leuncaena leucocephala*) dipekatkan dengan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental yang bebas dari pelarut. Ekstrak daun petai cina (*Leuncaena leucocephala*) dikentalkan diatas waterbath.

5. Standarisasi Ekstrak

a. Uji Bebas Etanol

Ekstrak daun petai cina (*Leuncaena leucocephala*) dimasukkan ke dalam tabung reaksi ditambahkan asam asetat dan asam sulfat kemudian dipanaskan. Hasil positif bebas etanol jika tidak terbentuk bau ester yang khas dari etanol (Agustie & Samsumaharto, 2013).

b. Uji Susut Pengeringan

Penetapan susut pengeringan ekstrak daun petai cina (*Leuncaena leucocephala*) dengan cara menimbang ekstrak daun petai cina (*Leuncaena leucocephala*) sebanyak 2

gram. Susut pengeringan diukur dengan alat *Moisture balance* yang dilakukan sebanyak 3 kali. Suhu diatur 105°C selama 3 menit dan sampai alat berbunyi yang menandakan pengujian telah selesai. Susut pengeringan memenuhi syarat bila suatu ekstrak simplisia tidak boleh lebih dari 10% (Mancak, 2018).

c. Uji Kadar Air

Uji kadar air ekstrak dilakukan menggunakan alat *moisture balance*. Penetapan kadar air ekstrak dilakukan dengan memasukkan masing-masing 2 gram sampel ekstrak ke dalam alat *moisture balance*, suhu diatur 105°C dan ditunggu hingga alat memperlihatkan hasil kadar air dengan satuan % (Indriana, 2021).

6. Uji Organoleptis

Uji organoleptis dilakukan untuk pengenalan awal yang sederhana dan seobyektif mungkin. Uji dilakukan dengan menggunakan panca indera meliputi pengenalan bentuk, bau, rasa dan warna dari ekstrak (Sulistiyawati *et al.*, 2018)

7. Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder

a. Uji Flavonoid

Pengujian senyawa flavonoid dilakukan dengan cara: Ekstrak daun petai cina (*Leuncaena leucocephala*) sebanyak 50 mg ditambahkan dengan dilarutkan dalam 5 mL etanol kemudian ambil 2 mL dan masukan dalam tabung reaksi, tambahkan 30 mg serbuk Mg, masukkan HCl pekat sebanyak 2 mL sedikit demi sedikit. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah hingga merah lembayung (Hanani, 2015).

b. Uji Alkaloid

Ekstrak sebanyak 2 gram ditambahkan 1 mL kloroform dan ditambahkan beberapa tetes amonia. Fraksi kloroform dipisahkan dan diasamkan dengan beberapa tetes H₂SO₄ pekat. Fraksi asam diambil dan dibagi menjadi 3 tabung, kemudian ditambahkan pereaksi Dragendorf, Meyer, dan Wagner. Keberadaan alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan putih pada pereaksi Meyer, endapan merah pada pereaksi Dragendorf, dan endapan coklat pada endapan pereaksi Wagner (Harborne, 2022).

c. Uji Terpenoid

Pengujian senyawa terpenoid dilakukan dengan cara: Ekstrak kental daun petai cina (*Leuncaena leucocephala*). dilarutkan dalam 0,5 ml kloroform dan direaksikan dengan 0,5 mL asam asetat anhidrat. Campuran tersebut ditambah 1-2 mL H₂SO₄ pekat melalui dinding tabung. Hasil positif terpenoid ditunjukkan dengan terbentuknya cincin

kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut, sedangkan hasil positif steroid ditunjukkan dengan perubahan warna hijau kebiruan (Abdillah, 2020).

d. Uji Saponin

Pengujian senyawa saponin dilakukan dengan cara memasukkan larutan ekstrak etanol daun petai cina (*Leuncaena leucocephala*) sebanyak 1 mL dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 10 mL akuades dan dikocok kuat selama 10 menit. Hasil positif apabila terdapat buih terbentuk stabil selama tidak kurang dari 10 menit (Hanani, 2015).

e. Tanin

Pengujian senyawa tanin dilakukan dengan cara melarutkan ekstrak etanol daun petai cina (*Leuncaena leucocephala*) sebanyak 100 mg dengan 10 mL akuades, kemudian dididihkan dan disaring, ambil 2 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambah 2-3 tetes larutan FeCl_3 1%. Hasil positif ditunjukkan dengan perubahan warna hijau kehitaman (Hanani, 2015).

8. Skrining Fitokimia Secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

a. Flavonoid

Ekstrak dilarutkan dalam 2 mL etanol, ditotolkan pada lempeng KLT dengan Panjang plat KLT 7cm dengan jarak eluen 5cm. Identifikasi digunakan eluen kloroform : etil asetat (6:4). Setelah itu eluen dijenuhkan dalam chamber dengan menggunakan kertas saring. Kemudian lempeng KLT yang telah ditotol dengan ekstrak dimasukkan dalam chamber dan kemudian dielusi. Pengamatan dilakukan dalam UV 254 nm kemudian dideteksi bercak dengan menyemprotkan preaksi Libermann-Buchard. Nilai R_f noda dihitung dan warna yang timbul dicatat di modifikasi dari (Hanani, 2015).

b. Alkaloid

Ekstrak dilarutkan dalam 2 mL etanol, ditotolkan pada lempeng KLT dengan Panjang plat KLT 7cm dengan jarak eluen 5cm. Identifikasi digunakan eluen (n-heksan: etil asetat: toluen) (6:2:2). Setelah itu eluen dijenuhkan dalam chamber dengan menggunakan kertas saring. Kemudian lempeng KLT yang telah ditotol dengan ekstrak dimasukkan dalam chamber dan kemudian dielusi. Pengamatan dilakukan dalam UV 366 nm kemudian dideteksi bercak dengan menyemprotkan preaksi dragendorff. Nilai R_f noda dihitung dan warna yang timbul dicatat dimodifikasi dari (Hanani, 2015).

c. Terpenoid

Ekstrak dilarutkan dalam 2 mL etanol, ditotolkan pada lempeng KLT dengan Panjang plat KLT 7cm dengan jarak eluen 5cm. Identifikasi digunakan eluen *n*-heksan: etil asetat (9:1). Setelah itu eluen dijenuhkan dalam chamber dengan menggunakan

kertas saring. Kemudian lempeng KLT yang telah ditotol dengan ekstrak dimasukkan dalam chamber dan kemudian dielusi. Pengamatan dilakukan dalam UV 254 nm kemudian dideteksi bercak. Nilai Rf noda dihitung dan warna yang timbul dicatat di modifikasi dari (Hanani, 2015).

d. Saponin

Ekstrak dilarutkan dalam kloroform, ditotolkan pada lempeng KLT dengan Panjang plat KLT 7cm dengan jarak eluen 5cm. Identifikasi digunakan eluen kloroform: metanol: air (6:3:1). Setelah itu eluen dijenuhkan dalam chamber dengan menggunakan kertas saring. Kemudian lempeng KLT yang telah ditotol dengan ekstrak dimasukkan dalam chamber dan kemudian dielusi. Pengamatan dilakukan dalam UV 254 nm kemudian dideteksi bercak dengan menyemprotkan pereaksi Libermann-Buchard. Nilai Rf noda dihitung dan warna yang timbul dicatat di modifikasi dari (Hanani, 2015).

e. Tanin

Ekstrak dilarutkan dalam 2 mL etanol, ditotolkan pada lempeng KLT. Identifikasi digunakan eluen toluen: aseton: formiat (3:3:4). Setelah itu eluen dijenuhkan dalam chamber dengan menggunakan kertas saring. Kemudian lempeng KLT yang telah ditotol dengan ekstrak dimasukkan dalam chamber dan kemudian dielusi. Pengamatan dilakukan dalam UV 254 nm kemudian dideteksi bercak. Nilai Rf noda dihitung dan warna yang timbul dicatat di modifikasi (Hanani, 2015).

9. Fraksinasi

Fraksinasi dilakukan dengan cara menimbang 10 gram ekstrak daun petai cina (*Leuncaena leucocephala*) dilarutkan dalam 100 mL air hangat kemudian dimasukkan dalam corong pisah kemudian difraksinasi dengan *n*-heksana sebanyak 100 ml. Kemudian gojog dan didiamkan sampai terbentuk 2 lapisan (lapisan aquadest dibawah dan lapisan *n*-heksan diatas), kemudian ambil lapisan *n*-heksana (replikasi 3 kali). Fraksi selanjutnya dilakukan penambahan etil asetat sebanyak 100 mL kedalam lapisan kemudian digojog dan didiamkan sampai terbentuk 2 lapisan (lapisan aquadest dibawah dan lapisan etil asetat diatas). Lalu diambil etil asetat (replikasi 3 kali). Fraksi etanol air, fraksi etil asetat, dan fraksi *n*-heksana selanjutnya dipekatkan dengan Rotary evaporator dan dikentalkan diatas waterbath (Abdillah, 2020).

10. Uji Aktivitas Antibakteri

Langkah-langkah dalam pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan fraksi daun petai cina (*Leuncaena leucocephala*) adalah sebagai berikut :

a. Penyiapan dan Sterilisasi Alat

Alat yang digunakan pada uji antibakteri dicuci bersih, dikeringkan, dan masing-masing dibungkus dengan dengan kertas lalu disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi selama 15 menit. Ose disterilkan dengan cara pemijaran secara 15 menit sedangkan alat yang tidak tahan panas disterilkan dengan alkohol (Kadarwenny, 2017).

b. Peremajaan Bakteri

Peremajaan bakteri dilakukan dengan jarum ose steril diambil satu biakan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 kemudin digores pada media pembuatan MHA (*Mueller Hinton Agar*) miring lalu disimpan dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37°C (Ngajow *et al.*, 2013)

c. Pembuatan Media

1. Media Inokulasi

Sebanyak 0,46 gram media agar MHA ditambahkan 20 mL aquades, kemudian dipanaskan sampai larut. Sebanyak 5 mL media dituang ke dalam tabung reaksi steril dan tutup dengan kapas yang dilapisi dengan alumunium foil. Media disterilkan dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C. Kemudian dibiarkan pada suhu ruangan selama 30 menit pada posisi miring sampai media memadat. Bakteri uji diambil dengan jarum ose steril, lalu ditanamkan pada media agar miring dengan cara menggores dan diinkubasi (Ngajow *et al.*, 2013)

2. Pembuatan Larutan *Standar Mc Farland*

Larutan *McFarland* 0,5 biasa digunakan sebagai pembanding kekeruhan biakan bakteri dalam medium cair dengan kepadatan antara 1×10^7 sel/ml - 1×10^8 sel/ml (Quelab, 2005). Urutan kerja pembuatan larutan *Mc Farland* 0,5 menurut Nurhayati (2007) adalah yaitu Sebanyak 0,05 ml *Barium Clorida* ($BaCl_2$) 1% dalam akuades ditambahkan 9,95 ml Asam Sulfat (H_2SO_4) 1%. Kemudian disimpan di tempat yang terhindar dari cahaya matahari langsung.

3. Pensuspensi Bakteri

Sebanyak 0,46 gram media BHI ditambahkan 20 mL aquades dimasukkan pada tabung reaksi dan distrerilisasi. Biakan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang telah diinkubasi, diinokulasikan dengan ose steril ke dalam media BHI sebanyak 5 mL kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil inkubasi ditambahkan NaCl 0,9% steril sampai diperoleh kekeruhan sama dengan standar *McFarland* nomor 0,5 ($1,5 \times 10^8$ CFU/mL) (Munawar, 2016).

4. Media Pengujian

Sebanyak 0,46 gram media agar MHA ditambahkan 20 mL aquades dimasukkan pada tabung reaksi dan disterilisasi beserta alat-alat dan bahan yang lain seperti cawan petri, tabung reaksi kosong, jarum ose, dan pinset pada autoklaf sampai suhunya mencapai 121°C selama 15 menit (Munawar, 2016).

d. Uji Fisiologis

1. Pewarnaan Gram

Preparat bakteri dibuat dengan cara menaruh satu ose biak pada gelas obyek setipis mungkin, dikeringkan, dan difiksasi panas. Genangi preparat dengan Karbol Gentien Violet (Cat Gram A) selama 1 menit, warna dibuang, genangi dengan iodine gram (Cat Gram B) selama 1 menit. Preparat dibilas dengan air secara perlahan, kemudian pucatkan dengan alkohol 95% (Cat Gram C). Alkohol dibuang, preparat dicuci dengan air secara perlahan dan diberi pewarna safranin (Cat Gram D) selama 45 detik. Warna kemudian dibersihkan dengan air secara perlahan dan keringkan. Pengamatan morfologi sel dan warnanya dilakukan di bawah mikroskop. Apabila bakteri berwarna keunguan maka dikelompokkan sebagai Gram positif dan apabila berwarna merah berarti bakteri Gram negatif. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif (Auliya, 2019).

2. Uji Biokimia *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Identifikasi secara biokimia menggunakan uji katalase. Uji katalase dilakukan dengan cara satu ose bakteri dituangkan pada *object glass* yang telah terdapat H₂O₂ 3%. Amati adanya gelembung gas atau tidak. *Staphylococcus aureus* tidak ada gelembung atau negatif (Maharani, 2021).

11. Pengujian Aktivitas Antibakteri Fraksi n-Heksan, Etil asetat dan Air Ekstrak Konsentrasi 50% Sebagai Uji Pendahuluan Secara Difusi

Uji aktivitas antibakteri dari ekstrak dan fraksi-fraksi hasil fraksinasi n-heksan, etil asetat dan air dilakukan untuk mengetahui mana yang memiliki senyawa aktif. Dilakukan dengan metode difusi, sebagai berikut: cawan petri berisi agar dan bakteri diletakkan kertas cakram diameter 6 mm yang telah dicelupkan dengan ekstrak kental, fraksi n-heksan, etil asetat dan air masing-masing konsentrasi 50% dengan pelarut *dimetilsulfoksida* (DMSO). Pembuatan konsentrasi 50% dengan cara menimbang masing-masing ekstrak dan fraksi sebanyak 50 mg, kemudian dilarutkan pada 1 mL DMSO, dengan kontrol (+) *amoxicillin discs* 30µg/mL dan kontrol (-) DMSO. Setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C diukur diameter hambatan yang terbentuk. Pengujian aktifitas antibakteri dikatakan positif

apabila disekitar kertas cakram terdapat zona bening yang bebas dari pertumbuhan bakteri (Erlyn, 2016).

12. Pengujian Antibakteri Ekstrak Terbaik dengan Metode Difusi

Pengujian aktivitas antibakteri sampel terbaik dilakukan dengan metode difusi. Dibuat seri konsentrasi 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,565%. Larutan uji 25% dengan cara menimbang 0,25 mg sampel kemudian melarutkan pada 1 mL DMSO. Larutan uji 25% tersebut diambil 0,5 mL kemudian dilarutkan dengan DMSO hingga 1 mL sehingga didapatkan konsentrasi 12,5%. Hal yang sama dilakukan hingga didapatkan semua konsentrasi 6,25%; 3,125%; 1,565%. Kemudian cawan petri berisi agar dan bakteri diletakkan kertas cakram diameter 6 mm yang telah dicelupkan pada masing-masing konsentrasi larutan uji, kontrol negatif *dimetilsulfoksida* (DMSO), dan kontrol positif *amoxicillin disk*. Setelah diinkubasi selama 24 jam pada inkubator dengan suhu 37°C diukur diameter hambat yang terbentuk (Erlyn, 2016).

13. Pengujian Antibakteri dengan Penentuan Nilai KHM (Kadar Hambat Minimum) dengan Metode Dilusi Cair

Larutan uji yang digunakan untuk menentukan Kadar Hambat Minimum (KHM) adalah hasil uji aktivitas antibakteri yang paling aktif dibuat dengan konsentrasi 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,565%, digunakan sebanyak 8 tabung reaksi steril disiapkan dan diberi label 1-8. Melarutkan 0,5 gram ekstrak ke dalam 1 mL DMSO pada tabung 1 sehingga didapatkan konsentrasi larutan induk 50%, kemudian mengambil 0.5 mL larutan induk 50% diencerkan ke dalam tabung 2 untuk memperoleh konsentrasi 25%. Hal yang sama dilakukan hingga tabung 8 hingga didapatkan semua konsentrasi. Nilai Kadar Hambat Minimum (KHM) ditentukan dengan menggunakan 2 mL media NB (*Nutrient Broth*) yang dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan dengan larutan uji sebanyak 1 mL dan 1 mL biakan bakteri *Staphylococcus aureus*. Kontrol positif dibuat dengan menggunakan media BHI sebanyak 2 mL yang ditambahkan dengan 1 mL antibiotik amoxicillin 1% dan 1 mL biakan bakteri *Staphylococcus aureus*. Sedangkan untuk membuat kontrol negatif, dilakukan dengan menggunakan media NB (*Nutrient Broth*) sebanyak 2 mL yang ditambahkan dengan 1 mL DMSO 1% dan 1 mL biakan bakteri *Staphylococcus aureus*. Setelah itu, semua larutan uji, kontrol positif amoxicilin 1% dan kontrol negatif DMSO diinkubasi selama 1 hari (24 jam), kemudian diamati kekeruhan pada larutan. Parameter yang digunakan ialah kekeruhan pada larutan uji (Rollando, 2019).

14. Pengujian Antibakteri dengan Penentuan Nilai KBM dengan Metode Dilusi Padat

Penentuan nilai KBM (Kadar Bunuh Minimum) pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan semua larutan uji dengan konsentrasi sebesar 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,565%. Uji dilakukan dengan cara menggoreskan sebanyak satu ose larutan uji yang digunakan untuk uji penentuan nilai KBM pada media MHA yang sudah disiapkan di dalam cawan petri. Larutan yang digunakan adalah larutan uji penentuan KBM yang bening/tidak ada tanda-tanda pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Kemudian diinkubasi selama 1 hari (24 jam). Parameter yang digunakan ialah ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri pada media agar, yang ditandai dengan ada atau tidaknya daerah atau bintik-bintik berwarna putih pada media agar (Rollando, 2019).

Analisis data dalam penelitian ini menggunakan perangkat lunak SPSS (*Statistical Product for Service Solutions*) merupakan program komputer statistik yang mampu memproses data statistik secara cepat dan akurat. Data penelitian ini dianalisis dengan menggunakan SPSS 23, menggunakan uji One Way ANOVA (*Analysis of Varians*) dan perlu dilakukan uji lanjutan yaitu *Post Hoc Test*. Uji *Post Hoc* yang dilakukan dengan metode *Tukey*. Uji tersebut bertujuan untuk mengetahui perbedaan antara ekstrak daun petai cina (*Leuncaena leucocephala*) dan fraksi dengan kontrol positif amoksisilin. Adanya perbedaan signifikan pada uji ditandai dengan nilai $p < 0,05$. Perbedaan signifikan ini menunjukkan bahwa fraksi daun petai cina (*Leuncaena leucocephala*) dengan ketiga pelarut tersebut berbeda secara signifikan terhadap kontrol positif.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Determinasi Tanaman

Sampel tanaman daun petai cina, diambil di Kabupaten Sragen, kemudian dilakukan determinasi di Laboratorium Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional Tawangmangu. Determinasi merupakan prosedur yang bertujuan untuk mencocokkan tanaman berdasarkan ciri dan morfologi dari tanaman tersebut dengan taksonomi yang benar (Siswanto, *et al.*, 2022).

Tujuan dari determinasi ini adalah untuk meminimalisir kesalahan dalam penggunaan sampel untuk penelitian. Hasil determinasi menunjukkan bahwa sampel yang dibawa adalah tanaman petai cina dengan nama ilmiah *Leuncaena leucocephala*, nama familia *Fabaceae*.

A. Penyiapan dan Penyerbukan Daun Petai Cina

Tanaman Petai Cina yang digunakan pada penelitian ini adalah daunnya. Langkah yang dilakukan ialah sortasi basah pada daun yang diperoleh dari Kabupaten Sragen, dipilih daun

yang segar dan tidak menguning. Setelah semua daun petai cina disortasi basah, dan di cuci hingga bersih dengan air mengalir untuk membersihkan kotoran yang menempel pada daun. Setelah dilakukan pencucian, lalu di tiriskan untuk menghilangkan sisa air yang berakibat pada penurunan kualitas simplisia (Nugraha, 2015)

Proses pengeringan dilakukan dengan menjemur simplisia yang telah di cuci di bawah sinar matahari secara tidak langsung, dengan ditutupi menggunakan kain hitam. Penggunaan kain hitam ini berfungsi untuk mempertahankan senyawa aktif pada simplisia agar tidak rusak akibat pemanasan sinar matahari secara langsung (Nugraha, 2015). Setelah proses pengeringan, maka kemudian daun petai cina diserbukkan. Pembuatan serbuk dilakukan dengan cara menghaluskan daun yang sudah kering menggunakan blender lalu diayak dengan ayakan mesh 40 (Setiadi, dan Bulu, 2022). Tujuan penyerbukan ini adalah untuk memperluas area permukaan simplisia dengan cairan penyari, sehingga cairan penyari dapat masuk ke rongga sel simplisia secara maksimal (Supriningrum, *et al.*, 2018).

Tabel 1. Hasil Penyiapan dan Penyerbukan Simplisia

No.	Proses	Berat awal (kg)	Berat akhir (kg)	Keterangan
1	Pemanenan	2,325	2,325	Daun Segar
2	Pengeringan	2,325	0,725	Simplisia Kering
3	Penghalusan	0,725	0,705	Bubuk Halus Simplisia

Berdasarkan pada Tabel 1 pemanenan diperoleh daun dengan berat 2,325kg, kemudian dilakukan pengeringan diperoleh hasil 0,725kg, sehingga efektivitas pengeringannya sebesar 68,81%. Pada proses penghalusan didapatkan hasil sebesar 0,705kg.

B. Standarisasi Simplisia

Standarisasi simplisia dilakukan untuk memastikan bahwa simplisia yang dibuat telah memenuhi standar kualitas mutu simplisia. Kualitas simplisia yang diidentifikasi yaitu organoleptis, kadar air, dan susut pengeringan (Nan, 2022). Hasil standarisasi simplisia daun petai cina dapat dilihat pada Tabel 2. berikut ini:

Tabel 2. Hasil Standarisasi Simplisia Daun Petai Cina

Parameter	Keterangan
Organoleptis	Berwarna coklat, berbau aromatis daun petai cina, pahit, berbentuk serbuk
Kadar Air	I = 2,08% II = 2,17% III = 2,15%

	Rata-rata = 2,13%
Susut Pengerinan	I = 2,09%
	II = 2,15%
	III = 2,16%
	Rata-rata = 2,13%

Standarisasi simplisia yang merupakan parameter spesifik adalah organoleptis yaitu kualitas simplisia diamati berdasarkan pengamatan menggunakan panca indra meliputi bau, warna, rasa, dan bentuk (Utami, 2020). Hasil dari pengamatan organoleptis serbuk simplisia daun petai cina adalah berwarna coklat, berbau aromatis daun petai cina, rasanya pahit dan berbentuk serbuk.

Parameter yang selanjutnya adalah kadar air dan susut pengeringan, dimana keduanya menggunakan alat *moisture balance*. Hasil pengujian kadar air dan susut pengeringan diperoleh kadar dua-duanya <10%, sehingga memenuhi standar kualitas simplisia (Kurniasari, *et al.*, 2015). Kadar air pada simplisia diatas 10% berkaitan dengan persyaratan untuk ketahan dan kualitas simplisia, jika masih banyak air yang terkandung dalam simplisia akan membuat simplisia mudah busuk dan ditumbuhi jamur (Indrasuari, *et al.*, 2015).

C. Ekstraksi Serbuk Daun Petai Cina

Serbuk simplisia yang telah distandarisasi selanjutnya dilakukan penarikan metabolit sekunder yang terkandung dalam simplisia serbuk daun petai cina dengan penggunaan pelarut yang sesuai. Metode penarikan metabolit sekunder yang terkandung dalam serbuk daun petai cina dilakukan dengan cara maserasi. Serbuk daun petai cina ditimbang 500 gram dimasukkan kedalam toples maserasi, ditambahkan etanol 96% dengan perbandingan 1:10 sebanyak 5 liter. Maserasi dilakukan selama 5 hari sesekali sambil diaduk, setelah itu di saring dengan kain flaner lalu di saring kembali menggunakan kertas saring agar tidak ada endapan pada hasil maserasi. Filtrat dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* lalu di kentalkan menggunakan *waterbath* (Mawarda, *et al.*, 2020).

Tabel 3. Hasil Persentase Ekstrak Daun Petai Cina

Bobot Serbuk	Bobot Ekstrak	Persentase	Pustaka (FHI)
500 gram	37 gram	7,4%	7,2%

Berdasarkan Tabel 3. dapat dilihat hasil persentase rendemen ekstrak etanol 96% daun petai cina diperoleh sebanyak 7,4%. Hasil ini memenuhi persyaratan Farmakope Herbal Indonesia yaitu rendemen tidak kurang dari 7,2% (Depkes RI, 2000). Hasil uji organoleptis ekstrak daun petai cina berwarna hijau kehitaman, berbentuk kental, berbau khas aromatis daun petai cina, dan rasanya pahit.

D. Standarisasi Ekstrak Daun Petai Cina

Ekstrak kental yang diperoleh dari hasil ekstraksi, perlu dilakukan standarisasi untuk memastikan bahwa kualitas ekstrak sesuai dengan persyaratan. Ekstrak distandarisasi dengan 2 parameter yaitu parameter spesifik dan nonspesifik, dimana parameter spesifik meliputi organoleptis, bebas etanol, dan identifikasi kimia, sedangkan parameter nonspesifik meliputi susut pengeringan dan kadar air (Najib, *et al.*, 2015)

1. Uji Parameter Nonspesifik

a. Uji Kadar Air

Penentuan kadar air dalam ekstrak bertujuan untuk memberikan batasan minimal mengenai besarnya kandungan air dalam ekstrak. Semakin tinggi kadar air yang terkandung dalam ekstrak, maka makin mudah ekstrak tersebut ditumbuhi jamur, kapang atau bakteri yang mengakibatkan penurunan kualitas mutu serta aktivitas biologi ekstrak selama penyimpanan (Najib, *et al.*, 2015). Penetapan kadar air ekstrak daun petai cina dengan menimbang ekstrak daun petai cina sebanyak 2 gram. Uji kadar air diukur dengan alat moisture balance dengan suhu 105°C, ditunggu sampai alat berbunyi menandakan analisis telah selesai.

Tabel 4. Hasil Uji Kadar Air Ekstrak Daun Petai Cina

Replikasi	Bobot Sampel (gram)	Persentase Kadar Air (%)
I	2	6,42%
II	2	6,34%
III	2	6,45%
Rata-rata		6,4%

Hasil kadar air ekstrak yaitu sebesar 6,4 %. Kadar air ekstrak Farmakope Herbal Indonesia bila suatu ekstrak tidak boleh lebih dari 10%, jika terlalu tinggi dapat mengubah komposisi kimia dari ekstrak sehingga menurunkan kualitas simplisia sehingga mudah ditumbuhi bakteri (Indriana, *et al.*, 2021).

b. Uji Susut Pengeringan

Uji susut pengeringan ialah untuk mengidentifikasi jumlah zat yang menguap atau hilang akibat adanya pemanasan (Fajriyah, dan Qulub, 2018). Penetapan susut pengeringan ekstrak daun petai cina dengan menimbang ekstrak daun petai cina sebanyak 2 gram. Susut pengeringan diukur dengan alat moisture balance dengan suhu 105°C dan ditunggu sampai alat berbunyi yang menandakan analisis telah selesai.

Tabel 5. Hasil Uji Susut Pengeringan Ekstrak Daun Petai Cina

Replikasi	Bobot Sampel (gram)	Persentase Susut Pengeringan (%)
-----------	---------------------	----------------------------------

I	2	6,41%
II	2	6,35%
III	2	6,43%
Rata-rata		6,39%

Hasil susut pengeringan yaitu sebesar 6,39%. Susut pengeringan memenuhi syarat Farmakope Herbal Indonesia bila suatu ekstrak tidak lebih dari 10%, apabila terlalu tinggi dapat mengubah komposisi kimia dari ekstrak sehingga menurunkan kualitas simplisia dan mudah ditumbuhi bakteri (Mancak, 2018). Pengujian ini menunjukkan bahwa susut pengeringan dan kadar air memenuhi persyaratan mutu ekstrak yang ditetapkan (BPOM RI, 2022).

2. Uji Parameter Spesifik

a. Uji Bebas Etanol Ekstrak

Tabel 6. Hasil Uji Bebas Etanol Ekstrak Daun Petai Cina

Pereaksi	Hasil
Ekstrak+asam asetat+asam sulfat (Agustie, dan Samsumaharto, 2013)	Positif

Hasil pengujian bebas etanol pada tabel 6 menunjukkan hasil yang positif, dimana ekstrak yang dibuat sudah bebas dari pelarut etanol dikarenakan tidak menunjukkan adanya aroma ester yang khas dari etanol saat direaksikan dengan asam asetat dan asam sulfat (Agustie, dan Samsumaharto, 2013).

b. Skrining Fitokimia dan Identifikasi Kromatografi lapis Tipis

Skrining fitokimia adalah salah satu parameter spesifik yang digunakan untuk menetapkan mutu simplisia (Najib, *et al.*, 2015). Tujuan dilakukan skrining fitokimia ini untuk mengidentifikasi kandungan senyawa kimia atau metabolit sekunder pada tanaman sehingga mampu digunakan untuk identifikasi aktivitas biologi simplisia tersebut (Fajriyah, dan Qulub, 2018). Identifikasi kandungan metabolit sekunder tidak hanya berhenti pada skrining fitokimia yang merupakan identifikasi awal, tetapi dilanjutkan dengan kromatografi lapis tipis untuk mempertegas kandungan senyawa metabolit sekunder yang didapatkan (Sumiwi, *et al.*, 2013). Hasil skrining fitokimia pada ekstrak daun petai cina dapat dilihat pada Tabel 7 berikut.

Tabel 7. Hasil Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Petai Cina.

Berdasarkan hasil skrining fitokimia pada Tabel 7. Menunjukkan bahwa ekstrak

No	Senyawa Aktif	Pereaksi	Keterangan	Hasil	Kesimpulan	Gambar
1	Flavonoid	Serbuk Magnesium dan HCl Pekat	Terbentuknya warna jingga sampai merah menunjukkan adanya flavon (Zuraida, <i>et al.</i> , 2017)	Ada perubahan warna merah menjadi merah	Positif	
2	Alkaloid	HCl 2% Reagen Dragendrof, Wagner	Dragendrof : Berwarna merah bata atau jingga (Zuraida, <i>et al.</i> , 2017) Wagner ; Terdapat endapan coklat	Berwarna merah bata Endapan coklat	Positif Positif	 
3	Triterpenoid	Kloroform Reagen : H ₂ SO ₄	Positif mengandung triterpenoid terbentuk kuning (Ariyani, 2015)	Terdapat warna merah	Positif	
4	Saponin	Etanol 70% dan aquadest	Adanya busa stabil menunjukkan adanya saponin (Hanani, 2015)	Stabil positif	Positif	
5	Tanin	FeCl ₃ 1 %	Terbentuknya kebiruan (Abdul K, 2023)	Terjadi perubahan warna menjadi hitam	Positif	

etanol daun petai cina mengandung senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, terpenoid, saponin dan tanin. Uji tabung adalah pengujian identifikasi senyawa metabolit sekunder menggunakan pereagen yang spesifik dari masing-masing metabolit sekunder menggunakan tabung reaksi (Rahmayanti, *et al.*, 2017).

Pada pengujian flavonoid dimana untuk skrining fitokimia digunakan senyawa HCl pekat dan logam Mg. Logam Mg dan HCl pekat dapat mereduksi inti benzopiron pada struktur flavonoid sehingga menyebabkan perubahan warna merah, jingga, atau keunguan. Pada penelitian ini dihasilkan warna merah orange/jingga sehingga diperkirakan warna itu adalah flavon. Pengujian senyawa alkaloid menggunakan pereagen Dragendroff atau Wagner, dimana keduanya memiliki prinsip terbentuknya

endapan akibat adanya pergantian ligan (Nurhayati, 2023). Pada reaksi alkaloid dengan pereagen Dragendroff terjadi kompleks kalium alkaloid dengan tetraiodobismutat yang akan akan membentuk endapan merah (Zuraida, *et al.*, 2017).

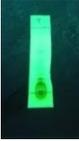
Pada reaksi terpenoid akan positif jika terbentuk cincin berwarna coklat kekuningan karena diakibatkan terjadi oksidasi melalui pembentukan ikatan rangkap terkonjugasi. Prinsip ini adalah terjadinya kondensasi atau pelepasan H₂O dan penggabungan karbokation (Ariyani, 2015).

Identifikasi saponin jika positif ditunjukkan dengan terbentuknya buih saat dikocok kuat selama 10 menit dan tidak hilang saat ditambahkan HCl 2N (Hanani, 2015). Struktur triterpene yang mengikat satu atau lebih gula pada saponin menyebabkan saponin memiliki gugus hidrofilik dan hidrofobik (Nurhayati, 2023). Kedua gugus inilah yang menyebabkan saat saponin dikocok kuat-kuat, gugus hidrofilik akan berikatan dengan air dan gugus hidrofobik akan mengikat udara membentuk buih (Saifuddin, *et al.*, 2014). Penambahan HCl menyebabkan tingkat kepolaritasan gugus hidrofil bertambah, dan makin banyak berikatan dengan udara sehingga buih lebih stabil (Nurhayati, 2023). Pada pengujian tanin dengan FeCl₃ akan menyebabkan warna hijau kehitaman dikarenakan adanya gugus fenol dalam ekstrak yang merupakan kelompok senyawa polifenol (Abdul K, 2023).

Selanjutnya dilakukan identifikasi kromatografi lapis tipis (KLT) untuk memastikan dan memisahkan metabolit sekunder pada ekstrak daun petai cina dengan dibantu fase gerak dan fase diam KLT menggunakan 3 deteksi yaitu deteksi UV 254, UV 366, dan pereagen semprot (Fajriyaty, *et al.*, 2018). Hasil pengujian KLT dapat dilihat pada tabel 8 berikut.

Tabel 8. Hasil Pengujian KLT Ekstrak Daun Petai Cina

No	Senyawa Aktif	Deteksi	Nilai Rf	Gambar		
				UV 254	UV 366	Tampak
1	Flavonoid	FeCl ₃	0,5 (Maulana, 2018)			
2	Alkaloid	Dragendroff	0,64 (Maulana, 2018)			

3	Terpenoid	Lieberman bouchardat	0,35 (Maulana, 2018)			
4	Saponin	Anisaldehyd	0,57 (Maulana, 2018)			
5	Tanin	FeCl3	0,71 (Maulana, 2018)			

Berdasarkan hasil identifikasi dengan kromatografi lapis tipis (KLT) diperoleh hasil identifikasi menggunakan deteksi FeCl_3 berwarna kuning jingga sehingga diidentifikasi sebagai flavonoid dengan nilai R_f 0,5. Nilai R_f ini mengidentifikasi bahwa flavonoid yang terdeteksi pada bercak plat KLT bersifat semipolar. Penelitian dari (Maulana, 2018) menyatakan dimana bercak yang berfluoresensi kuning diidentifikasi sebagai flavon dengan R_f sekitar 0,5 – 0,89.

Identifikasi selanjutnya menggunakan deteksi bercak *dragendroff* dimana pereaksi tersebut spesifik digunakan untuk mengidentifikasi adanya alkaloid dalam hasil ekstraksi. Bercak dinyatakan positif alkaloid jika dideteksi dengan pereagen *dragendroff* akan berwarna coklat (Maulana, 2018). Nilai R_f diidentifikasi alkaloid berkisar antara 0,16-0,79 (Murtadlo, *et al.*, 2013). Hasil penelitian diatas menunjukkan bercak warna coklat saat dideteksi pereagen *dragendroff* dan memiliki nilai R_f 0,64 sehingga dinyatakan positif alkaloid.

Identifikasi selanjutnya adalah deteksi triterpenoid yang dilakukan menggunakan pereagen *Lieberman Bouchardat*. Golongan triterpenoid akan bereaksi memberikan warna hijau sampai biru dengan pereaksi *Lieberman Biuchardat* (Maulana, 2018). Pada hasil penelitian ini, bercak yang disemprot menggunakan pereaksi *Lieberman Bouchardat* dihasilkan warna hijau kecoklatan dengan nilai R_f 0,35. Secara teori bercak yang diidentifikasi sebagai terpenoid dengan adanya pereaksi *Lieberman Bouchardat* akan berwarna hijau gelap sampai biru dan nilai R_f berkisar antara 0,29-0,95 (Maulana, 2018).

Identifikasi berikutnya adalah saponin dengan pereagen anisaldehyde. Bercak dinyatakan positif dengan pereaksi anisalehid akan berwarna merah jambu sampai ungu dilihat dari sinau UV 366 nm. Nilai R_f saponin berkisar antara 0,16-0,97. Hasil

penelitian menunjukkan bercak berwarna jingga setelah disemprot pereaksi anisaldehyd dengan nilai Rf 0,57 sehingga dinyatakan positif saponin.

Identifikasi tanin dilakukan dengan menggunakan pereaksi semprot FeCl₃, hal ini dikarenakan senyawa tanin dan flavonoid tergolong senyawa fenolik yang akan bereaksi dengan FeCl₃. Tanin dengan pereaksi FeCl₃ akan memberikan warna biru sampai lembayung. Nilai Rf tanin antara 0,19-0,96 (Maulana, 2018). Hasil penelitian diidentifikasi berwarna biru dengan adanya FeCl₃ dengan nilai Rf 0,71 sehingga dinyatakan positif tanin.

E. Fraksinasi Ekstrak Daun Petai Cina

Fraksinasi merupakan teknik pemisahan campuran menjadi beberapa fraksi yang berbeda tingkat kepolaritasannya, dimana metode yang digunakan adalah ekstraksi cair-cair dengan pelarut yang berbeda polaritasnya (Maisyah, *et al.*, 2013). Prinsip ekstraksi cair-cair adalah *like dissolves like* dimana senyawa yang memiliki tingkat kepolaritasan yang sama akan larut pada pelarut yang tingkat kepolaritasannya sama (Wahdaningsih, 2022). Pada penelitian ini dilakukan dengan menimbang ekstrak daun petai cina sebanyak 10 gram, kemudian ditambahkan pelarut dengan tingkat kepolaritasan yang berbeda secara bertahap, dimulai dengan pelarut nonpolar, semipolar, dan polar. Pelarut nonpolar pada penelitian ini adalah n-heksane, semipolar menggunakan etil asetat, dan pelarut polar menggunakan air (sisa fraksinasi). Urutan pemilihan pelarut fraksinasi dari nonpolar ke polar dilakukan agar senyawa metabolit sekunder yang bersifat nonpolar dapat tersari lebih dahulu dengan pelarut nonpolar, karena pelarut polar memiliki rentang yang lebar dan mampu menarik semua senyawa baik yang bersifat nonpolar, semipolar, maupun polar (Hasri, *et al.*, 2016).

Alat yang digunakan untuk proses fraksinasi adalah dengan corong pisah. Hasil fraksinasi ekstrak etanol daun petai cina dapat dilihat pada tabel 9.

Tabel 9. Hasil Fraksinasi Ekstrak Etanol Daun Petai Cina

No	Pelarut	Bobot Ekstrak (gram)	Volume Fraksi (ml)	Bobot Fraksi (gram)	Presentase rendemen (%)	Organoleptis
1	n-Heksane	10	100ml x 3	6,33	63,3%	Ekstrak kental,
2	Etil asetat	10	100ml x 3	1,41	14,1%	bau khas ekstrak,
3	Air	10	sisa	1,3	13%	warna kecoklatan

Berdasarkan hasil fraksinasi di Tabel 9 rendemen paling banyak adalah fraksi nonpolar n-Heksane, yaitu sebesar 63,3%, sedangkan fraksi semipolar etil asetat yaitu 14,1%. Hasil fraksinasi menunjukkan bahwa senyawa metabolit sekunder yang tersari pada ekstrak etanol

96% kebanyakan senyawa yang memiliki kepolaritasan nonpolar, karena pada saat fraksinasi hasil rendemen n-Heksane lebih banyak.

F. Uji Aktivitas Antibakteri

1. Identifikasi Bakteri secara Makroskopis

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan bakteri jenis *Staphylococcus aureus*, yang merupakan bakteri gram positif. Untuk memastikan bakteri yang digunakan sampai penelitian selesai masih tersedia, maka perlu dilakukan peremajaan bakteri. Proses peremajaan bakteri dilakukan dengan cara inokulasi pada medium yang baru dan spesifik untuk mendapatkan biakan bakteri yang murni (Rahman, *et al.*, 2022).

Inokulasi bakteri ini menggunakan media *Mueller Hilton Agar* (MHA) baik ditempatkan di tabung reaksi serta pada cawan petri. MHA adalah salah satu media tumbuh bakteri yang menjadi sumber bagi bakteri baik aerob dan anaerob serta media terbaik untuk pemeriksaan sensitive tes khususnya pada metode difusi *Kirby-Bauer* (Atmojo, 2016). Metode difusi *Kirby-Bauer* ini merupakan metode yang digunakan untuk menentukan aktivitas antibakteri melalui zona hambatnya (Rahman, *et al.*, 2022).

Hasil peremajaan bakteri dapat dilihat pada gambar 10, yang mana bakteri dinyatakan positif apabila pada media MHA terdapat selaput putih bening dipermukaan media. Berdasarkan hasil penampakan secara mikroskopis diatas menunjukkan terdapat sekumpulan bercak seperti selaput berwarna putih kekuningan yang tersebar merata pada media MHA.

Untuk memastikan bakteri yang tumbuh adalah *Staphylococcus aureus* dan bukan cemaran, maka selanjutnya dilakukan pengujian secara makroskopis dengan pengecatan gram dan uji biokimia.

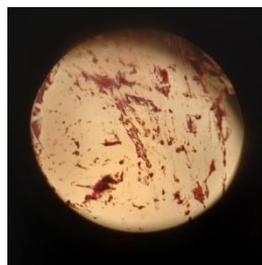
2. Identifikasi bakteri dengan Pengecatan Gram dan Uji Katalase

Salah satu identifikasi untuk memastika bahwa bakteri yang ditumbuhkan dari bakteri induk sudah benar dan tidak ada cemara baik bakteri lain maupun jamur/kapang, maka dilakukan pengujian mikroskopis dan uji biokimia. Pada penelitian ini pengujian mikroskopis menggunakan pengecatan gram sedangkang uji biokimia dilakukan dengan uji katalase.

Pengujian gram dilakukan untuk mengetahui bentuk sel bakteri sekaligus membedakan jenis bakteri berdasarkan gram negatif dan positif (Prianto, *et al.*, 2018). Jika bakteri diamati menggunakan mikroskop berwarna biru, maka diidentifikasi sebagai bakteri

gram positif, namun jika berwarna merah maka diidentifikasi sebagai bakteri gram negatif. Pada bakteri jenis gram positif, warna zat dari zat gram D atau safranin tidak dapat masuk ke dinding sel bakteri, karena warna biru atau ungu dari campuran kristal violet (gram A) dan iodium (gram B) tidak dapat dilunturkan oleh gram C yang berisi alkohol (Auliya, 2019).

Sebaliknya jika warna cat gram A dan cat gram B dapat dilunturkan dengan adanya alkohol (gram C), maka dinding sel bakteri akan dapat terwarnai dengan adanya cat gram D (safranin) yang berwarna merah. Perbedaan antara bakteri gram positif dan negatif selain pewarnaan adalah bakteri gram positif memiliki kandungan lemak yang rendah sebesar 1-4% bila dibandingkan dengan bakteri gram negatif (11-22%) (Prianto, *et al.*, 2018). Pada dinding sel bakteri gram positif hanya memiliki satu lapis membran peptidoglikan yang sangat tebal, sedangkan bakteri gram negatif memiliki lapisan peptidoglikan yang lebih tipis namun memiliki lipopolisakarida yang tebal (Rini, dan Rochmah, 2020). Hasil identifikasi mikroskopis dengan pewarnaan gram dapat dilihat pada gambar 8 berikut



Gambar 8 Hasil Pewarnaan Gram Bakteri *Staphylococcus aureus* berwarna ungu

Berdasarkan hasil pada gambar 8 dibawah mikroskop menunjukkan bahwa bakteri tersebut bergerombol dan berwarna biru/ungu. Hal ini sesuai dengan teori bahwa bakteri *Staphylococcus aureus* adalah jenis bakteri gram positif yang akan memberikan warna biru/ungu pada pengecatan gram.

Selanjutnya dilakukan identifikasi secara biokimia, dimana pada penelitian ini dilakukan uji katalase. Uji katalase adalah pengujian yang dilakukan khususnya untuk membedakan spesies *Staphylococcus* dan *Streptococcus* (Toelle, dan Linda, 2014). Uji katalase dinyatakan positif jika menghasilkan gas atau gelembung O_2 , sebaliknya jika

negatif maka tidak menghasilkan gelembung O₂. Kebanyakan isolate *Staphylococcus sp* akan menghasilkan katalase positif sedangkan *Streptococcus* akan menghasilkan katalase negatif (Yurdakul, *et al.*, 2013). Hasil uji katalase dapat dilihat pada tabel 10 berikut.

Tabel 10. Hasil Uji Katalase Bakteri *Staphylococcus aureus*.

Identifikasi Biokimia	Pengujian	Hasil Uji	Teori	Gambar
Uji Katalase	NaCl 0,9%+koloni bakteri + H ₂ O ₂ 3%	+	Terbentuk gelembung udara dari penambahan H ₂ O ₂ yang terurai menjadi H ₂ dan O ₂ (Rahmawati, dan Wulandari, 2017)	

Berdasarkan hasil pengujian pada tabel diatas menunjukkan bahwa hasil pengujian katalase terdapat gelembung O₂ sehingga dinyatakan katalase positif dan bakteri tersebut adalah *Staphylococcus aureus*.

3. Pengujian Aktivitas Zona Hambat Bakteri sebagai Uji Pendahuluan Secara Difusi

Metode ini dilakukan dengan meletakkan kertas cakram yang telah direndam ekstrak etanol daun petai cina 50%, kemudian diletakkan diatas media padat yang telah diinokulasi bakteri lalu diinkubasi. Pada pengujian ini kontrol (+) yang digunakan adalah amoxicillin 1% dan kotrol (-) DMSO. Setelah diinkubasi pada suhu 37C selama 24 jam diukur diameter hambatan yang terbentuk. Pengujian aktifitas antibakteri dikatakan positif apabila disekitar kertas cakram terdapat zona bening yang bebas dari pertumbuhan bakteri kemudian diukur diameter zona hambat yang terbentuk.

Tabel 11. Kekuatan Daya Hambat Bakteri

No	Diameter Zona Hambat	Kekuatan Zona Hambat
1	>20 mm	Sangat kuat
2	10-20 mm	Kuat
3	5-10 mm	Sedang
4	<5 mm	Lemah

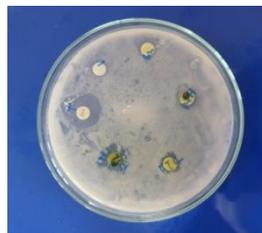
*Sumber data: (Haris, *et al.*, 2017)

Tabel 12 Uji Pendahuluan Antibakteri Konsentrasi secara Difusi

Bahan Uji	Konsentrasi	Daya Hambat	Kategori	Kekuatan Daya Hambat
Amoxicillin 1%	50 %	12,4	Kuat	
Ekstrak	50 %	11,5	Kuat	
Fraksi n-Heksane	50 %	1,6	Lemah	
Fraksi Etil Asetat	50 %	2,3	Lemah	
Fraksi Air	50 %	2,6	Lemah	

Kemampuan ekstrak dan fraksi daun petai cina pada uji pendahuluan dengan konsentrasi 50% dalam menghambat pertumbuhan bakteri dapat ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening disekitar kertas cakram. Ekstrak memiliki zona hambat yang paling besar dibandingkan dengan fraksi yang lainnya yaitu dengan diameter zona hambat ekstrak dengan diameter zona hambat 11,5 mm dikategorikan kuat, lalu fraksi n-Heksane dengan diameter zona hambat 1,6 dikategorikan lemah, lalu fraksi etil asetat dengan diameter zona hambat 2,3 dikategorikan lemah, dan fraksi air dengan diameter 2,6 dikategorikan lemah. Hasil optimasi paling optimal adalah pada ekstrak etanol, yang kemudian dilakukan fraksinasi dengan berbagai konsentrasi.

Adanya perbedaan diameter hambat yang terbentuk dari ekstrak dan fraksi terhadap bakteri uji menunjukkan bahwa adanya perbedaan senyawa aktif yang terkandung pada ekstrak dan fraksi daun petai cina, sehingga kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* juga berbeda-beda. Semakin besar diameter zona hambat yang terbentuk berarti kemampuannya sebagai antibakteri juga besar atau dapat dikatakan memiliki aktifitas antibakteri teraktif. Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan fraksi konsentrasi 50% sebagai uji pendahuluan dapat dilihat pada gambar 9 berikut.



Gambar 9. Uji Pendahuluan Antibakteri Konsentrasi dengan Metode Difusi

4. Pengujian Antibakteri Fraksi Teraktif dengan Metode Difusi

Pengujian aktivitas antibakteri fraksi teraktif dengan metode difusi dilakukan pada ekstrak daun petai cina. Digunakan konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,5625% dengan diulang 3 kali. Hasil pengujian zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada Tabel berikut.

Tabel 13. Hasil diameter zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* pada ekstrak daun petai cina

Bahan Uji	Konsentrasi	Daya Hambat			Rata-rata
		I	II	III	
Ekstrak	50%	8,25	8,65	9,45	8,78
	25%	5,25	6,9	6,45	6,2
	12,5%	4,8	5,5	4,9	5,06
	6,25%	2,2	2,55	2,4	2,38
	3,125%	0,5	0,9	0,4	0,6
	1,565%	0,4	0,4	0,3	0,36
Amoxicillin	1%	12,7	10,7	9,45	10,95
DMSO	1%	0	0	0	0

**Gambar 10. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Teraktif dengan Metode Difusi**

Berdasarkan hasil rata-rata diameter zona hambat pada kontrol positif amoxicillin diperoleh 10,95mm, sedangkan kontrol negatif sama sekali tidak memberikan zona hambat terhadap aktivitas antibakteri sehingga nilainya 0. Adapun kekuatan daya hambat bakteri berdasarkan zona hambat adalah berdasarkan tabel 9, pada ekstrak etanol daun petai cina konsentrasi 50% memiliki zona hambat rata-rata 8,78mm yang tergolong sedang, konsentrasi 25% memiliki zona hambat rata-rata 6,2mm yang tergolong sedang, konsentrasi 12,5% memiliki zona hambat rata-rata 5,06mm yang tergolong sedang, konsentrasi 6,25% memiliki zona hambat rata-rata 2,38mm yang tergolong lemah, konsentrasi 3,125% memiliki zona hambat rata-rata 0,6mm yang tergolong lemah, konsentrasi 1,565% memiliki zona hambat rata-rata 0,36mm yang tergolong lemah. Berdasarkan hasil diameter zona hambat yang diperoleh pada masing-masing perlakuan, menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi maka

semakin besar luas daerah zona hambat bakteri yang dihasilkan. Hal ini sudah sesuai teori yang sudah ada, dimana semakin tinggi konsentrasi maka aktivitas antibakteri yang ditunjukkan dari diameter zona hambat akan semakin luas (Haris, *et al.*, 2017).

5. Pengujian Antibakteri dengan Penentuan Nilai KHM dengan metode Dilusi Cair

Bertujuan untuk mengetahui jumlah terkecil zat aktif antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* untuk melihat Konsentrasi Hambat Minimum (KHM). Penentuan nilai KHM dilakukan dengan beberapa konsentrasi untuk mengetahui jumlah terkecil zat aktif antibakteri yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan organisme bakteri yang sedang diuji. Adanya bakteri ditandai dengan terbentuknya kekeruhan pada tabung media cair, sedangkan yang memiliki kemampuan antibakteri media cair akan tampak jernih (Rolando, 2019). Hasil KHM ekstrak teraktif daun petai cina dapat diamati pada Tabel 14 berikut.

Tabel 14. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak secara Dilusi

Konsentrasi Ekstrak	Hasil	Keterangan
50%	-	Tidak ada pertumbuhan bakteri
25%	-	Tidak ada pertumbuhan bakteri
12,5%	+	Ada pertumbuhan bakteri
6,25%	+	Ada pertumbuhan bakteri
3,125%	+	Ada pertumbuhan bakteri
1,565%	+	Ada pertumbuhan bakteri
Amoxicillin 1%	-	Tidak Ada pertumbuhan bakteri
DMSO 1%	+	Ada pertumbuhan bakteri

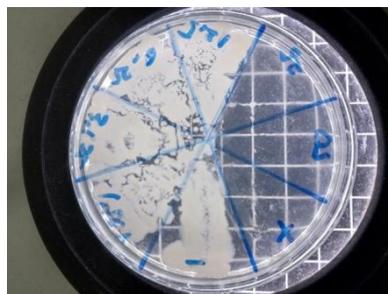
Hasil uji bakteri dengan konsentrasi larutan uji 50%, dan 25% terlihat jernih dan tidak tampak adanya pertumbuhan bakteri, sedangkan konsentrasi larutan uji 12,5%, 6,25%, 3,125%, dan 1,565% larutan terlihat keruh dan terdapat selaput yang menandakan adanya pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada larutan tersebut. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dapat ditentukan dari kadar terendah larutan uji yang terlihat jernih yaitu didapatkan hasil KHM pada konsentrasi 25%.



Gambar 11. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dengan metode Dilusi Cair

6. Pengujian Antibakteri dengan Penentuan Nilai KBM dengan Metode Dilusi Padat

Penentuan nilai Kadar Bunuh Minimum (KBM) pada penelitian ini dilakukan menggunakan metode dilusi padat, diharapkan 2 konsentrasi yang sudah diketahui memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada media agar tetap jernih yang berarti larutan uji dengan konsentrasi 50%, dan 25% yang diberikan dapat membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Hasil tersebut menunjukkan bahwa cawan petri yang telah diisi dengan media MHA dan digores dengan larutan uji dengan masing-masing konsentrasi, bakteri *Staphylococcus aureus* tidak dapat tumbuh pada konsentrasi 50%, dan 25% ditandai dengan media yang tetap jernih dan pada konsentrasi 12,5%, 6,25%, 3,125%, dan 1,565% bakteri masih dapat tumbuh ditandai dengan munculnya bercak pada media yang digunakan. Pada konsentrasi 25% bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 sudah tidak dapat tumbuh. Hal tersebut menunjukkan bahwa konsentrasi tersebut mampu digunakan untuk membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, sehingga nilai Kadar Bunuh Minimum dapat dinyatakan pada konsentrasi 25%. Ekstrak daun petai cina dapat membunuh *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 diperkirakan mengandung alkaloid, tanin, triterpenoid, flavonoid dan saponin yang berfungsi sebagai antimikroba (Ahda, dan Ibrahim, 2021).



Gambar 12. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dengan Metode Dilusi Padat

G. Analisis Data

Selanjutnya dilakukan pengujian secara statistic menggunakan uji ANOVA untuk melihat apakah terdapat perbedaan signifikan tiap perlakuan secara bersama-sama maupun antar perlakuan. Sebelum dilakukan uji ANOVA, maka terlebih dahulu dilakukan uji prasyarat, yaitu uji normalitas dengan *kolmogorof smirnov* dan uji homogenitas dengan *Levine test*. Hasil pengujian ini dapat dilihat pada Tabel 15 berikut.

Tabel 15 Hasil Uji Parametric dan Uji ANOVA

No	Jenis Uji	Nama Uji	Hasil nilai signifikansi (p)	Keterangan
1	Normalitas	<i>Kolmogorof smirnov</i>	Aktivitas antibakteri p=0,05 > 0,05	Data terdistribusi normal
2	Homogenitas	<i>Levine test</i>	1,000 > 0,05	Data homogen
3	Perbedaan rerata perlakuan	Oneway ANOVA	0,000 < 0,05	Terdapat perbedaan signifikan

Sumber : data penelitian 2024

Berdasarkan hasil pengujian prasyarat untuk uji ANOVA diperoleh bahwa data terdistribusi normal dan homogen, sehingga prasyarat uji parametric ini memenuhi, sehingga pengujian *one way* ANOVA bisa dilanjutkan. Hasil pengujian ANOVA menunjukkan nilai signifikansi $p=0,000 < 0,05$, yang artinya terdapat perbedaan signifikan dari 6 perlakuan yang diujikan. Jika terdapat perbedaan pada uji ANOVA, maka selanjutnya dilakukan uji *post hoc* untuk mengetahui perbedaan antar 2 perlakuan yang memberikan kontribusi pada keenam perlakuan jika dianalisis secara bersamaan (Dahlan, 2015).

Hasil uji *Post Hoc* tiap 2 perlakuan yang memiliki kesamaan secara statistic dapat dilihat pada tabel 16 berikut.

Tabel 16. Hasil Uji *Post Hoc* dengan metode *Tukey Tes*

Perlakuan	Signifikansi	Interpretasi
Konsentrasi 50% dan konsentrasi 25%	0,000 < 0,05	Berbeda signifikan
Konsentrasi 50% dan konsentrasi 12,5%	0,000 < 0,05	Berbeda signifikan
Konsentrasi 50% dan konsentrasi 6,25%	0,000 < 0,05	Berbeda signifikan
Konsentrasi 50% dan konsentrasi 3,125%	0,000 < 0,05	Berbeda signifikan
Konsentrasi 50% dan konsentrasi 1,565%	0,000 < 0,05	Berbeda signifikan
Konsentrasi 50% dan kontrol positif	0,000 < 0,05	Berbeda signifikan
Konsentrasi 25% dan konsentrasi 12,5%	0,000 < 0,05	Berbeda signifikan
Konsentrasi 25% dan konsentrasi 6,25%	0,000 < 0,05	Berbeda signifikan
Konsentrasi 25% dan konsentrasi 3,125%	0,000 < 0,05	Berbeda signifikan
Konsentrasi 25% dan konsentrasi 1,565%	0,000 < 0,05	Berbeda signifikan
Konsentrasi 25% dan kontrol positif	0,000 < 0,05	Berbeda signifikan
Konsentrasi 12,5% dan konsentrasi 6,25%	0,000 < 0,05	Berbeda signifikan
Konsentrasi 12,5% dan konsentrasi 3,125%	0,000 < 0,05	Berbeda signifikan
Konsentrasi 12,5% dan konsentrasi 1,565%	0,000 < 0,05	Berbeda signifikan
Konsentrasi 12,5% dan kontrol positif	0,000 < 0,05	Berbeda signifikan
Konsentrasi 6,25% dan konsentrasi 3,125%	0,000 < 0,05	Berbeda signifikan
Konsentrasi 6,25% dan konsentrasi 1,565%	0,000 < 0,05	Berbeda signifikan

Konsentrasi 6,25% dan kontrol positif	0,000<0,05	Berbeda signifikan
Konsentrasi 3,125% dan konsentrasi 1,565%	0,000<0,05	Berbeda signifikan
Konsentrasi 3,125% dan kontrol positif	0,000<0,05	Berbeda signifikan

Sumber : data penelitian 2024

Berdasarkan hasil pengujian secara statistik, beberapa perlakuan memberikan potensi yang hampir sama dengan perlakuan yang lain. Hal inipula diperkuat dari hasil aktivitas biologi dari zona hambat baik dilihat dari kelompok perlakuan maupun konsentrasinya terdapat beberapa kesamaan.

Berdasarkan hasil di atas, daya hambat tertinggi terdapat pada konsentrasi 50%. Ekstrak etanol dan fraksi baik polar, semipolar maupun nonpolar dari daun petai cina memiliki aktivitas antibakteri dengan mekanisme menghambat dan merusak membrane serta dinding sel bakteri, denaturasi atau menghambat sintesis protein, menghambat sintesis asam nukleat dan mengubah permeabilitas membrane (Haris, *et al.*, 2017). Fraksiteraktif pada penelitian ini adalah ekstrak.

Aktivitas antibakteri ini berkaitan dengan dengan metabolit sekunder yang terkandung baik dalam ekstrak maupun daun petai cina. Tanninyang terkandung pada ekstrak etano daun petai cina memiliki mekanisme aksi mengganggu pembentukan sintesis peptidoglikan pada bakteri sehingga pembentukan dinding sel bakteri tidak sempurna (Hasanah,*et al.*, 2016). Alkaloid yang terkandung dalam daun petai cina akan menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara mengganggu pemetukan komponen penyusun peptidoglikan pada dinding sel bakteri sehingga lapisan dinding sel bakteri tidak bisa terbentuk utuh dan akhirnya menjadi penyebab kematian bakteri (Haris, *et al.*, 2017). Flavonoid memiliki peran dalam menginaktivasi protein enzim pada membrane sel bakteri sehingga struktur protein sel akan rusak dan sel bakteri akan kehilangan bentuk lalu lisis (Febriyanti, dan Leliqia, 2023). Saponin pada daun petai cina memilikifungsi menurunkan tegangan permukaan sel akibatnya akan terjadi kebocoran sel bakteri da nisi sel akan keluar (Rahman, *et al.*, 2022).

5. KESIMPULAN DAN SARAN

Ekstrak etanol, fraksi n-heksane, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun petai cina (*Leuncaena leucocephala*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 berdasarkan diameter zona hambat pada konsentrasi tertinggi dengan aktivitas kuat pada ekstrak etanol dan lemah pada fraksi n-heksane, etil asetat, dan air. Ekstrak etanol dari daun petai cina (*Leuncaena leucocephala*) merupakan yang paling aktif dalam menghambat *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dilihat dari nilai zona hambatnya. Ekstrak etanol daun petai cina memiliki nilai KHM dan KBM yang sama yaitu pada konsentrasi 25%.

Perlu dilakukan identifikasi senyawa metabolit sekunder baik dengan skrining fitokimia maupun kromatografi lapis tipis tidak hanya pada ekstraknya saja akan tetapi juga pada hasil fraksinasinya. Perlu dilakukan pengembangan penelitian mengenai perbedaan aktivitas antibakteri tidak hanya pada daun petai cina tetapi biji dan bunga dengan bakteri yang sama.

6. UCAPAN TERIMA KASIH

Bagian ini disediakan bagi penulis untuk menyampaikan ucapan terima kasih, baik kepada pihak penyandang dana penelitian, pendukung fasilitas, atau bantuan ulasan naskah. Bagian ini juga dapat digunakan untuk memberikan pernyataan atau penjelasan, apabila artikel ini merupakan bagian dari skripsi/tesis/disertasi/makalah konferensi/hasil penelitian.

DAFTAR REFERENSI

Artikel Jurnal (satu, dua, atau lebih dari dua penulis)

- Abdillah, A. N. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol, dan Fraksi Dari Bonggol Pisang Kepok (*Musa balbisiana Colla.*) Terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. In *Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional* (Vol. 21, Issue 1).
- Agustie, A. W. D., & Samsumaharto, R. A. (2013). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Maserasi Daun Kelor (*Moringa oleifera, Lamk*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Biomedika*, 6(2), 14–19.
- Almeida, C. S. de, Miccoli, L. S., Andhini, N. F., Aranha, S., Oliveira, L. C. de, Artigo, C. E., Em, A. A. R., Em, A. A. R., Bachman, L., Chick, K., Curtis, D., Peirce, B. N., Askey, D., Rubin, J., Egnatoff, D. W. J., Uhl Chamot, A., El-Dinary, P. B., Scott, J.; Marshall, G., Prenskey, M., ... Santa, U. F. De. (2016). Uji Daya hambat. *Revista Brasileira de Linguística Aplicada*, 5(1), 1689–1699.
- Atmojo. (2016). *Media Muller Hinton Agar*. *Indonesia Medical Laboratory*.
- Auliya, SH., Y. Setiawati, E. B. Koendhori. (2019). Antibacterial Activity of Methanol Extract of Red Dragon Fruit Peel (*Hylocereus polyrhizus*) against Methicillin Susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA) ATCC 25923 and Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) In Vitro. *Indian Journal of Forensic Medicine & Toxicology*. Vol. 15, No. 3, pp. 4269- 4273.
- Bota, W., Martanto Martosupono, dan Ferdy S. Rondonuwu. 2015. Potensi Senyawa Minyak Sereh Wangi (Citronella Oil) Dari Tumbuhan *Cymbopogon nardus* L. Sebagai Agen Antibakteri. *Prosiding Semnastek*.
- BPOM. (2022). *Petunjuk teknis pelaksanaan penerapan aspek cara pembuatan obat tradisional yang baik secara bertahap*. Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan; Jakarta
- Chairunnisa, S., Wartini, N. M., & Suhendra, L. (2019). Pengaruh Suhu dan Waktu Maserasi terhadap Karakteristik Ekstrak Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana* L.) sebagai Sumber

Saponin Effect of Temperature and Maseration Time on Characteristics of Bidara Leaf Extract (*Ziziphus mauritiana* L.) as Saponin Source. *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri*, 7(4), 551–560.

Emeldir. (2014). *Structure of phenol*.

Hanani, E. (2015). *Analisis Fitokimia.pdf*. Penerbit Buku Kedokteran EGC.

Haris, A., Fakhurrazi, Anggraini, H. (2017). Uji antibakterial ekstrak kulit buah naga putih (*Hylocereus undatus*) terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *JIMVET*. 01(3); 416-423.

Hasri., Dini, I., Aminah, ST., Nurdiansyah. (2016). Isolasi dan karakterisasi senyawa metabolit sekunder ekstrak n-heksana kulit batang tumbuhan buni (*Antidesma bunius* L Spreng) dan potensi sebagai antikanker. *Naskah Publikasi*. Universitas Negeri Makassar.

Hayati, L. N., Tyasningsih, W., Praja, R. N., Chusniati, S., Yunita, M. N., & Wibawati, P. A. (2019). Isolasi dan Identifikasi *Staphylococcus aureus* p. *Jurnal Medik Veteriner*, 2(2), 76.

Indrasuari, AAA., Wijayanti, NPAD., Dewantara, IGNA. (2015). Standarisasi mutusimplisia kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L). *Naskah Publikasi*. Universitas Udayana; bali

Kadarwenny, C. P. (2017). Penetapan Kadar Alkaloid Total dan Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap *Bacillus cereus* dari Ekstrak Etanol Daun Kematian (*Lunasia amara* Blanco). *Skripsi*.

Karimela, E. J., Ijong, F. G., & Dien, H. A. (2017). Characteristics of *Staphylococcus aureus* Isolated Smoked Fish Pinekuhe from Traditionally Processed from Sangihe District. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 20(1), 188.

Lestari, N. (2022). Pemanfaatan tanaman obat keluarga (TOGA) pada masyarakat Desa Jirak Kabupaten Sambas. *Jurnal Paradigma: Jurnal Multidisipliner Mahasiswa Pascasarjana Indonesia*, 3(1), 23–36.

Maisyah, R., Lukmayani, Y., Purwanti, L. (2016). Identifikasi senyawa flavonoid dari kulit buah naga putih (*Hylocereus undatus* Britt dan Rose). *Prosiding Farmasi*. Volume 2 Nomor 2 Halaman 794-802

Maneak, IE., Nopiyanti, V., Kartinah. (2018). Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan fraksi n-heksana, etilasetat, serta air dari daun jambu air (*Syzygium aqueum*) terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* ATCC 25922. *Skripsi*. Universitas Setai Budi; Surakarta

Marjoni, R., & Ismail, T. (2016). *Dasar-Dasar Fitokimia Untuk Diploma III Farmasi*. Trans Info Media.

Maulana, A., Harris, Fakhurrazi, M. Dewi, Safika, Erina, M. Jalaluddin. (2018). Antibacterial Test of Red Dragon Fruit Extract Peel (*Hylocereus polyrhizus*) Against Bacteria *Salmonella pullorum*. *Jurnal Medika Veterinaria*, Vol. 12, No. 1, pp. 9-14, 2018 2018).

- Mawarda, A., Samsul, E., Sastyarina, Y. (2020). Pengaruh berbagai metode ekstraksi dari ekstrak etanol umbi bawang tiwai (*Eleutherine americana* Merr) terhadap rendemen ekstrak dan profil kromatografi lapis tipis. *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*. halaman 1-4
- Munandar, K., & Wildani, M. D. (2016). *Pengenalan laboratorium IPA-Biologi sekolah*. Refika Aditama.
- Nabila, B., Khairani, A., Sunarwidhi, A. L., & M, N. R. I. (2023). *Penentuan Kadar Fenolik Total dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Rukam terhadap Bakteri Staphylococcus aureus*.
- Najib, A., Malik, A., Ahmad, AR., Handayani, V. (2015). Standarisasi ekstrak air daun jati belanda dan teh hijau. *Jurnal Fotofarmaka Indonesia*. Volume 4 Nomor 2 Halaman 241-245
- Nan, 2022, *Mengenal Simplisia sebagai bahan baku obat herbal*, Poltekkes Putra Indonesia; Malang
- Ngajow, M., Abidjulu, J., & Kamu, V. S. (2013). Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara In vitro. *Jurnal MIPA*, 2(2), 128.
- Nugraha, Aa., Kawiji, & Windi, A. (2015). Kadar Kurkuminoid, Total Fenol dan Aktivitas Antioksidan Oleoresin Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) dengan Variasi Teknik Pengeringan dan Warna Kain Penutup. *Biofarmasi*, 13(1), 6–14.
- Prianto, AA., Timur, HDL., Jaziri, AA., Nurdiani, R., Pradarameswari, KA. (2018). Isolasi dan identifikasi bakteri endofit mangrove *Sonneratia alba* penghasil enzim gelatinase dari Pantai Sendang Biru, Malang, Jawa Timur. *Inonesian Journal of Halal*. Halaman 31-4
- Rahman, IW., Fadhilah, RN., Ka'bah, Kristiana HN., Dirga, A. (2022). Potensi ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava*) dalam menghambat pertumbuhan *Serratia marcescens*. *Jurnal Ilmu Alam dan Lingkungan*. 13 (1). Halaman 14-22
- Rahmayanti, Sutyarso, Kanedi. (2017). Potensi ekstrak buah naga putih (*Hylocereus undatus*) dalam meningkatkan agresivitas mencit jantan (*Mus musculus*). *Skripsi*. Universitas Lampung; Bandar Lampung
- Rahmawati, A. N., Y, M., S, R., & Lestari, R. G. (2019). *Petunjuk Praktikum Mikrobiologi*. Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional.
- Rahmawati, I. (2014). Perbedaan Efek Perawatan Luka Menggunakan Gerusan Daun Petai Cina (*Leucaena glauca*, Benth) dan Povidon Iodine 10% Dalam Mempercepat Penyembuhan Luka Bersih Pada Marmut (*Cavia porcellus*). *Jurnal Wiyata*, 1(2), 227–234.
- Rivai, H. 2021. Petai Cina (*Leucaena Leucocephala*): Penggunaan Tradisional, Fitokimia, Dan Aktivitas Farmakologi. Yogyakarta: Deepublish.

- Setiadi, Y., dan Bulu, ATI. (2022). *Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun turi (Sesbania granflora L) pada bakteri Streptococcus mutans*. Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Nusaputera.
- Siswanto, BB., Priamsari, MR. (2022). *Pengaruh metode pengeringan terhadap aktivitas antioksidan dan nilai SPF ekstrak kulit buah markisa (Passiflora edulis)*. Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Nusaputera; Semarang
- Sudarwati, T. P. L., & Fernanda, M. A. H. F. (2019). *Aplikasi Pemanfaatan Daun Pepaya (Carica papaya) sebagai Biolarvasida terhadap Larva Aedes aegypti*. GRANITI.
- Sulihono, A., Tarihoran, B., & Agustina, T. E. (2012). Pengaruh Waktu, Temperatur, Dan Jenis Pelarut Terhadap Ekstraksi Pektin Dari Kulit Jeruk Bali (*Citrus Maxima*). *Jurnal Teknik Kimia*, 18(4), 1–8.
- Sulistiyawati, R., Nurani, L. H., Hidayati, S., Mursyidi, A., & Mustofa. (2018). Standarisasi Kualitas Fraksi Etil Asetat Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lamk.). *The 6th University Research Colloquium 2017 Universitas Muhammadiyah Magelang*, 67–72.
- Sunaryo. (2017). *Kimia Farmasi*. Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Supriningrum, R., Fatimah, N., & Wahyuni, S.N. 2018. Penetapan kadar flavonoidekstrak etanol daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* L.) berdasarkan perbedaancara pengeringan. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 4 (2): 156-161.
- Susanti, D., & Fahriani, F. (2020). Hubungan Pengetahuan Dan Sikap Pasien Terhadap Penyembuhan Penyakit TB Paru. *Jurnal Ilmiah Multi Science Kesehatan*, 12(1).
- Sutriandi, A., Maulana, I. T., & Sadiyah, E. R. (2016). Pengaruh Metode Pengeringan terhadap Mutu Ekstrak Biji Kara Benguk (*Mucuna pruriens* (L .) DC .) yang Dihasilkan. *Prosiding Farmasi*, 2(2), 710–716.
- Trisia, A., Philyria, R., & Toemon, A. N. (2018). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kalanduyung (*Guazuma ulmifolia* Lam.) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Dengan Metode Difusi Cakram (KIRBY-BAUER). *Anterior Jurnal*, 17(2), 136–143.
- Valerian, A., Girsang, E., Lestari, S., Nasution, R., & Nasution, W. (2019). Uji efektivitas ekstrakdaun petai cina (*Leucaena leucocephala*) untuk menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *The Journal of Biosciences*, 5(2), 69.
- Wahdaningsih, S. and Untari, EK. (2022). The Antibacterial Activity of RedDragon Fruit Peel (*Hylocereus polyrhizus* Britton & Rose) Methanolic Fraction Against *Staphylococcus epidermidis* and *Propionibacterium acnes*. *Jurnal Pharmascience*. Vol. 8, No. 2, pp. 51-58,
- Wahyulianingsih, W., Handayani, S., & Malik, A. (2016). Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Daun Cengkeh (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr & Perry). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 3(2), 188–193.
- Widyastuti, Y., Yuliani, N., & Widhyastini, I. G. A. M. (2019). Aktivitas Antibakteri Infusa Daun Lidah Buaya (*Aloe vera* L) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Sains Natural*, 6(1), 33.

Wihenti, A. I., Setiani, B. E., & Hintono, A. (2016). *Analisis kadar air, tebal, berat, dan tekstur biskuit coklat akibat perbedaan transfer panas* (Doctoral dissertation, Fakultas Peternakan Dan Pertanian Undip).

Windi, Y., Uska Peku Jawang, & Melycorianda H. Ndapamuri. (2022). Uji Kualitas Pupuk Bokasi Kombinasi Bahan Lokal Daun Tumbuhan Gamal, Kirinyuh dan Lamtoro. *Formosa Journal of Sustainable Research*, 1(5), 655–670.

Artikel Prosiding

Mawarda, A., Samsul, E., Sastyarina, Y. (2020). Pengaruh berbagai metode ekstraksi dari ekstrak etanol umbi bawang tiwai (*Eleutherine americana* Merr) terhadap rendemen ekstrak dan profil kromatografi lapis tipis. *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*. halaman 1-4

Sutriandi, A., Maulana, I. T., & Sadiyah, E. R. (2016). Pengaruh Metode Pengeringan terhadap Mutu Ekstrak Biji Kara Benguk (*Mucuna pruriens* (L .) DC .) yang Dihasilkan. *Prosiding Farmasi*, 2(2), 710–716.

Working Paper

Disertasi/Tesis/Paper Kerja

Wihenti, A. I., Setiani, B. E., & Hintono, A. (2016). *Analisis kadar air, tebal, berat, dan tekstur biskuit coklat akibat perbedaan transfer panas* (Doctoral dissertation, Fakultas Peternakan Dan Pertanian Undip).

Lindawati (2015). Analisis Faktor yang Mempengaruhi Perilaku Ekonomi dan Kesejahteraan Rumah Tangga Petani Usahatani Terpadu Padi-Sapi di Provinsi Jawa Barat. Institut Pertanian Bogor. Retrieved from <http://repository.ipb.ac.id/handle/123456789/85350>.