AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL 70% DAUN LEGUNDI (*Vitex trifolia* Linn.) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Salmonella typhi*

SKRIPSI

Oleh :

HUSNUL KHOTIMAH

NIM. 15670010

PROGRAM STUDI FARMASI

FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM

MALANG

2019

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL 70% DAUN LEGUNDI (*Vitex trifolia* Linn.) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Salmonella typhi*

SKRIPSI

Oleh:
HUSNUL KHOTIMAH
NIM. 15670010

Diajukan Kepada:
Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)

PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2019

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL 70% DAUN LEGUNDI (*Vitex trifolia* Linn.) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Salmonella typhi*

SKRIPSI

Oleh :
HUSNUL KHOTIMAH
NIM. 15670010

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji :
Tanggal 26 November 2019 :

Pembimbing I	Pembimbing II
Wirda Anggarini, M.Farm., Apt	drg. Arief Suryadinata, Sp. Ort
NIP. 19930718 20180201 2 205	NIP. 19850720 200912 1 003

Mengetahui,
Ketua Program studi Farmasi

Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt
NIP. 19800203 200912 2 003

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL 70% DAUN LEGUNDI (*Vitex trifolia* Linn.) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Salmonella typhi*

SKRIPSI

Oleh :
HUSNUL KHOTIMAH
NIM. 15670010

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)
Tanggal: 18 Desember 2019

Ketua Penguji	**: drg. Arief Suryadinata, Sp. Ort**	(.....)
	NIP. 19850720 200912 1 003	
Sekertaris Penguji	**: Wirda Anggarini, M.Farm., Apt**	(.....)
	NIP. 19930718 20180201 2 205	
Anggota Penguji	**: 1. Burhan Ma'arif ZA, M.Farm., Apt**	(.....)
	NIP. 19900221 2018011 001	
	2. Ach. Nasichuddin, M.A	(.....)
	NIP. 19730705 200003 1 002	

Mengesahkan,
Ketua Program studi Farmasi

Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt
NIP. 19800203 200912 2003

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Husnul Khotimah

NIM : 15670010

Jurusan : Farmasi

Fakultas : Kedokteran dan Ilmu Kesehatan

Judul Penelitian : Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 70% Daun Legundi (*Vitex trifolia* Linn.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Salmonella typhi*

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali degan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 18 Desember 2019

Yang Membuat peryataan

Husnul Khotimah

NIM. 15670010

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

MOTTO

"Jangan pernah berhenti untuk belajar, karena belajarlah yang akan menunjukkan jalan kesuksesanmu. Teruslah melangkah mengikuti keyakinanmu, berhenti sejenak jika lelah, tapi jangan pernah menyerah"

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

LEMBAR PERSEMBAHAN

Alhamdulillahhirobbil' aalamiin

Sembah sujud serta syukur kepada Allah SWT. Taburan cinta dan kasih sayang-Mu telah memberikanku kekuatan, berilmu, beriman dan bersabar. Atas karunia dan kemudahan yang telah Engkau berikan akhirnya skripsi yang sederhana ini dapat terselesaikan. Semoga keberhasilan ini menjadi satu langkah awal untuk masa depanku dalam meraih cita-cita. Sholawat serta salam selalu tercurahkan kepada Rasullah Muhammad SAW.

Dengan rasa syukur kupersembahkan karya sederhana ini kepada orang yang sangat saya sayangi dan saya cintai

Sebagai tanda bukti, hormat dan rasa terima kasih yang tiada terhingga kupersembahkan karya kecil ini kepada Ibu Hudayani dan Bapak Gatot Nugroho yang telah memberikan inspirasi, dukungan, ridho dan cinta kasih yang tiada terhingga. Semoga ini menjadi langkah awal untuk membuat Ibu dan Ayah bahagia, karena selama ini saya belum bisa berbuat lebih untuk Ibu dan Ayah yang selalu mendoakanku, menasihatiku dan selalu meridhoiku melakukan hal yang terbaik. Terima kasih kepada adik-adikku tercinta Firman Maulana dan Atika Mardia Dewi telah memberikan semangat dan dukungan.

Dosen pembimbing saya, Ibu Wirda Anggarini, M.Farm., Apt dan Bapak drg. Arief Suryadinata, Sp. Ort yang telah meluangkan waktu untuk memberi masukan, nasihat dan ilmu yang sangat berharga. Terima kasih banyak atas kesabaran dari Ibu dan Bapak telah membimbing saya dalam menyelesaikan Tugas Akhir ini.

Terima kasih kepada *partner* saya dalam mengerjakan naskah skripsi Nunung Purwaningsih yang telah memberi banyak masukan dan menemani dari awal hingga akhir dalam penyusunan naskah ini. Terima kasih kepada Mohammad Ulil Albab yang selalu memberi semangat, motivasi dan dukungan serta memberi pengalaman baru. Terima kasih kepada Kharisma Chalida Zia yang selalu memberi hiburan, mendengarkan keluh kesah dan menjadi sahabat yang baik selama perkuliahan.

Terima kasih kepada seluruh teman-teman farmasi 2015 (*Pharmajelly*). Tak cukup kata-kata menggambarkan persahabatan kita, kecuali rasa syukur kepada Allah SWT karena telah mengenal kalian. Terima kasih untuk pengalaman telah mengajariku tentang kejasama, perjuangan, dan kesederhanaan. Semoga kita selalu dipertemukan dalam baikan. Semoga sukses selalu buat kalian.

Kepada semua pihak yang tidak bisa saya sebutkan satu per satu, terima kasih telah membantu terselesaikannya skripsi ini.

(Husnul Khotimah/ 15670010)

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Segala puji bagi Allah SWT yang telah melimpahkan nikmat, rahmat serta hidayah-Nya sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi yang berjudul **"Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 70% Daun Legundi (*Vitex trifolia* Linn.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Salmonella typhi*"** dengan baik.

Dalam proses penyusunan skripsi ini penulis banyak mendapatkan bimbingan, masukan, serta arahan dari berbagai pihak. Untuk itu ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya dan penghargaan yang setinggi-tingginya penulis sampaikan kepada:

1. Prof. Dr. H. Abdul Haris, M.Ag., selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah banyak memberikan pengetahuan dan pengalaman yang berharga.
2. Prof. Dr. dr. Bambang Pardjianto, Sp.B., Sp. BP-REK (K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Roihatul Mutiah, M.Kes., Apt. selaku ketua Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu-ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Wirda Anggraini, M.Farm., Apt. selaku dosen pembimbing utama yang banyak memberikan bimbingan, masukan, arahan, nasihat, motivasi, dan berbagai pengalaman yang berharga kepada penulis.
5. drg. Arief Suryadinata, Sp.Ort selaku pembimbing kedua yang selalu meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan dan solusi kepada penulis.
6. Burhan Ma'arif ZA, M.Farm., Apt. selaku dosen penguji yang telah memberi saran terbaiknya.
7. Ach. Nasichuddin, M.A selaku dosen penguji agama yang telah memberi saran terbaiknya.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

8. Segenap civitas akademika Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu-ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang terutama seluruh dosen Jurusan Farmasi, terima kasih atas segala ilmu dan bimbingannya.
9. Ibu dan Ayah tercinta yang telah mencurahkan cinta kasih, doa, bimbingan, dan motivasi hingga selesainya skripsi ini.
10. Adik-adik tersayang yang telah memberikan semangat kepada penulis.
11. Semua sahabat Farmasi angkatan 2015 yang senantiasa memberikan semangat dan dukungannya untuk menyelesaikan skripsi ini.
12. Seluruh pihak yang ikut membantu dalam menyelesaikan skripsi ini baik berupa materil maupun moril.

Semoga Allah SWT memberikan balasan atas bantuan dan pemikirannya selama ini. Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih terdapat kekurangan namun penulis berharap skripsi ini bisa memberikan manfaat bagi penulis khususnya dan bagi pembaca pada umumnya. *Aamiin Yaa Robbal'Alamiin.*
Wassalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Malang, 18 Desember 2019

Penulis

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL ..... **i**
HALAMAN PENGAJUAN ..... **ii**
HALAMAN PERSETUJUAN ..... **iii**
HALAMAN PENGESAHAN ..... **iv**
HALAMAN PERNYATAAN ..... **v**
MOTTO ..... **vi**
HALAMAN PERSEMBAHAN ..... **vii**
KATA PENGANTAR ..... **viii**
DAFTAR ISI ..... **x**
DAFTAR GAMBAR ..... **xiii**
DAFTAR TABEL ..... **xiv**
DAFTAR LAMPIRAN ..... **xv**
DAFTAR SINGKATAN ..... **xvi**
ABSTRAK ..... **xvii**
ABSTRACT ..... **xviii**
المستخلص ..... **xix**

BAB I PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang 1
1.2. Rumusan Masalah 6
1.3. Tujuan Penelitian 6
1.4. Manfaat Penelitian 7
1.5. Batasan Masalah 7

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Tentang Legundi 8
2.1.1 Klasifikasi Tanaman Legundi 8
2.1.2 Morfologi Tanaman Legundi 10
2.1.3 Kandungan dan Efek Farmakologi Legundi 11
2.2 Tinjauan Tentang Metode Ekstraksi 12
2.2.1 Definisi Ekstrak 12
2.2.2 Definisi Ekstraksi 12
2.2.3 Ekstraksi Cara Dingin 12
2.2.4 Ekstraksi Cara Panas 14
2.3 Tinjauan Tentang Pelarut 15
2.4 Tinjauan Tentang Kromatografi Lapis Tipis (KLT) 16
2.4.1 Fase Diam dan Fase Gerak 17
2.4.2 Skrining Fitokimia 18
2.5 Tinjauan Tentang Demam Tifoid 22
2.5.1 Epidemologi Demam Tifoid 23
2.5.2 Etiologi Demam Tifoid 24

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

2.5.3 Patogenesis Demam Tifoid 25
2.5.4 Penatalaksanaan Demam Tifoid.....26
2.5.5 Tinjauan Tentang Kloramfenikol.....27
2.6 Tinjauan Tentang Bakteri *Salmonella typhi* 28
2.6.1 Klasifikasi Bakteri *Salmonella typhi*.....28
2.6.2 Morfologi dan Fisiologi *Salmonella typhi* 29
2.7 Tinjauan Tentang Metode Uji Aktivitas Antibakteri 30
2.7.1 Metode Difusi 30
2.7.2 Metode Dilusi.....32
2.8 Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM).....32
2.9 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Aktivitas Antimikroba 33

BAB III KERANGKA KONSEPTUAL

3.1 Bagan Kerangka Konseptual.....34
3.2 Uraian Kerangka Konseptual 32
3.3 Hipotesis Penelitian 36

BAB IV METODE PENELITIAN

4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian 37
4.2 Waktu dan Tempat Penelitian 37
4.3 Variabel Penelitian 37
4.3.1 Variabel Bebas 37
4.3.2 Variabel Terikat 37
4.3.3 Variabel Kontrol 38
4.4 Definisi Operasional 38
4.5 Alat dan Bahan Penelitian 39
4.5.1 Alat 39
4.5.2 Bahan 39
4.6 Prosedur Kerja 40
4.6.1 Pengambilan Daun Legundi.....40
4.6.2 Determinasi Tanaman 40
4.6.3 Persiapan Sampel 40
4.6.4 Analisis Kadar Air Serbuk Simplisia Daun Legundi 40
4.6.5 Pembuatan Ekstraksi Daun Legundi 41
4.6.6 Uji Fitokimia Ekstrak Etanol 70% Daun Legundi 41
4.6.7 Uji Ktomatografi Lapis Tipis (KLT) 43
4.6.8 Uji Aktivitas Antibakteri.....44
4.6.9 Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM).....46
4.7 Analisis Data 46
4.8 Skema Kerja 47

BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Determinasi Tumbuhan.....48
5.2 Pembuatan Simplisia 48
5.3 Analisis Kadar Air Serbuk Simplisia Daun Legundi 49
5.4 Pembuatan Ekstrak Daun Legundi 49

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

5.5 Uji Fitokimia Ekstrak Daun Legundi 50
5.5.1 Uji Senyawa Flavonoid 51
5.5.2 Uji Senyawa Alkaloid 52
5.5.3 Uji Senyawa Tanin 53
5.5.4 Uji Senyawa Saponin 54
5.6 Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) 55
5.7 Uji Aktivitas Antibakteri 60
5.8 Analisis Data 67
5.8.1 Uji Normalitas 67
5.8.2 Uji Homogenitas 68
5.8.3 Uji Anova *One-Way* 69
5.9 Konsentrasi Hambat Minimim (KHM) 70
5.10 Aktivitas Antibakteri Daun Legundi dalam Perspektif Islam 72

BAB VI PENUTUP

6.1 Kesimpulan 75
6.2 Saran 75

DAFTAR PUSTAKA 76

LAMPIRAN 85

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tanaman legundi 10
Gambar 2.2 Struktur kimia etanol 16
Gambar 2.3 Struktur golongan senyawa flavonoid 19
Gambar 2.4 Struktur golongan senyawa alkaloid 20
Gambar 2.5 Struktur golongan senyawa tanin 21
Gambar 2.6 Struktur golongan senyawa saponin 22
Gambar 2.7 Struktur kimia kloramfenikol 27
Gambar 2.8 Bakteri *Salmonella typhi* dengan pewarnaan gram mikroskopik 28
Gambar 4.1 Pengukuran diameter zona hambat 45
Gambar 5.1 Uji fitokimia reaksi warna 51
Gambar 5.2 Reaksi flavonoid dengan NaOH 52
Gambar 5.3 Reaksi alkaloid dengan reagen dragendroff 53
Gambar 5.4 Reaksi alkaloid dengan reagen mayer 53
Gambar 5.5 Reaksi tannin dengan $FeCl_3$ 54
Gambar 5.6 Reaksi dengan saponin dalam air 55
Gambar 5.7 Kromatografi ekstrak etanol 70% daun legundi 56
Gambar 5.8 Zona hambat ekstrak etanol 70% daun legundi 64
Gambar 5.9 Konsentrasi hambat mínimum ekstrak etanol 70% daun legundi 71

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Klasifikasi aktivitas antibakteri 46
Tabel 5.1 Presentase kadar air serbuk simplisia daun legundi 49
Tabel 5.2 Uji fitokimia reaksi warna 50
Tabel 5.3 Hasil uji senyawa KLT 57
Tabel 5.4 Diameter zona hambat ekstrak etanol 70% daun legundi 65
Tabel 5.5 Kategori zona hambat bakteri *S. typhi* 66
Tabel 5.6 Hasil uji normalitas dengan *Shapiro-wilk* 68
Tabel 5.7 Hasil uji homogenitas dengan *Levene's test* 68
Tabel 5.8 Hasil uji ANOVA *one-way* 69
Tabel 5.9 Hasil uji *Post-hoc* LSD 70

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Skema Kerja 85
Lampiran 2 Perhitungan 88
Lampiran 3 Dokumentasi Proses Penelitian 90
Lampiran 4 Hasil Pengujian 92
Lampiran 5 Hasil Determinasi 97
Lampiran 6 Hasil Mikrobiologi 98

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

DAFTAR SINGKATAN

ANOVA	: *Analysis of variance*
CDC	: *Communicable Disease Centre*
CFR	: *Case Fatality Rate*
DMSO	: *Dimethyl Sulfoxide*
KHM	: Konsentrasi Hambat Minimum
KLT	: Kromatografi Lapis Tipis
LSD	: *Least Significance Different*
MHA	: *Mueller-Hinton Agar*
OMP	: *Outer Membrane Protein*
SD	: Standar Deviasi
SSA	: *Shigella-Salmonella Agar*
UAE	: *Ultrasonic Assisted Extraction*
WHO	: World Health Organization

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

ABSTRAK

Khotimah, Husnul. 2019. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 70% Daun Legundi (*Vitex trifolia* Linn.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Salmonella typhi*. *Skripsi*. Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Wirda Anggraini, M.Farm., Apt; Pembimbing II : drg. Arief Suryadinata. Sp. Ort.

Daun legundi (*Vitex trifolia* L.) merupakan tanaman yang memiliki kandungan senyawa aktif flavonoid, alkaloid, tannin, saponin, steroid, antrakuinon dan antosianin yang memiliki aktivitas antibakteri *Salmonella typhi*. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antibakteri dan untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak etanol 70% daun legundi terhadap pertumbuhan bakteri *S. typhi*. Penelitian ini menggunakan ekstrak etanol 70% daun legundi dengan konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20% (b/v) dan kontrol positif (Kloramfenikol 30 mg/ml). Metode yang digunakan adalah *paper disk*. Data yang diperoleh berupa diameter zona hambat. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa keempat variasi konsentrasi ekstrak etanol 70% daun legundi memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *S. typhi* yang ditunjukkan dengan diameter zona hambat masing-masing 1,96 mm; 2,1 mm; 2,21 mm; dan 2,37 mm. Hasil KHM ekstrak etanol 70% daun legundi diperoleh pada konsentrasi 5% dengan diameter zona hambat 1,96 mm. Untuk mengetahui perbedaan antar variasi dilakukan uji statistik menunggunakan ANOVA. Hasil penelitian menunjukkan tidak adanya perbedaan signifikan dengan *P-value* sebesar > 0,05.

Kata kunci: *Vitex trifolia* L., *Salmonella typhi*, etanol 70%, Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

ABSTRACT

Khotimah, Husnul. 2019. Antibacterial Activity of 70% Ethanol Extract of Legundi (*Vitex trifolia* Linn.) Agains of *Salmonella typhi*. *Undergraduate*. Pharmacy Faculty of Medical and Health Sciences Maulana Malik Ibrahim State Islamic University of Malang. Advisor I: Wirda Anggraini, M.Farm., Apt; Pembimbing II : drg. Arief Suryadinata. Sp.Ort.

Legundi leaves (*Vitex trifolia* L.) are plants that contain active compounds flavonoids, alkaloids, tannins, saponins, steroids, anthraquinones and anthocyanins that have antibacterial activity of *Salmonella typhi*. The aim of this study was to determine the antibacterial activity and to determine the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of 70% ethanol extract of legundi leaves on the growth of *S. typhi* bacteria. This study used 70% ethanol extract of legundi leaves with a concentration of 5%, 10%, 15%, 20% (b/v) and positive control (Chloramphenicol 30 mg / ml). The method used a *paper disk*. Data obtained in the form of an inhibition zone diameter. The results of this study indicate that the four variations in the concentration of 70% ethanol extract of legundi leaves have antibacterial activity on the growth of *S. typhi* as indicated by inhibition zone diameters of 1.96 mm; 2.1 mm; 2.21 mm; and 2.37 mm. The results of the MIC of ethanol extract 70% of legundi leaves were obtained at a concentration of 5% with an inhibition zone diameter of 1.96 mm. To find out the differences between variations, a statistical test was performed used ANOVA. The results showed no significant difference with a *P-value* of > 0.05.

Keywords: *Vitex trifolia* L., *Salmonella typhi*, ethanol 70%, Minimum Inhibitory Concentration (MIC)

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

المستخلص

الخاتمة، حسن. 2019. نشاطة مضاد الجراثيم مستخرج إيثانول % 70 من ورقة كف مريم (*Vitex trifolia* Linn.) نحو جرثومة السلمونيلة التيفية. بحث جامعي. قسم الصيدلة، كلية الطب والعلوم الصحية، جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرفة الأولى: وردا أنغرايني، الماجستير؛ المشرف الثاني: طبيب السن عارف سوريادياتا

تعتبر ورقة كف مريم (*Vitex trifolia* Linn.) من النباتات التي تحتوي على المستحضرات الناشطة، بما فيها الفلافونويد، القلواني، التنين، الستيرويد، الأنثراكينون، الأنثوسيانين. فهذه المستحضرات تعرقل نشأة جرثومة السلمونيلة التيفية، وهي الجرثومة التي تخلط الأطعمة وتسبب داء الحمى التيفية. يهدف هذا البحث إلى معرفة نشاطة مضاد الجراثيم مستخرج إيثانول 70% من ورقة كف مريم نحو نشأة جرثومة السلمونيلة التيفية وتعيين التركيز التثبيطي الأدنى. يستخدم هذا البحث مستخرج إيثانول 70% من ورقة كف مريم بتركيز 20%، 15%، 10%، 5%، والتحكم الموجب (كلورامفينيكول 30 مليغرام/مليلتر). فالبيانات المكتسبة هي قطر القطاع المعرقل. ويتم التحليل الإحصائي باستخدام ANOVA للاختبار بأحادي الاتجاه. فنتائج البيانات تدل على أن مستخرج إيثانول 70% من ورقة كف مريم له نشاطة مضاد الجراثيم نحو نشأة جرثومة السلمونيلة التيفية بالتركيز الأعلى 20% حيث تنتج على قطر القطاع المعرقل بنسبة 2,37; 2,21; 2,1; 1,96 مليمتر. فنتائج التركيز التثبيطي الأدنى من مستخرج إيثانول 70% من ورقة كف مريم يشيرها عدم نشأة جرثومة السلمونيلة التيفية في التركيز الأدنى 5%. فالبيانات الإحصائية تدل على أن بين مجموعة العلاج في هذا البحث لا يفترق كثيرا بعضه ببعض $P\text{-value} > 0,05$.

الكلمات الرئيسة: *Vitex trifolia* Linn.، السلمونيلة التيفية، إيثانول 70%، التركيز التثبيطي الأدنى

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Demam tifoid atau sering disebut tifus abdominalis adalah penyakit infeksi akut pada saluran pencernaan yang berpotensi menjadi penyakit multi sistemik yang disebabkan oleh bakteri *Salmonella typhi* (Muttaqin, A dan Kumala, S. 2011). Bakteri *S. typhi* dapat ditularkan melalui makanan dan minuman yang terkontamiasi oleh kotoran atau tinja dari penderita demam tifoid (Arjoso, 2010). Gejala-gejala sistemik demam tifoid antara lain demam, muntah, sakit kepala dan diare (Arifin, 2009).

Demam tifoid menjadi salah satu masalah kesehatan yang banyak terjadi di Negara berkembang dan tropis (Rohman, 2010). Setiap tahun diperkirakan terjadi 12,6 juta kasus dan sekitar 600.000 kematian yang diakibatkan oleh demam difoid di seluruh dunia (WHO, 2014). Pada tahun 2008 di Negara-negara berkembang seperti Asia demam tifoid diperkirakan 216.000-600.000 dengan 80% kasus kematian. (Abro *et al*., 2009). Pada tahun 2008, *Communicable Disease Centre* (CDC) dari Indonesia melaporkan bahwa prevalensi untuk demam tifoid adalah 358-810 per 100.000 penduduk dengan 64% terjadi pada anak usia 3-9 tahun (Moeharjo, 2009). Berdasarkan profil kesehatan Indonesia tahun 2010, penderita demam tifoid menempati urutan ke-3 dari 10 penyakit terbanyak yang dirawat inap di rumah sakit yaitu sebanyak 41.081 kasus dan 279 diantaranya meninggal dunia (Depkes RI, 2010). Berdasarkan data Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Timur di Kota

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Malang pada tahun 2013 terdapat 350 penderita demam tifoid. Hal ini menunjukkan bahwa prevalensi penyakit demam tifoid di Kota Malang masih tinggi yaitu 20% dari jumlah penderita demam tifoid di Jawa Timur.

Allah SWT berfirman dalam surat Abasa (80): 24.

فَلْيَنظُرِ ٱلْإِنسَٰنُ إِلَىٰ طَعَامِهِۦٓ

Artinya: *"Maka hendaklah manusia itu memperlihatkan makanannya"QS. Abasa (80): 24.*

Quthb (2001) menafsirkan bahwa makanan merupakan sesuatu yang paling lekat dan selalu dekat dengan manusia. Makanan yang telah masuk ke dalam tubuh akan mengalami beberapa perubahan, kemudian diserap oleh sel-sel dan menjadi bagian dari tubuh. Menurut Faqih (2006) makna lari lafadz "يَنظ " bukan hanya melihat secara sederhana, tetapi bermakna memperlihatkan secara mendalam tentang masalah-masalah terpenting dari susunan makanan serta hubungan terjaga kerusakan tubuh. Makanan yang tidak sehat seperti terkontaminasi oleh mikroorganisme seperti *S. typhi* perlu diwaspadai karena dapat mengakibatkan buruk bagi kesehatan. Dengan demikian, manusia harus mempertimbangkan aspek kesehatan dan syariat dalam mengonsumsi makanan agar terhindar dari berbagai penyakit baik jasmani dan rohani.

Agama Islam telah memperhatikan masalah kesehatan. Rasulullah SAW telah memberikan petunjuk melalui sabdanya bahwa setiap penyakit tentulah ada obatnya dan setiap orang beriman wajib mempercayainya. Hadistnya sebagai berikut:

إِنَّ اللهَ لَمْ يَنْزِلْ دَاءً إِلاَّ أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً، عَلِمَهُ مَنْ عَلِمَهُ وَجَهِلَهُ مَنْجَهِلَهُ

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Artinya:"*Sesungguhnya Allah tidaklah menurunkan sebuah penyakit melainkan menurunkan pula obatnya. Obat itu diketahui oleh orang yang bisa mengetahuinya dan tidak diketahui oleh orang yang tidak bisa mengetahuinya*."*(HR. Ahmad, Ibnu Majah, dan Al-Hakim, beliau menshahihkannya dan disepakati oleh Adz-Dzahabi).*

Terapi dalam pengobatan demam tifoid adalah antibiotik. Antibiotik pilihan pertama dalam pengobatan demam tifoid adalah Kloramfenikol sebesar 53,55% (Alam, 2011). Penggunaan antibiotik harus berdasarkan resep dokter, di masyarakat sering terjadi ketidakpatuhan aturan pakai dan penggunaan antibiotik yang berlebihan sehingga dapat menyebabkan terjadinya resistensi terhadap antibiotik (Bari *et al*., 2008). Sehingga, saat ini masyarakat mulai beralih pada pengobatan tradisional, karena untuk meminimalisir penggunaan obat-obatan kimia. Oleh karena itu, perlu dilakukan pengembangan penelitian sebagai antibiotik dari bahan alam (Utami, 2013).

Allah SWT menciptakan berbagai macam tumbuhan di dunia agar dapat dimanfaatkan oleh mkhluk hidup khususnya manusia di muka bumi. Allah SWT berfirman dalam QS. Asy Syu'ara (26): 7.

اَوَلَمْ يَرَوْا اِلَى الْاَرْضِ كَمْ اَنْۢبَتْنَا فِيْهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيْمٍ

Artinya: "*Dan apakah mereka tidak memperlihatkan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam (tumbuh-tumbuhan) yang baik*?" *QS. Asy Syu'ara (26): 7.*

Shihab (2002) menafsirkan dalam ayat tersebut bahwa Allah SWT menumbuhkan segala tumbuhan dibumi dengan berbagai manfaat. Sehingga penelitian terkait bahan alam penting untuk dilakukan agar dapat mengeksplor manfaat-manfaat yang terdapat pada tumbuhan. Penggunaan bahan alam sebagai obat mengalami peningkatan, masyarakat cenderung menerapkan gaya hidup *back*

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

to nature (kembali ke alam). Hal ini dikarenakan bahan baku dari bahan alam yang relatif sedikit efek sampingnya dibandingkan dengan obat sintesis (Djauhari dan Hermani, 2004).

Indonesia merupakan salah satu Negara dengan keanekaragaman hayati yang tinggi. Kesuburan tanah dan kondisi iklim tropis memungkinkan mampu untuk hidup berkembangbiak di wilayah Indonesia. Salah satu tanaman di Indonesia yang dapat dimanfaatkan sebagai tanaman obat adalah Legundi (*Vitex trifolia* Linn.). Legundi adalah tumbuhan yang tergolong pada familia *Verbemaceae*. Legundi merupakan tumbuhan perdu atau pohon kecil yang berpotensi sebagai salah satu sumber fitofarmaka Indonesia (Agusta, 2000).

Efek farmakologi Legundi diantaranya sebagai obat influenza, demam, migrain, sakit kepala, muntah darah pembunuh serangga, tifus, haid tidak teratur (Hariana, A. 2009). Daun Legundi berkhasiat sebagai analgesik, antipiretik, obat luka, peluruh kencing, peluruh kentut, pereda kejang, pembunuh kuman (*germicide*), obat cacing, TBC, membunuh serangga, demam nifas, dan tifus atau demam tifoid (Sudarsono *et al*., 2002). Berdasarkan literatur tersebut peneliti ingin mengetahui potensi daun Legundi dalam upaya pengobatan demam tifoid dengan mengahambat pertumbuhan bakteri *S. typhi* dan mengetahui kosentrasi yang tepat dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

Tanaman Legundi memiliki kandungan senyawa seperti flavonoid, alkaloid, terpenoid, tanin, saponin, sterol (β-sitosterol dan β-sitosterol-β-D-glukosida), karbohidrat, protein dan asam amino (Iqlima, 2016). Berdasarkan penelitian sebelumnya, senyawa yang terkandung dalam daun legundi yaitu minyak atsiri,

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

alkaloid, terpenoid, flavonoid (persikogenin, artemetin, luteolin, penduletin, viteksikarpin, dan keisosplenol-D), saponin, tanin, glukosida, protein dan karobohidrat (Lina, 2006).

Senyawa alami yang berpotensi sebagai antibakteri mengandung flavonoid, tannin, steroid, polifenol, terpenoid, alkaloid dan saponin (Nuriyah, 2016). Berdasarkan penelitian sebelumnya menyebutkan senyawa aktif yaitu fenol, flavonoid, saponin dan tanin mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. typhi* (Putri, 2013). Selain itu juga, aktivitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. typhi* karena adanya senyawa alkaloid, flavonoid dan fenol (Alfiah, 2012). Berdasarkan literatur tersebut dapat diketahui senyawa-senyawa yang diduga mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. typhi* dari tanaman daun Legundi diantaranya merupakan golongan senyawa alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin.

Golongan senyawa alkaloid, flavonoid, tannin dan saponin dapat dilakukan penarikan senyawa menggunakan ekstraksi. Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi harus memiliki tingkat kepolaran yang sesuai dengan senyawa yang akan diekstrak. Etanol umumnya baik untuk melarutkan senyawa aktif yang diduga berkhasiat sebagai antimikroba seperti alkaloid, flavonoid, tannin dan saponin (Apriyuslim *et al.*, 2017). Berdasarkan penelitian yang pernah dilakukan, golongan senyawa alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin daun Legundi dapat diekstraksi menggunakan etanol 70% (Iqlima *et al*., 2016). Ekstrak daun Legundi diekstraksi menggunakan pelarut etanol 70% dengan metode *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE) karena untuk meminimalisir waktu dan jumlah pelarut yang digunakan

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

(Ardian dan Kusnadi, 2014). Untuk mendapatkan ekstrak kental, oven ekstrak pada suhu 41-45°C selama 24 jam (Marliana *et al*., 2015).

Oleh karena itu dalam penelitian uji aktivitas antibakteri daun Legundi terhadap *S. typhi* menggunakan pelarut etanol 70% dengan perbandingan ekstrak dengan konsentrasi 5%, 10%, 15% dan 20% (b/v). Penelitian ini dilakukan ekstraksi daun Legundi dengan metode UAE dan metode uji bakteri *S. typhi* menggunakan difusi kertas cakram (*paper disk*) dan menentukan nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) terhadap bakteri *S. typhi* ditandai tidak adanya bakteri pada konsentrasi ekstrak terendah.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah ekstrak etanol 70% daun Legundi memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. typhi*?
2. Berapakah nilai KHM ekstrak etanol 70% daun Legundi terhadap bakteri *S. typhi*?

1.3 Tujuan Penelitian

a. Tujuan umum

Untuk membuktikan aktivitas antibakteri ekstrak etanol 70% daun Legundi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. typhi* .

b. Tujuan Khusus

1. Mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol 70% daun Legundi terhadap bakteri *S. typhi.*
2. Mengetahui nilai KHM ekstrak daun Legundi terhadap bakteri *S.typhi.*

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

1.4 Manfaat Penelitian

1. Manfaat bagi Peneliti

   Manfaat bagi peneliti dapat digunakan sebagai landasan ilmiah untuk penelitian selanjutnya.

2. Manfaat bagi Lembaga

   Manfaat bagi lembaga dapat memberikan pengetahuan dan pemahaman serta pengembangan daun Legundi sebagai antibakteri *S. typhi*.

3. Manfaat bagi Masyarakat

   Manfaat bagi masyarakat dapat memanfaatkan tanaman daun legundi sebagai obat herbal untuk penyakit demam tifoid.

1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Ekstrak yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstrak daun Legundi dengan pelarut etanol 70%.
2. Bakteri yang digunakan pada penelitian ini adalah bakteri *S. typhi* yang diperoleh dari laboratorium mikrobiologi universitas Brawijaya Malang.
3. Metode ekstraksi yang digunakan adalah UAE.
4. Metode uji mikroba menggunakan metode difusi kertas cakram.
5. Uji KHM dilakukan pada konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20% (b/v).
6. Media uji bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah media *Mueller-Hinton Agar* (MHA).
7. Antibiotik yang digunakan sebagai kontrol positif adalah Kloramfenikol (30 mg/ml).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Tentang Legundi

2.1.1 Klasifikasi Tanaman Legundi

Tumbuhan adalah salah satu dari berbagai ciptaan Allah SWT yang ada di bumi agar dapat dimanfaatkan oleh manusia. Setiap tumbuhan yang ada di muka bumi memiliki berbagai manfaat baik dari sumber makanan, sandang, papan dan sebagai sumber obat hayati.

Allah SWT berfirman dalam surat Thaha (20): 53.

الَّذِيْ جَعَلَ لَكُمُ الْاَرْضَ مَهْدًا وَّ سَلَكَ لَكُمْ فِيْهَا سُبُلًا وَّ اَنْزَلَ مِنَ السَّمَآءِ مَآءً ؕ فَاَخْرَجْنَا بِهٖۤ اَزْوَاجًا مِّنْ نَّبَاتٍ شَتّٰى

Artinya: "*Yang telah menjadikan bagimu bumi sebagai hamparan yang telah menjadikan bagimu di bumi itu jalan-jalan, dan menurunkan dari langit air hujan. Maka kami tumbuhkan dengan air hujan itu berjenis-jenis dari tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam".* (*QS. Thaha: 53*).

Allah SWT menyertakan berbagai manfaat dalam tumbuh-tumbuhan bagi manusia maupun bagi hewan. فَاَخْرَجْنَا بِهٖۤ اَزْوَاجًا mengandung arti bahwa menciptakan segala sesuatu di dunia ini berpasang-pasangan. Lafadz نَّبَاتٍ شَتّٰى memiliki makna tumbuhan yang diciptakan bermacam-macam jenis, bentuk, ukuran, rasa, warna dan manfaat (Shihab, 2002).

Ayat tersebut menjelaskan bahwa Allah SWT benar-benar telah menciptakan berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik. Tumbuhan yang baik mempunyai arti

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

bahwa berbagai tumbuhan tersebut tidak hanya sekedar tumbuh di bumi ini, melainkan juga dapat digunakan keperluan manusia karena mempunyai manfaat. Salah satu dari sekian banyak tumbuhan yang diciptakan Allah SWT adalah Legundi (*V. trifolia* L.).

Tanaman Legundi merupakan tanaman asli dari Afrika selatan yang tersebar luas di Asia, Australia dan Pulau Pasifik (Heim, 2015). Tanaman ini memiliki beberapa sinonim yakni *Vitex rotundifolia* L.f. (1781), *Vitex repens* Blanco (1837), *Vitex lagundi* Ridley (1906) (Heim, 2015). Di Indonesia khususnya di daerah Jawa disebut "Legundi" sedangkan di daerah Jawa Barat disebut "Langghundi" (Hariana, 2013).

Berdasarkan klasifikasi Legundi yaitu (Ahmed, 2012):

Kingdom : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Kelas : Dicotyledonae
Ordo : Lamiales
Familia : Verbenaceae
Genus : Vitex L.
Spesies : *Vitex trifolia* Linn.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

2.1.2 Morfologi Tanaman Legundi

Gambar 2.1 Tanaman Legundi (Ahmed, 2012)

Tanaman Legundi ini jenis tanaman semak, batang menunduk untuk menjalar, perakaran pada bagian bawah tumbuhan, percabangan berbulu halus ketika muda. Sebagian besar daun majemuk, bertangkai pendek atau petiolate, helai daun bulat telur (*spatulate*), atau melingkar, permukaan bawahnya berbulu halus, warna pada bagian bawah daun biasanya pucat hijau kusam dan lebih tua, bagian dasar halus, bagian atas daun membulat. Susunan bunga bagian poros utama terminal, daun mahkota ungu muda menjadi biru ungu, bagian luar berbulu halus. Buah ketika kering berwarna coklat gelap, berbentuk bulat (Heim, 2015).

Budidaya tumbuhan Legundi di daerah dengan ketinggian 1-100 mdpl, pada umumnya tumbuh liar pada daerah hutan jati, hutan sekunder, di tepi jalan dan pematang sawah. Perbanyakan dapat dilakukan dengan biji atu stek batang, jika menggunakan stek batang sebaiknya diambil dari batang yang tidak terlalu muda. Tumbuhan ini mudah tumbuh di segala jenis tanah, namun lebih menyukai tempat yang

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

agak kering dan pada daerah yang terbuka. Tumbuh dengan baik pada media tumbuh yang terdiri dari campuran pasir, pupuk kandang dan lempung (Thomas, 1996).

2.1.3 Kandungan dan Efek Farmakologi Legundi

Legundi memiliki rasa pahit, pedas dan bersifat sejuk. Metabolit primer atau sekunder yang terkandung dalam tumbuhan legundi yaitu flavonoid (kastisin; 3,6,7-trimetil kuersetagetin; vitexin; artemetin; 5-metil artemetin; 7-desmetil artemetin; luteolin;luteolin-7-O-β-D-glukuronida;luteolin-3-O-β3-Dglukuronidadan isoorientin), alkaloid, terpenoid, tanin, saponin, sterol (β-sitosterol dan β-sitosterol-β-D-glukosida), karbohidrat, protein dan asam amino (Iqlima, 2016). Berdasarkan penelitian sebelumnya kandungan senyawa daun legundi yaitu minyak atsiri, alkaloid, terpenoid, flavonoid (persikogenin, artemetin, luteolin, penduletin, viteksikarpin, dan keisosplenol-D), saponin, tanin, glukosida, protein dan karobohidrat (Lina, 2006).

Efek farmakologi legundi, diantaranya sebagai obat influenza, demam, migren, sakit kepala (*cephalgia*), sakit gigi, sakit perut, diare, mata merah, rematik, beri-beri, batuk, luka terpukul, luka berdarah, muntah darah, eksim, haid tidak teratur, prolapses uteri, dan pembunuh serangga. Akar legundi mempunyai efek farmakologis mencegah kehamilan dan perawatan setelah bersalin. Bijinya untuk obat pereda, penyegar badan, dan perawatan rambut. Buah legundi digunakan untuk obat cacing dan peluruh haid. Sementara itu daunnya untuk analgesik, antipiretik, obat luka, peluruh kencing, TBC, tifus atau demam tifoid, peluruh kentut, pereda kejang, menormalkan siklus haid, dan *germicida* (pembunuh kuman) (Hariana, 2013).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

2.2 Tinjauan Tentang Metode Ekstraksi

2.2.1 Definisi Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan yang pekat diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (FI V, 2015).

2.2.2 Definisi Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu proses untuk mendapatkan kandungan kimia dari suatu tanaman dan hewan dengan menggunakan pelarut atau penyari yang sesuai. Pelarut yang bisa digunakan adalah air, etanol, atau campuran dari keduanya (Depkes RI, 1995). Secara garis besar ada dua macam proses ekstraksi yaitu cara dingin dan cara panas.

2.2.3 Ekstraksi Cara Dingin

Ekstraksi dengan metode ini memiliki keuntungan yaitu meminimalkan kerusakan kandungan yang bersifat termolabil (Istiqomah, 2013).

a. Maserasi

Maserasi berasal dari bahasa latin *macerace* yang berarti mengairi atau melunakkan. Maserasi adalah salah satu dari metode ekstrak cara dingin dengan cara merendam simplisia tanaman dengan menggunakan pelarut di dalam wadah tertutup

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

selama waktu tertentu dengan diselingi pengadukan dan dilakukan pada suhu kamar (Istiqomah, 2013).

Prinsip dari metode ini adalah diperolehnya kesetimbangan antara konsentrasi di dalam dan luar sel tanaman sehingga mampu melarutkan atau mengeluarkan konstituen aktif dari dalam sel tanaman melalui mekanisme difusi. Keuntungan dari metode ini adalah pengerjaan yang cukup mudah serta dengan peralatan yang sederhana dan murah, namun metode ini juga memiliki kekurangan yaitu pengerjaannya cukup lama dan membutuhkan banyak pelarut (Istiqomah, 2013).

b. Perlokasi

Perlokasi berasal dari kata *percolare* yang berarti penetesan. Perlokasi merupakan proses penyarian dengan menggunakan prinsip mengalirkan pelarut di dalam benjana *percolator* yang telah berisi serbuk simplisia secara terus menerus sampai diperoleh ekstrak yang beratnya 1-5 kali bahan (Istiqomah, 2013).

c. *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE)

UAE merupakan energi yang dihasilkan gelombang suara dengan frekuensi di atas deteksi telinga manusia, yaitu 20 kHz sampai 500 MHz (Teddy, 2011). Ultrasonik pada intensitas rendah dan frekuensi tinggi biasanya diaplikasikan untuk evaluasi non-destruktif, sebaiknya pada intensitas tinggi dan frekuensi rendah merupakan jenis ultrasonik untuk aplikasi sonokimia. Ekstraksi dengan menggunakan gelombang ultrasonik dapat menyebabkan gangguan fisik pada dinding maupun membran sel biologis serta menurunkan ukuran partikel. Efek tersebut menyebabkan penetrasi

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

pelarut lebih baik ke dalam sel dan meningkatkan laju perpindahan massa pada jaringan serta memfasilitsi perpindahan senyawa aktif ke pelarut (Novak *et al*., 2008).

Kelebihan UAE adalah untuk mempercepat proses ekstraksi dibandingkan dengan ekstraksi termal atau ekstraksi konvensional. Metode ultrasonik ini lebih aman, lebih singkat, dan meningkatkan jumlah rendemen kasar. Ultrasonik juga dapat menurunkan suhu operasi pada ekstrak yang tidak tahan panas, sehingga cocok untuk diterapkan pada ekstraksi senyawa bioaktif tidak tahan panas (Handayani *et al.,* 2016).

2.2.4 Ekstrasi Cara Panas

a. Infusa

Infusa merupakan jenis ektraksi yang cocok digunakan untuk bahan tanaman yang lunak. Metodenya adalah dengan memanaskan benjana infusa yang berisi air dan simplisia di atas penangas air yang mendidih selama 15 menit (Istiqomah, 2013).

b. Refluks

Refluks merupakan metode ektrasksi dengan menggunakan pelarut pada titik didihnya selama bebrapa waktu tertentu dan berulang-ulang tanpa mengganti atau menambahkan pelarut, hal ini bisa dilakukan karena terdapat mekanisme pendinginan balik sehingga pelarut yang menguap akan kembali mengembun dan masuk ke dalam wadah untuk diuapkan lagi (Istiqomah, 2013).

c. Digesti

Digesti merupakan jenis kinetik (menggunakan pengadukan) namun tidak dilakukan pada suhu ruangan melainkan pada suhu 40-50° C (Istiqomah, 2013).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

d. Dekokta

Dekokta secara prinsip mirip dengan infusa hanya saja waktu yang digunakan untuk menyari lebih lama yaitu 30 menit. Metode ini cocok digunakan untuk simplisia tanaman yang keras seperti akar atau batang tanaman (Istiqomah, 2013).

e. Soxhletasi

Soxhletasi merupakan suatu metode penyarian cara panas dengan prinsip menyerupai refluks hanya saja dengan menggunakan suatu alat khusus yaitu ekstraktor soxhlet. Metode ini menggunakan suhu yang lebih rendah dibandingkan refluks dan memungkinkan penggunaan pelarut yang lebih sedikit (Istiqomah, 2013).

2.3 Tinjauan Tentang Pelarut

Ekstraksi dapat menggunakan pelarut tunggal dan pelarut campuran. Syarat pelarut yang digunakan pertama harus bersifat selektif artinya pelarut harus dapat melarutkan semua senyawa dengan cepat. Syarat kedua harus mempunyai titik didih yang cukup rendah. Hal ini supaya pelarut mudah dapat diuapkan tanpa menggunakan suhu tinggi, namun titik didih pelarut tidak boleh terlalu rendah karena akan mengakibatkan kehilangan akibat penguapan. Syarat ketiga bersifat *inert* artinya pelarut tidak bereaksi dengan komponen minyak. Syarat keempat carilah pelarut yang murah dan mudah di dapatkan (Agoes, 2007).

Adapun pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah ethanol. Ethanol adalah termasuk dalam alkohol primer, yang berarti bahwa karbon yang berikatan dengan gugus hidroksil paling tidak memiliki dua atom hidrogen yang saling berikatan.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Reaksi kimia etanol kebanyakan pada gugus hidroksilnya. Etanol termasuk dalam alkohol rantai tunggal, dengan rumus kimia C_2H_5OH dan rumus empiris C_2H_6O (Lei *et al*.,2002).

Gambar 2.2 Struktur kimia etanol (Sebayang, 2006)

2.4 Tinjauan Tentang Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

KLT adalah metode pemisahan fitokimia yang didasarkan pada perbedaan distribusi molekul-molekul komponen diantara dua fase (fase gerak/eluen dan fase diam/adsorben) yang berbeda tingkat kepolarannya. KLT merupakan bentuk kromatografi planar yang digunakan untuk memisahkan senyawa-senyawa yang sifatnya hidrofob seperti lipida-lipida dan hidrokarbon (Sastrohamidjojo, 1991). Lapisan pemisahan terdisi atas bahan fase diam, ditempatkan pada penyangga berupa plat gas, logam atau lapisan yang cocok, campuran yang dipisah berupa larutan, ditotolkan berupa bercak. Setelah plat atau lapisan ditaruh di dalam bejana tertutup rapat yang berisi fase gerak yang cocok, pemisahan terjadi selama perambatan kapiler (pengembangan). Prinsip pemisahan KLT yaitu adanya perbedaan kepolaran antara sampel dengan pelarut atau eluen yang digunakan. Selain citu, hal yang harus diperhatikan adalah memilih kondisi kerja yang optimum yang meliputi sifat pengembang, atmosfer bejana dan lain-lain (Stahl, 1985).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

2.4.1 Fase Diam dan Fase Gerak

KLT hakikatnya melibatkan 2 fase yaitu fase diam dan fase gerak. Fase diam dapat berupa serbuk halus yang berfugsi sebagai permukaan penjerap, penyangga atau lapisan zat cair. Pada penelitian ini digunakan fase diam berupa silika gel yang mampu menjerap senyawa yang akan dipisahkan. Lapisan tipis (plat silika gel F_{254}) yang digunakan dalam penelitian ini mengandung indikator flourosensi yang ditambahkan untuk mmbantu menampakkan bercak tak warna pada plat yang telah dikembangkan. Indikator flourosensi adalah senyawa yang memancarkan sinar (lampu UV) (Gritter *et al*.,1991).

Fase gerak dapat berupa hampir segala macam pelarut atau campuran pelarut. Pada penelitian ini digunakan menggunakan penyari yang digunakan adalah etanol, karena penyari etanol dapat melarutkan hampir semua senyawa-senyawa yang ada pada sampel, baik senyawa polar maupun non polar (Mubarak *et al*., 2018). Identifikasi senyawa-senyawa yang terpisah pada kromatografi lapis tipis dapat menggunakan harga *Retardation factor* (R_f) yang menggambarkan jarak yang ditempuh suatu komponen terhadap jarak keseluruhan. Harga R_f dapat dicari dengan menggunakan rumus :

$$\text{Harga Rf} = \frac{Jarak\ yang\ ditempuh\ solute}{Jarak\ yang\ tempuh\ fase\ gerak}$$

2.4.2 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia adalah pemeriksaan kandungan kimia secara kualitatif untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam suatu tumbuhan. Pemeriksaan

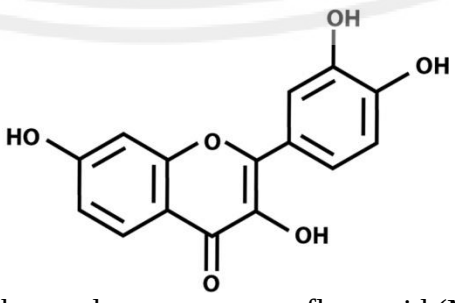
CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

diarahkan pada senyawa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antibakteri pada daun Legundi adalah sebagai berikut:

a. Uji Golongan Senyawa flavonoid

Senyawa flavonoid merupakan golongan terbesar dari senyawa polifenol yang ditemukan di alam (Lenny, 2006). Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenol yang berperan dalam mengikat protein, sehingga mengganggu proses metabolisme (Ganiswara, 1995). Mekanisme kerja senyawa flavonoid dalam merusak membran sel bakteri yaitu membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler sehingga membrane sel bakteri rusak dan diikuti dengan masuknya air yang tidak terkontrol ke dalam sel bakteri, hal ini menyebabkan pembengkakan dan akhirnya membrane sel bakteri pecah (Black, 1993).

Selain itu, senyawa flavonoid memiliki kemampuan mendenaturasi protein sel bakteri dengan cara membentuk ikatan hydrogen kompleks dengan protein sel bakteri. Sehingga, struktur dinding sel dan membran sittoplasma bakteri yang mengandung protein menjadi tidak stabil dan kehilangan aktivitas biologinya, akibatnya terganggu dan sel bakteri akan mengalami lisis yang berakibat pada kematian sel bakteri (Harbone, 1987).



Gambar 2.3 Struktur golongan senyawa flavonoid (Maslarova, 2001)

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

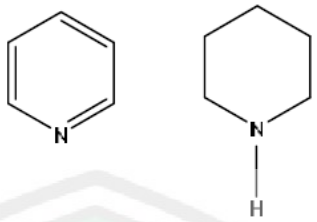
b. Uji Golongan Senyawa Alkaloid

Alkaloid adalah suatu golongan senyawa organik yang banyak ditemukan pada tumbuh-tumbuhan dan tersebar luas dalam berbagai jenis tumbuhan. Alkaloid merupakan senyawa nitrogen heterosiklik, diketahui memiliki aktivitas antimikroba. Senyawa alkaloid dapat menghambat aktivitas bakteri gram positif dan negatif secara *in vivo*, namum mekanismenya belum jelas (Novalina *et al*., 2013). Menurut Robinson (1995) mekanisme alkaloid dapat mengganggu terbentuknya komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian pada bakteri.

Pengujian alkaloid dilakukan dengan kromatografi lapis tipis. Alkaloid dapat tertarik pada pelarut etanol karena senyawa alkaloid bersifat polar. Reaksi positif yang terjadi pada uji alkaloid adalah endapan pada pereaksi Mayer (Padmasri *et al*., 2013). Endapan yang terjadi pada pereaksi mayer terjadi ikatan kompleks antara kalium dengan alkaloid, pada pembuatan peraksi mayer, larutan merkurium (II) klorida ditambah kalium iodida akan beraksi membentuk endapan merah merkurium (II) iodida (Marliana *et al*., 2005).

Prinsip uji alkaloid pada dasarnya adalah pengendapan alkaloid dengan logam-logam berat. Pereaksi Dragendrof digunakan untuk mendekteksi untuk mendeteksi adanya alkolid dikarena pereksi ini mengandung bismut yang merupakan logam berat atom tinggi (Sirait, 2007). Pemisahan alkaloid dengan KLT dapat menggunakan pereaksi penyemprot Dragendroff. Setelah disemprot, plat akan menunjukkan bercak coklat-jingga, orange-merah, atau coklat berlatar kuning (Harborne, 1987).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG



Gambar 2.4 Struktur golongan senyawa alkaloid (Robinson, 1995)

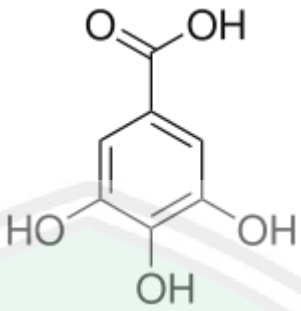
c. Uji Golongan Senyawa Tanin

Senyawa tanin merupakan komponen zat organik yang terdapat dalam beberapa jenis tanaman terutama tanaman berkeping dua (dikotil). Ekstrak tanin terdiri dari campuran senyawa polifenol yang sangat kompleks dan biasanya tergabung dari korbohidrat rendah seperti glukosa (Linggawati, 2002).

Mekanisme tannin yaitu merusak dinding sel bakteri dengan cara meracuni polipeptida dinding sel, hal ini menyebabkan terjadinya tekanan osmotik maupun fisik sel bakteri sehingga sel bakteri akan mati. Tannin dalam kosentrasi rendah mampu menghambat pertumbuhan bakteri, sedangkan pada kosentrasi tinggi tannin bekerja dengan membentuk ikatan yang stabil dengan pritein bakteri sehingga protoplasma bakteri terkoagulasi (Wiryawan *et al.*, 2000). Selain itu, tannin memiliki kemampuan untuk menginaktifkan adhesin dan enzim sek mikroba, serta mengganggu transport protein pada lapisan sel (Sari, 2011).

Pengujian golongan senyawa tannin dengan fase gerak methanol-air (6:4) dengan penampak noda pereaksi FeCl3 5%. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya noda berwarna hitam (Banu, 2014).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

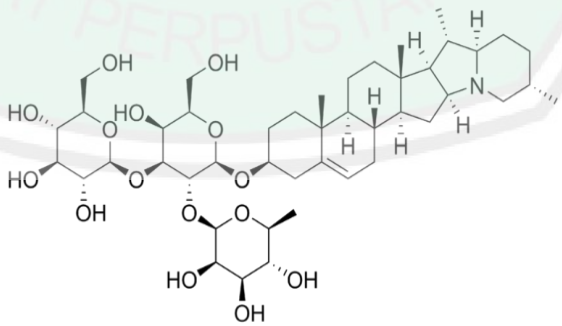


Gambar 2.5 Struktur golongan senyawa tanin (Linggawati, 2002)

d. Uji Golongan Senyawa Saponin

Saponin secara umum merupakan glikosida yang memiliki aglikon barupa steroid dan tuterpen. Saponin adalah senyawa yang dapat menimbulkan busa bisa dikocok dalam air. Saponin dapat menyebabkan hemolysis pada sel darah merah. Hal ini disebbkan karena saponin berikatan dengan kolesterol dan membrane sel sehingga dapat merusak membran (Faradisa, 2008).

Mekanisme antibakteri saponin sebagai antibakteri memiliki 3 cara, yaitu menghambat permeabilitas membran sel, menghambat síntesis dinding sel dan menghambat síntesis protein dengan cara membentuk senyawa kompleks dengan protein bakteri melalui ikatan hidrogen (Rinawati, 2011).



Gambar 2.6 Struktur golongan senyawa saponin (Robinson, 1995)

2.5 Tinjauan Tentang Demam Tifoid

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Agama Islam mengajarkan umatnya untuk memperhatikan masalah kesehatan salah satunya ialah menjaga kebersihan. Islam mengajarkan kebersihan sebagai ibadah dengan cara untuk mendekatkan diri kepada Allah SWT bahkan kebersihan menjadi salah satu kewajiban bagi setiap muslim (Al-Qurdhawy, 1999).

Rasulullah SAW bersabda:

عَنْ سَعْدِبْنِ اَبِى وَقَّاصٍ عَنْ اَبِيْهِ عَنِ النَّبِيِّ صَلَّى اللهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ اِنَّ اللهَ طَيِّبٌ يُحِبُّ الطَّيِّبَ نَظِيْفٌ يُحِبُّ النَّظَافَةَ كَرِيْمٌ يُحِبُّ الْكَرَمَ جَوَادٌيُحِبُّ الْجَوَادَفَنَظِّفُوْااَفْنَيْتَكُمْ

Artinya: *"Sesungguhnya Allah SWT baik (dan) menyukai kebaikan, **bersih** (dan) menyukai kebersihan, mulia (dan) menyukai kemuliaan, bagus (dan) menyukai kebagusan. Oleh sebab itu, bersihkanlah lingkunganmu". (HR. At-Turmudzi).*

Hadist tersebut menjelaskan bahwa Islam merupakan agama yang bersih. Oleh karena itu umuat Islam harus menjaga kebersihan baik kebersihan jasmani maupun rohani. Selain itu, dengan menjaga kebersihan jasmani, maka seseorang akan terhindar dari berbagai penyakit khususnya yang disebabkan oleh infeksi bakteri salah satunya adalah demam tifoid.

Demam tifoid merupakan penyakit infeksi akut pada saluran pencernaan yang disebabkan *S. typhi*. Penyakit ini erat dengan *higiene* pribadi dan sanisitas lingkungan, seperti *higiene* perorangan, *higiene* makanan, lingkungan kumuh, kebersihan tempat-tempat umum yang kurang mendungkung untuk hidup sehat (Seran, 2015). Penularan penyakit ini melalui makanan dan minuman yang telah terkontaminasioleh feses atau urin dari penderita demam tifoid (Darmawati, 2009).

2.5.1 Epidemologi Demam Tifoid

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Demam tifoid merupakan penyakit infeksi yang dijumpai di seluruh dunia, secara luas di daerah tropis dan subtropis terutama di daerah dengan kualitas sumber air yang tidak memadai dengan standar higienis dan sanitasi yang rendah yang mana di Indonesia dijumpai dalam keadaan endemis (Putra, 2012).

Menurut *World Health Organization* (WHO) pada tahun 2003 terdapat 17 juta kasus demam tifoid per tahun di dunia dengan jumlah kematian mancapai 600.000 kematian dengan *Case Fatality Rate* (CFR = 3,5%). Insedens rate demam tifoid di Negara Eropa 3 per 100.000 penduduk, 12 di Afrika yaitu 50 per 100.000 penduduk, dan di Asia 274 per 100.00 penduduk (Crump, 2004). Insidens rate di Indonesia masih tinggi yaitu 358 per 100.000 penduduk pedesaan dan 810 per 100.000 penduduk perkotaan per tahun dengan rata-rata kasus per tahun 600.000-1.500.000 penderita. Angka kematian demam tifoid di Indonesia masih tinggi dengan CFR sebesar 10%. Tingginya inseidens rate penyakit demam tifoid di Negara berkembang sangat erat kaitannya dengan status ekonomi serat keadaan sanitasi lingkungan di Negara yang bersangkutan (Nainggolan, 2009).

2.5.2 Etiologi Demam Tifoid

Etiologi demam tifoid adalah *S.typhi*. Mikroorganisme ini merupakan bakteri gram negatif, bersifat aerob dan tidak membentuk spora. Bakteri ini mempunyai beberapa komponen antigen, yaitu:

a) Antigen dinidng sel (O) yang merupakan lipopolisakarida dan bersifat spesifik group,

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

b) Antigen flagella (H) yang merupakan komponen protein dalam flagella dan bersifat spesifik spesies,

c) Antigen virulen (Vi) merupakan polisakarida dan berada di kapsul yang melindungi seluruh permukaan sel.

Antigen Vi berhubungan dengan daya invasif bakteri dan efektivitas vaksin. *S. typhi* menghasilkan endotoksin yang merupakan bagian terluar dari dinding sel, terdiri dari antigen O yang sudah dilepaskan, lipopolisakarida dan lipid A. Ketiga antigen di atas di dalam tubuh akan membentuk antibodi aglutinin. Antigen ke empat adalah *Outer Membrane Protein* (OMP). Antigen OMP merupakan bagian dari dinding sel terluar yang terletak di luar membran sitoplasma dan lapisan peptidoglikan yang membatasi sel dengan lingkungan sekitarnya. *S.typhi* hanya dapat hidup pada tubuh manusia. Sumber penularan berasal dari tinja dan urine karier, dari penderita pada fase akut dan penderita dalam fase penyembuhan (Sucipta, 2015).

2.5.3 Patogenesis Demam Tifoid

Menurut (Juwono *et al*., 1996) patolofisiologi demam tifoid sebagai berikut:

Infeksi pada bakteri *S. typhi* adalah menelan, diikuti dengan penetrasi melalui mukosa intestinal. Penyakit yang dihasilkan tergantung dari beberapa faktor:

1. Jumlah organism yang tertelan
2. Keadaan asam lambung
3. Adanya antigen Vi

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Patogenesis demam tifoid merupakan proses yang kompleks yang melalui beberapa tahapan. Setelah kuman *S. typhi* tertelan, bakteri tersebut dapat bertahan terhadap asam lambung dan masuk ke dalam tubuh melalui mukosa usus pada ileum terminalis. Di usus, bakteri melekat pada mikrofili, kemudian melalui barier usus yang melibatkan mekanisme *membrane ruffling*, *actin rearrangement*, dan internalisasi dalam vakuola intrasluler. Kemudian *S. typhi* menyebar ke sistema limfoid mesenterika dan masuk ke dalam pembuluh darah melalui sistema limfatik. Bakterimia primer terjadi pada tahap ini dan biasanya tidak didapatkan gejala dan kultur darah biasanya masih memberikan hasil negatif. Periode inkubasi ini terjadi selama 7-14 hari (Bhutta ZA, 2006).

Bakteri dalam pembuluh darah ini akan menyebar ke seluruh tubuh dan berkolonisasi dalam organ-organ sistema retikuloendotelial, yaitu di hati, limfa dan sumsum tulang. Bakteri juga dapat melakukan replikasi dalam makrofag. Setelah periode replikasi, bakteri akan disebarkan kembali ke dalam sistem peredaran darah dan menyebabkan bakterimia sekunder sekaligus menandai berakhirnya periode inkubasi. Bekterimia sekunder menimbulkan gejala klinis seperti demam, sakit kepala, dan nyeri abdomen (Monthly, 2006).

Bakteremia dapat menetap selama beberapa minggu bila tidak diobati dengan antibiotik. Pada tahapan ini, bakteri tersebar luas di hati, limfa, sumsum tulang, kandung empedu, dan *Peyer's patches* di mukosa ileum terminal. Ulserasi pada *Peyer's patches* dapat terjadi melalui proses inflamasi yang mengakibatkan nekrosis dan

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

isquemia. Komplikasi perdarahan dan perforasi usus dapat menyusul ulserasi (Nelwan, 2012).

2.5.4 Penatalaksanaan Demam Tifoid

Prinsip penatalaksanaan dema tifoid masih menganut trilogi penatalaksanaan yang meliputi istirahat dan perawatan. Terapi penunjang seperti memperhatikan makanan bebas serat. Agar menghindari komplikasi pendarahan saluran cerna usus dan memberi cairan adekuat untuk mencegah dehidrasi akibat muntah dan diare serta pemberian antimikroba (Kemenkes, 2006).

Pada demam tifoid obat pilihan yang digunakan dibagi menjadi lini pertama dan lini ke dua. Kloramfenikol, kotrimosazol, dan amoxicillin adalah obat demam tifoid lini pertama. Lini kedua adalah kuinolon (tidak dianjurkan untuk anak umur dibawah 18 tahun), Cefixim dan Seftriakson. Kloramfenikol dengan dosis 4 x 500 mg per hari dapat diberikan secara oral maupun intravena, diberikan sampai dengan 7 hari. Kloramfenikol bekerja mengikat unit ribosom dari bakteri *S. typhi* dan menghambat pertumbuhan síntesis protein, kerugian penggunaan Kloramfenikol adalah angka kekambuhan yang tinggi (5-7%), penggunaan jangka panjang selama 14 hari (Santoso, 2009).

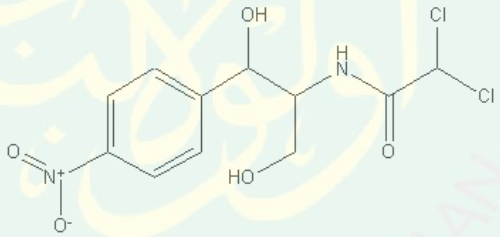
2.5.5 Tinjauan Tentang Kloramfenikol

Kloramfenikol merupakan antibiotik bakteriostatik berspektrum luas yang aktif terhadap organisme-organisme aerobik dan anaerobik Gram positif maupun negatif. Sebagian besar bakteri Gram positif dihambat pada konsentrasi 1-10 μg/mL, sementara

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

kebanyakan bakteri Gram negatif dihambat pada konsentrasi 0,2 - 5 µL/mL. Kloramfrnikol berwarna putih sampai putih kelabu atau putih kekuningan, hablur halus berbentuk jarum atau lempeng memanjang, tidak berbau rasa sangat pahit. Kelarutan Kloramfenikol larut dalam lebih kurang 400 bagian air, dalam 2,5 bagian etanol (95%) P dan dalam 7 bagian propilenglikol P; sukar larut dalam Kloroform P dan dalam eter. Penyimpanan Kloramfenikol dalam wadah tertutup baik dan terlindung cahaya. Penggunaan Kloramfenikol untuk antibiotik (Farmakope 1V,1995).

Mekanisme kerja Kloramfenikol sebagai antibakteri yaitu melalui penghambatan terhadap pembentukan ikatan peptide dan biosintesis protein pada siklus pemanjangan rantai asam amino, dengan cara mengikat sub unit ribosom 50-S sel mikroba target (Ganiswara, 1995).



Gambar 2.7 Struktur kimia kloramfenikol

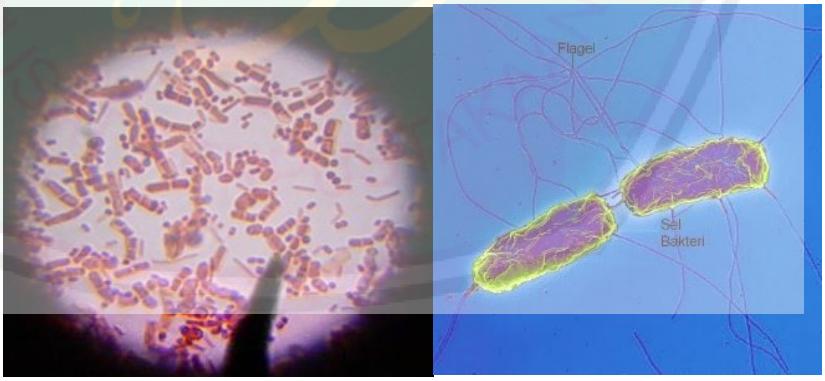
CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

2.6 Tinjauan Tentang Bakteri *Salmonella typhi*

2.6.1 Klasifikasi Bakteri *Salmonella typhi*

S. typhi merupakan bakteri yang berbentuk batang, tidak berspora, memiliki ukuran lebar antara 0,7 - 1,5 µm dan panjang 2,0 - 5,0 µm, besar koloni rata-rata 24 mm, dominan bergerak dengan flagel peritrik dan termasuk bakteri gram negatif dengan klasifikasi sebagai berikut (Batt dan Tortorello 2014).

Kingdom : Bacteria
Divisi : Proteobacteria
Class : Gammaprotobacteria
Ordo : Enterobacteriales
Famili : Enterobacteriaceae
Genus : *Salmonella*,
Species : *Salmonella typhi*



Gambar 2.8 Bakteri *Salmonella typhi* dengan pewarnaan gram secara mikroskopik (Kawano, 2007)

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

2.6.2 Morfologi dan Fisiologi *Salmonella typhi*

S. typhi merupakan bakteri gram negatif, tidak berspora, tidak mempunyai simpai, tanpa fimbria, dan mempunyai flagel peritrik, kecuali *S. pullorum* dan *S. gallinarum*. Ukuran 1-3,5 µm x 0,5-0,8 µm. Besar koloni dalam media perbenihan rata-rata 2-4 mm (Radji, 2009).

Pada umumnya, bakteri *S. typhi* bersifat patogen dan dapat menginfeksi manusia dan hewan. Di alam bebas *S. typhi* dapat tahan hidup lama dalam air, tanah atau pada bahan makanan. Dalam feses diluar tubuh manusia tahan hidup 1-2 bulan. Dalam air susu dapat berkembang biak dan hidup lebih lama, hal ini dikarenakan didalam air susu terdapat protein lemak dan gula yang merupakan substrat saprofit (Monica *et al*., 2013).

S. typhi tumbuh pada suasana aerob dan fakultatif anaerob, pada suhu 15-41°C (suhu optimum 37,5°C) dan pada pH pertumbuhan 6-8. Pada umunya isolat kuman *Salmonella* dikenal dengan sifat-sifat gerak positif, reaksi fermentasi terhadap manitol dan sorbitol positif dan memberikan hasil negatif pada reaksi indol, fenilalanin deaminase, urease, voger proskauer, rekasi fermentasi terhadap sukrosa dan laktosa. Sebagian besar isolat *Salmonella* yang berasal dari bahan klinik yang menghasilkan H2S. Akan tetapi *S. typhi* hanya membentuk sedikit H2S dan tidak membentuk gas pada fermentasi glukosa. Pada agar SS, Endo, EMB dan *Mac Conkey* koloni kuman berbentuk bulat, kecil dan tidak berwarna, pada agar Wilson-Blair koloni kuman berwarna hitam (Radji, 2009).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

2.7 Tinjauan Tentang Metode Uji Aktivitas Antibakteri

Penguji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan dua metode yaitu metode dilusi (pengenceran) atau metode difusi (perembesan) (Jawetz *et al.*, 2005).

2.7.1 Metode Difusi

Pada metode difusi ada 4 jenis metode diantaranya metode *disk difussion* (*tes Kirby & Bauer*), *ditch-plate technique, cup-plate technique, E-test.*

a. Metode *disk difussion* (*tes Kirby & Bauer*)

Metode difusi cakram merupakan cara yang paling sering digunakan untuk menetukan kepekaan antibakteri terhadap suatu antibiotik. Pada cara ini digunakan suatu cakram keras saring (*paper disk*) yang berfungsi sebagai tempat menampung zat antimikroba. Kertas saring tersebut kemudian diletakkan pada lempeng agar yang telah diinokulasi mikroba uji, kemudian diinkubasi pada waktu tertentu dan suhu tertentu sesuai dengan kondisi optimum dari mikroba uji.

Pada umumnya, hasil yang di dapat bisa diamati setelah inkubasi selama 18-24 jam dengan suhu 37°C. Hasil pengamatan yang diperoleh berupa ada atau tidaknya daerah bening yang terbentuk di sekelililng kertas cakram yang menunjukkan zona hambat pada pertumbuhan bakteri (Pelczar & Chan, 1988). Menurut Pratiwi (2009) prinsip metode cakram ini zat antibakteri dari cakram akan berpindah kdalam media agar melalui mekanisme perembesan atau difusi, sehingga menghasilkan area hambatan yang bebas dari koloni bakteri. Semakin bagus aktivitas antibakterinya maka semakin besar pula area hambatannya.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

b. Metode *ditch-plate technique*

Metode ini sampel uji berupa agen antimikroba yang diletakkan pada parit yang dibuat dengan cara memotong media agar dalam cawan petri pada bagian tengan secara membujur dan mikroba uji (maksimum 6 macam) digoreskan ke arah parit yang berisi agen antimikroba (Pratiwi, 2008).

c. Metode *cup-plate technique*

Metode ini serupa dengan metode *disk diffusion*, dimana dibuat sumur pada media agar yang telah ditanami dengan mikroorganisme dan pada sumur tersebut diberi agen antimikroba yang akan diuji (Pratiwi, 2008). Kelebihan metode ini adalah senyawa antibakteri berdifusi langsung ke agar tanpa ada perantara. Hal inilah yang membuat senyawa aktif dapat langsung bekerja melawan bakteri tanpa hambatan (Anggarini *et al*., 2012).

d. Metode *E-test*

Metode *E-test* atau biasa disebut dengan tes epsilometer adalah metode tes dimana huruf "E" dalam nama *E-test* menunjukkan simbol epsilon (ε). *E-test* merupakan metode kuantitatif untuk uji antimikroba. Metode ini gabungan antara metode dilusi dan metode difusi antibakteri ke dalam media. Metode ini dilakukan dengan menggunakan strip plastik yang sudah mengandung agen antibakteri dengan konsentrasi terendah sampai tertinggi yang diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme. Hambatan pertumbuhan mikroorganisme bisa diamati dengan adanya area jernih di sekitar strip tersebut (Pratiwi, 2008).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

2.7.2 Metode Dilusi

Metode dilusi cair/ *broth dilution test (serial dilution).* Metode ini digunakan untuk mengukur KHM dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). Cara yang dilakukan yaitu dengan 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 ditetapkan sebagai KHM tersebut selanjutnya diukur ulang pada media cair tanpa penanaman mikroba uji ataupun agen antimikroba, dan diinkubasi ditetapkan sebagai KBM (Pratiwi, 2008).

2.8 Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) adalah kadar atau konsentrasi minimal larutan ekstrak yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji, ditandai dengan lebih jernihnya larutan pada tabung perlakuan apabila dibandingkan dengan tabung kontrol bahan (Prihantoro *et al*., 2006).

Daya antibakteri dapat ditentukan berdasarkan nilai KHM dan KBMnya terhadap pertumbuhan suatu bakteri. Konsentrasi terendah yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan bakteri dikenal sebagai KHM. Aktivitas dari suatu antibakteri tentu dapat meningkat dari bakteriostatik menjadi bakteriosida bila kadar antibakterinya ditingkatkan melebihi KHM (Prihantoro *et al*., 2006).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

2.9 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Aktivitas Antimikroba

Faktor yang mempengaruhi aktivitas antimikroba *in-vitro* yang harus dipertimbangkan, karena sangat mempengaruhi hasil test diantaranya (Jawet *et al*., 2007) :

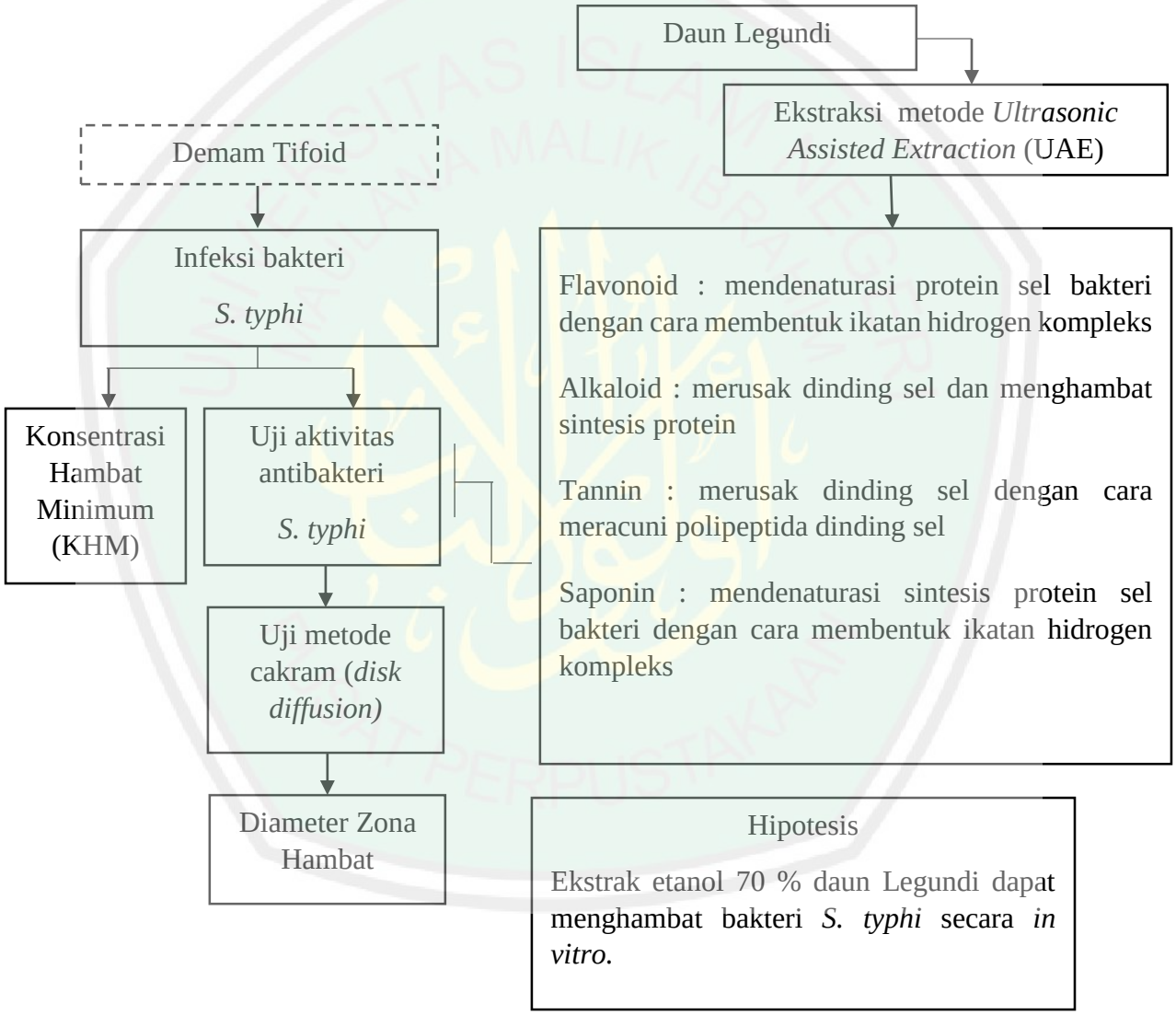
1. pH lingkungan
2. Komponen médium
3. Stabilitas obat
4. Ukuran inoculum
5. Lama inkubasi
6. Aktivitas metabolik mikroorganisme

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

BAB III

KERANGKA KONSEPTUAL

3.1 Bagan Kerangka Konseptual



Keterangan :

Diteliti — Berpengaruh

Tidak diteliti — Menghambat

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

3.2 Uraian Kerangka Konseptual

Daun Legundi dikenal di masyarakat dapat berkhasiat sebagai pengobatan tradisional, salah satunya yaitu sebagai pengobatan demam tifoid. Demam tifoid merupakan penyakit menular yang disebabkan infeksi bakteri *S. typhi*. Perlu dilakukannya uji aktivitas antibakteri *S. typhi* dengan menfaatkan pengobatan tradisional menggunakan daun tanaman Legundi.

Sebagai peneliti pendahuluan yang dilakukan adalah penyarian atau ekstraksi daun Legundi menggunakan metode UAE. Penggunaan UAE agar mempercepat proses ekstraksi dengan bantuan gelombang ultrasonik yaitu gelombang akustik dengan frekuensi lebih besar dari 20 kHz (Santos *et al*., 2009). Pelarut yang digunakan adalah pelarut 70% karena pelarut yang aktif untuk mengekstraksi daun Legundi (Iqlima *at al.*, 2016).

Golongan senyawa yang diduga dapat menghambat bakteri *S. typhi* diantaranya alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin. Mekanisme flavonoid yaitu membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler serta membentuk kompleks dengan dinding sel. Semakin lipofilik suatu flavonoid, kemampuannya dalam merusak dinding sel dari bakteri akan semakin kuat. Mekanisme alkaloid mampu merusak dinding sel dan menyebabkan kematian. Mekanisme tannin yaitu mampu merusak dinding sel dengan cara meracuni polipeptida dinidng sel. Mekanisme saponin yaitu menghambat síntesis senyawa kompleks dengan protein bakteri melalui ikatan hidrogen.

Selanjutnya dilakukan uji aktivitas antibakteri *S. typhi* menggunakan metode cakram (*disk diffusion)* karena metode difusi cakram merupakan cara yang paling

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

mudah dan sering digunakan untuk menetukan kepekaan antibakteri terhadap suatu antibiotik. Parameter yang dilihat yaitu Diameter Zona Hambat dan KHM. Semakin bagus aktivitas antibakterinya maka semakin besar pula area hambatannya. Sedangkan parameter KHM ditentukan pada cawan konsentrasi ekstrak terendah tidak ditumbuhi bakteri *S. typhi*.

3.3 Hipotesis Penelitian

Ekstrak etanol 70% daun Legundi dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. typhi* secara *in vitro.*

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

BAB IV

METODOLOGI PELITIAN

4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

a. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan *experimental posstest-only control desaign.*
b. Penelitian ini menggunakan tanaman daun Legundi dengan bertujuan untuk mengetahui uji aktivitas antibakteri *S. typhi*.
c. Penelitian ini menggunakan ekstrak daun Legundi dengan pelarut etanol 70% dengan konsentrasi ekstrak 5%, 10%, 15%, 20% (b/v) terhadap bakteri *S. typhi.*

4.1.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini direncanakan akan berlangsung pada bulan April sampai dengan Oktober 2019 bertempat di :

a. Laboratorium Fitokimia Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu-ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
b. Laboratorium Biologi Universitas Muhammadiyah Malang

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ektrak etanol 70% daun Legundi dengan konsentrasi ekstrak 5%, 10%, 15%, 20% (b/v).

4.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah zona hambat ekstrak etanol 70% daun Legundi terhadap bakteri *S. typhi*.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

4.3.3 Variabel Kontrol

Variabel kontrol yang digunakan dalam penelitian ini adalah pelarut ekstraksi, metode ekstraksi, suhu pengentalan ekstrak, metode uji antibakteri, media uji antibakteri, suhu sterilisasi alat dan bahan, suhu inkubator, suspensi bakteri yang digunakan dan kontrol positif.

4.4.1 Definisi Operasional

Tanaman daun Legundi di dapatkan di Kecamatan Melaya Kabupaten Jembrana Bali untuk mendapatkan hasil daun Legundi sebagai antibakteri *S. typhi*.

a. Daun yang digunakan adalah daun Legundi berwarna hijau tua berumur ± 2 bulan.
b. Metode ekstraksi daun Legundi menggunakan metode UAE dengan pelarut kemudian di uapkan menggunakan Rotavapor.
c. Ekstraksi cairan kental di oven dengan suhu 41-45°C selama 24 jam.
d. Bakteri yang digunakan adalah *S. typhi.*
e. Pelarut yang diguanakan adalah etanol 70% karena pelarut yang tepat untuk menghambat bakteri *S. typhi*.
f. Konsentrasi ekstrak yang digunakan 5%, 10%, 15%, 20% (b/v).
g. Metode uji antibakteri yang digunakan adalah difusi kertas cakram 5 mm.
h. Media uji antibakteri yang digunakan *Muller Hiton* Agar.
i. Sterilisasi alat dan bahan menggunakan oven dengan suhu 160-180°C dan autoklaf pada suhu 121°C.
j. Inkubasi uji antibakteri yang digunakan dengan suhu 37°C selama 24 jam.
k. Suspensi bakteri yang digunakan standar 0,5 *Mc Farland* (10^8 CFU/ml).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

l. Kontrol positif yang digunakan adalah Kloramfenikol 30 mg/ml sebanyak 20 µL.

m. Uji aktivitas antibakteri dilakukan secara *in vitro* terhadap bakteri *S. typhi*.

n. Uji KHM dilakukan secara *in vitro* terhadap bakteri *S. typhi*.

o. Pengukuran diameter daerah hambat diukur menggunakan jangka sorong satuan (mm) diameter zona hambat tersebut dikategorikan kekuatan aktivitas antibakteri.

p. Parameter KHM ditentukan dengan tidak ditumbuhi bakteri dengan konsentrasi minimum.

4.5 Alat dan Bahan Penelitian

4.5.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan analitik, ose, kapas lidi, kertas saring, tabung reaksi, erlenmayer, cawan perti, kertas cakram, pepet ukur, tabung reaksi, penjepit, jangka sorong, beaker glas, *Ultrasonicator* (IKA), A*utoclave* (Memert), incubator, *Rotary evaporator* (IKA), oven (Memert), *Moisture Content Analyzer* (Mettler Toledo).

4.5.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun legundi (*V. trifolia* L.), bakteri *S. typhi*, etanol 70% *pharmaceuticalgrade*, *Shigella-Salmonella Agar* (SSA), *Media Muller Hinton Agar* (MHA), *Standart Mc. Farland* 0,5 10^8 (CFU)/mL, aquadest steril, alkohol 70%, NaCl fisiologis, DMSO 0,5%, antibiotik Kloramfenikol 30 mg/ml.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

4.6 Prosedur Kerja

4.6.1 Pengambilan Daun Legundi

Daun Legundi diambil di Kecamatan Melaya Kabupaten Jembrana, Bali.

4.6.2 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman Legundi ini dilakukan di UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Batu Dinas Kesehatan Kabupaten Malang.

4.6.3 Persiapan Sampel

Sampel yang digunakan adalah bagian daun Legundi. Daun Legundi segar dicuci bersih lalu dikeringkan hingga benar-benar kering menggunakan oven pada suhu 60°C. Daun Legundi kering kemudian dihaluskan menggunakan blander hingga terbentuk serbuk halus, diayak dengan ayakan ukuran 60 mesh agar diperoleh serbuk yang kecil-kecil dan seragam. Serbuk halus dan diperoleh dianalisis kadar airnya dan di esktraksi.

4.6.4 Analisis Kadar Air Serbuk Simplisia Daun Legundi

Analisis kadar air dalam serbuk simplisia digunakan untuk memberikan batasan minimal atau rentang besarnya kandungan air di dalam bahan. Serbuk simplisia diukur kadar airnya menggunakan *Moisture analyzer*. Dinyalakan alat *Moisture analyzer* pada layar menunjukkan tampilan 0,000 gram, ditutup alat dibuka dan *sample pan* kosong dimasukkan ke dalam *sample pan handler*. Ditutup alat penutup kemudian secara otomatis alat akan mentara atau menunjukkan tampilan 0,000 gram pada layar. Kemudian diambil ± 0,500 gram serbuk simplisia dan dimasukkan ke dalam *sample pan* dan penutup alat diturunkan. Alat akan memulai pengukuran hingga terbaca hasil pengukuran % MC pada layar.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Proses ini dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan. Menteri Kesehatan RI (1994) menyatakan untuk proses kadar air yang dimiliki dalam simplisia harus di bawah 10%.

4.6.5 Pembuatan Ekstraksi Daun Legundi

Proses yang digunakan dalam pembuatan ekstraksi dengan simplisia daun Legundi sebanyak 120 gram dengan perbandingan 1:20. Metode yang digunakan adalah metode UAE sebanyak 3 kali. Tujuannya adalah untuk menyari atau mengekstraksi senyawa metabolit sekunder dengan optimal dengan waktu yang cepat. Pelarut yang dipilih adalah pelarut etanol, karena pelarut etanol dapat melarutkan hampir semua senyawa-senyawa yang ada pada sampel, baik senyawa polar maupun non polar.

Berdasarkan penelitian yang pernah dilakukan, etanol 70% dapat menarik golongan senyawa alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin daun Legundi (Iqlima *et al*., 2016). Metode ekstraksi menggunakan metode UAE untuk mempercepat ektraksi. Selanjutnya disaring menggunakan kertas saring Wattman no 1. Setelah selesai diesktraksi, filtrat ekstrak kemudian dipekatkan dengan *Rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak pekat, kemudian di oven dengan suhu 41°- 45°C selama 24 jam.

4.6.6 Uji Fitokimia Ekstrak Etanol 70% Daun Legundi

Sebelum dilakukan uji reaksi warna, dibuat dahulu larutan uji untuk pemapisan fitokimia dengan melarutkan 500mg ekstrak dalam 50 ml etanol 70%.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

a. Uji Flavonoid

Sebanyak 1 ml larutan uji masing-masing dimasukkan ke dalam 3 tabung reaksi. Tabung satu sebagai kontrol, tabung dua ditambah dengan 1 ml larutan Pb astat 10%. Hasil positif flavonoid jika terdapat endapan kuning. Tabung 3 ditambah dengan beberapa tetes NaOH 10%. Terbentuk warna kuning jika mengandung flavonoid (Yuda *et al.*, 2017).

b. Uji Alkaloid

Larutan uji sebanyak 2 ml diuapkan diatas cawan porselen hingga diperoleh residu. Residu kemudian dilarutkan dengan 5 ml HCl 2N. Setelah dingin, larutan disaring. Larutan yang didapatkan dibagi menjadi 3 tabung reaksi. Tabung pertama sebagai kontrol, tabung kedua ditambah 3 tetes pereaksi dragendroff dan tabung ketiga ditambah 3 tetes perekais mayer. Terbentuknya endapan jingga pada pereaksi dragendroff dan warna kuning keruh pada pereaksi mayer menunjukkan adanya alkaloid (Yuda *et al.*, 2017).

c. Uji Tanin

Sebanyak 2 ml larutan uji dimasukkan ke dalam 2 tabung reaksi, tabung 1 sebagai kontrol dan tabung 2 ditambahkan beberapa tetes larutan $FeCl_3$. Positif tanin ditunjukkan dengan terbentuk adanya warna hijau gelap atau biru (Yuda *et al.*, 2017).

d. Uji Saponin

Sebanyak 4 ml larutan uji ditambahkan dengan 5 ml aquadest, kocok dan diamati adanya busa yang stabil. Sedikit esktrak ditambahkan 5 ml air, kocok dalam tabung rekasi, terbentuk busa stabil 30 menit setinggi 1 cm (Yuda *et al.*, 2017).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

4.6.7 Uji Kromatofgrafi Lapis Tipis (KLT)

Prinsip pemisahan KLT adalah adanya perbedaan sifat fisik dan kimia dari senyawa yaitu kecenderungan dari molekukul untuk melarut dalam cairan (kelarutan), kecenderungan molekul untuk menguap dan kecenderungan molekul untuk melekat pada permukaan (adsorpsi atau penjerapan) Hendayana, 2006). Pengujian ini dilakukan untuk menguji adanya golongan senyawa metabolit sekunder flavonoid, alkaloid, saponin dan tanin.

Fase diam yang digunakan adalah plat silica gel F_{254} dengan panjang 7 cm dan lebar 5 cm. Jarak garis batas bawah 1,5 cm; batas atas 0,5 cm dan jarak antar totolan 1,3 cm. Fase gerak yang digunakan adalah n-butanol : etil asetat (4:1). Fase gerak dimasukkan kedalam *chamber* kemudian ditutup dan dijenuhkan selama 30 jam. Selanjutnya ditotolkan pada fase diam menggunakan pipa kapiler 2 µl. Ditunggu hingga proses elusi selesai.

Kemudian diangkat dan sisemprot dengan penampak noda H_2SO_4 10%. Penampak noda yang digunakan adalah H_2SO_4 10%. Penggunaan H_2SO_4 10% karena pada konsentrasi tersebut memiliki efektifitas yang sama dan selain itu lebih ekonomis serta lebih aman karena konsentrasinya lebih rendah. Prinsip penampak noda H_2SO_4 10% yaitu karena asam sulfat bersifat reduktor sehingga dapat memutuskan ikatan rangkap sehingga panjang gelombangnya akan bergeser kearah yang lebih panjang sehingga dapat terlihat oleh mata (Murdianto *et al*.,2013). Setelah kering dipanaskan dengan suhu 105° selama 5 menit. Kemudian diamati dibawah sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm dan 366 nm (Murdianto *et al.*, 2013).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

4.6.8 Uji Aktivitas Antibakteri

a. Sterilisasi alat dan bahan

Alat-alat gelas, cawan petri, dan ose yang akan digunakan dicuci terlebih dahulu, kemudian dikeringkan, selanjutnya dibungkus dengan *aluminium foil* dan disterilkan dengan oven pada suhu 160-180°C selama 1 jam. Bahan-bahan yang akan digunakan disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 20 menit. Setelah disterilisasi, semua alat dan bahan disimpan dalam *Laminar Air Flow* yang sebelumnya sudah disterilisasi dengan lampu UV selama 30 menit dan dibersihkan dengan alkohol 70%.

b. Pembiakan bakteri

Biakan murni bakteri diremajakan pada media padat *Shigella-Salmonella Agar* (SSA) miring dengan cara menggoreskan jarum sebanyak 1 ose yang mengandung bakteri *S. typhi* secara aseptis yaitu dengan mendekatkan mulut tabung pada nyala api saat menggoreskan jarum ose. Kemudian tabung reaksi ditutup kembali dengan kapas dan dimasukkan ke dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam.

c. Pembuatan *Media Muller Hinton Agar* (MHA)

Media dibuat dengan melarutkan sebanyak 3,8 gram *Agar Muller Hinton* dalam aquadest sebanyak 100 ml, kemudian dipanaskan hingga mendidih disertai pengadukan sampai bubuk benar-benar larut. Media ini kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Selanjutnya sebanyak 20 ml media agar dimasukkan ke dalam cawan petri dan dibiarkan memadat, kemudian disimpan dalam lemari pendingin (Silvikasari *et al*., 2011).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

d. Pembuatan Suspensi

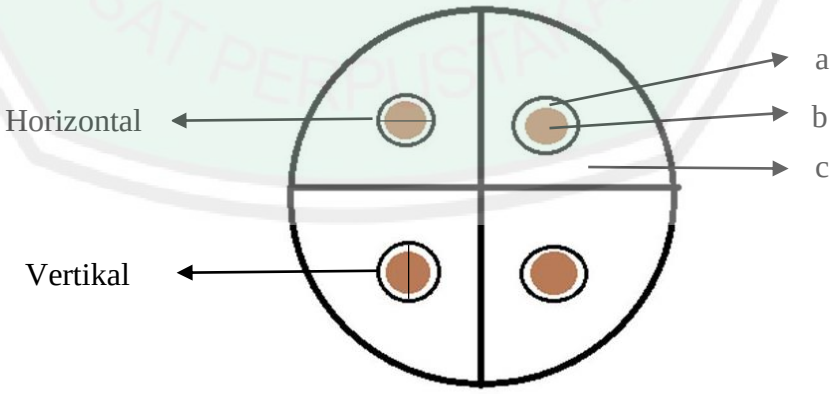
Satu ose hasil peremajaan biakan murni bakteri dibiakkan dalam 50 mL MHA dan diinkubasikan pada suhu 37° C selama 24 jam sampai tampak pertumbuhan bakteri. Suspensi bakteri yang telah tumbuh dibandingkan kekeruhannya dengan kekeruhan suspensi standar 0,5 *Mc Farland* dengan cara diteteskan NaCl 0,9% fisiologis hingga diperoleh kosentrasi bakteri 10^8 (CFU)/mL.

e. Kontrol Positif

Kontrol positif yang digunakan adalah cakram antibiotik Kloramfenikol 30 mg/ml sebanyak 20 µL.

f. Pengukuran Diameter Zona Hambat

Diameter zona hambat yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong dalam mm dengan cara dihitung diameter zona hambat keseluruhan dan dikurangi dengan diameter kertas cakram yang digunakan yaitu 5 mm (zona hambat – kertas cakram) (Volk dan Wheeler, 1993).



Gambar 4.1 Pengukuran diameter zona hambat menggunakan kertas cakram ; (a) zona bening, (b) kertas cakram (*paper disk*), (c) biakan bakteri

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Cara menghitung diameter rata-rata zona hambat:

$$Zona\ hambat = \frac{Diameter\ horizontal + Diameter\ Vertical}{2}$$ – diameter kertas cakram

Tabel 4.1 Klasifikasi aktivitas antibakteri (Greenwood, 1995)

Diameter Zona Hambat	Aktivitas Antibakteri
<10	Tidak aktif
11-15	Lemah
16-20	Sedang
>20	Kuat

4.6.9 Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

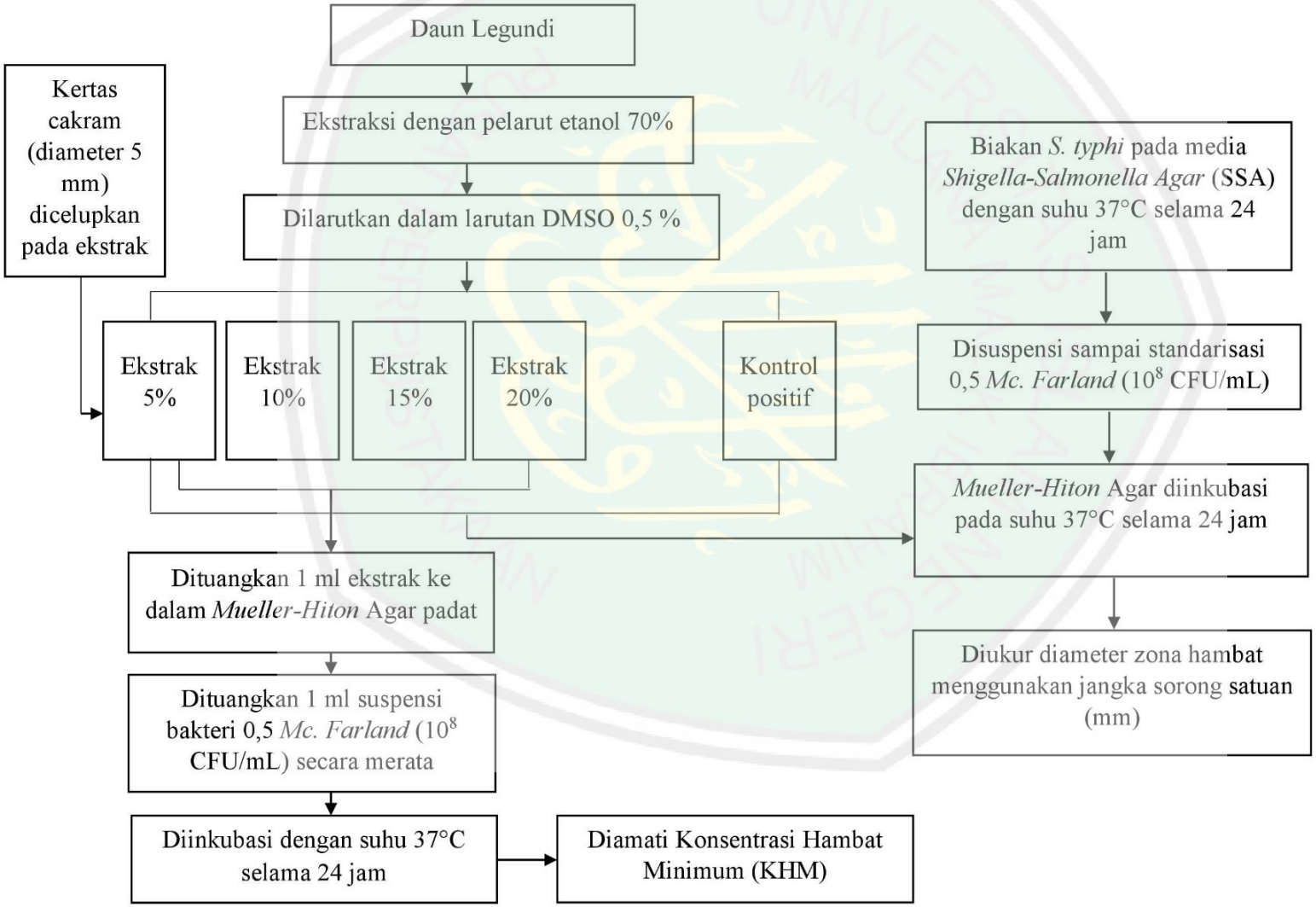
Uji KHM dilakukan dengan metode dilusi padat. Larutan uji dibuat dengan konsentrasi ekstrak 5%, 10%, 15% dan 20% (b/v). Sebanyak 1 ml larutan uji dimasukkan ke dalam cawan petri steril yang berisi 9 ml media *Mueller Hiton* hangat dengan suhu 40°-50°C, kemudiam dituang 1 ml suspensi bakteri uji konsentrasi 10^8 CFU/mL campur hingga homogen. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. KHM ditentukan pada cawan konsentrasi ekstrak terendah yang tidak ditumbuhi bakteri (Alcamo, 1991).

4.7 Analisis Data

Data yang diperoleh akan diuji distribusi normalitas dan uji homogenitas. Jika hasil yang didapat berdistribusi normal dan homogen maka untuk melihat ada tidaknya perbedaan bermakna pada nilai hambatan pertumbuhan bakteri antara perlakuan, kontrol positif dan negatif dilakukan *Uji Analysis Of Variance* (ANOVA) *One Way*. Jika hasil yang di peroleh tidak berdistribusi normal atau tidak homogen, maka digunakan uji *Kruskal Wallis*.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

4.8 Skema Kerja



CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

BAB V
HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Determinasi Tumbuhan

Determinasi pada tanaman merupakan langkah awal sebelum dilakukan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui identitas tanaman yang digunakan. Determinasi tanaman Legundi ini dilakukan di UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Batu Dinas Kesehatan Kota Batu. Hasil determinasi menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan adalah tanaman daun Legundi (*V. trifolia*) dari familia Verbenaceae.Hasil determinasi dapat dilihat pada Lampiran 5.

5.2 Pembuatan Simplisia

Pembuatan simplisia meliputi proses penyiapan sampel daun Legundi. Sampel yang digunakan adalah bagian daun Legundi berwarna hijau tua yang berumur ± 2 bulan (Indrawan, 2015). Daun Legundi segar dicuci bersih lalu dikeringkan hingga kering menggunakan oven pada suhu 60°C. Penggunaan oven pada suhu 60°C agar pengeringan lebih cepat dan tidak merusak senyawa-senyawa pada tanaman. Menurut Depkes RI (2000) menyatakan salah satu proses pasca panen yang berperan penting terhadap mutu simplisia adalah proses pengeringan. Proses pengeringan berpengaruh terhadap kandungan senyawa tanaman (Luliana *et al*., 2017).

Daun Legundi kering kemudian dihaluskan menggunakan blander hingga terbentuk serbuk halus, lalu diayak dengan ayakan ukuran 60 mesh agar diperoleh serbuk yang kecil-kecil dan seragam. Penggunaan 60 mesh karena ukuran partikel

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

bahan 60 mesh lebih cepat dalam proses ekstraksi tanaman (Sembiring *et al*., 2006). Serbuk simplisia daun Legundi diperoleh sebanyak 500 gram.

5.3 Analisis Kadar Air Serbuk Simplisia Daun Legundi

Serbuk simplisia kering daun Legundi diuji kadar kandungan airnya untuk mengetahui kandungan air di dalam bahan. Pengujian ini dilakukan dengan menggunakan instrumen *Moisture Analyzer* yang diulang sebanyak 3 kali. Hasil yang didapatkan adalah sebagai berikut:

Tabel 5.1 Presentase kadar air serbuk simplisia daun legundi

Uji Kadar Air	Presentase (%)
Replikasi 1	8,18 %
Replikasi 2	9,12 %
Replikasi 3	9,22 %
Rata-rata	**8,84 %**

Hasil rata-rata uji kadar air dari 3 kali pengulangan adalah 8,84%. Berdasarkan hasil yang didapat presentase kadar air serbuk simplisia daun Legundi tidak melebihi batas maksimal presentase kadar air yang ditetapkan BPOM yaitu dibawah atau sama dengan 10% (BPOM, 2014). Kadar air yang rendah (<10%) dapat meminimalisir pertumbuhan mikroorganisme pada simplisia seperti jamur dan kapang yang mana dapat mempengaruhi mutu dari simplisia (Depkes RI, 2000).

5.4 Pembuatan Ekstrak Daun Legundi

Serbuk simplisia daun Legundi yang digunakan sebanyak 120 gram, diesktraksi menggunakan pelarut etanol 70%. Penggunaan pelarut 70% dalam ekstraksi memiliki tingkat kepolaran yang sesuai dengan senyawa yang akan

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

diekstrak (Iqlima *et al*., 2016). Metode ekstraksi menggunakan metode UAE untuk mempercepat ektraksi. Selanjutnya disaring menggunakan kertas saring Wattman no 1. Setelah selesai diesktraksi, filtrat ekstrak kemudian dipekatkan dengan *Rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak pekat, kemudian di oven dengan suhu 41°-45°C selama 24 jam (Susanti, 2016).

Hasil ekstraksi menghasilkan ekstrak hijau pekat kental, dari hasil ekstraksi didapatkan rendemen yaitu 22,3%. Rendemen adalah perbandingan jumlah (kuantitas) minyak yang dihasilkan dari ekstraksi tanaman. Rendemen menggunakan satuan persen (%). Semakin tinggi nilai rendemen yang dihasilkan menandakan semakin besar senyawa yang terdapat pada tanaman. Rendemen merujuk pada jumlah produk reaksi yang dihasilkan pada reaksi kimia (Vogel, 1996).

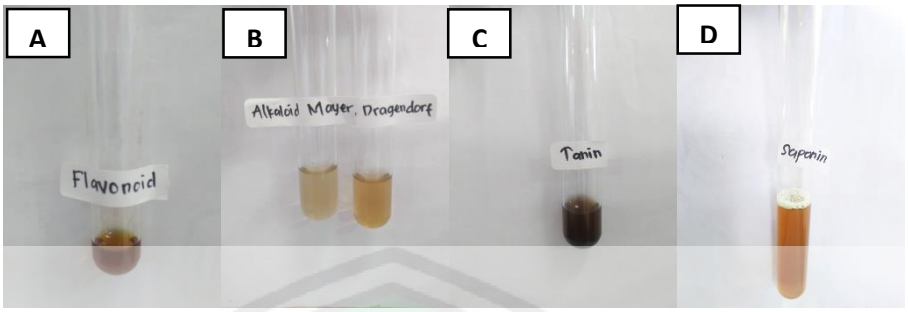
5.5 Uji Fitokimia Ekstrak Daun Legundi

Uji fitokimia reagen merupakan uji kualitataif untuk mengetahui senyawa aktif yang terkandung dalam tanaman. Prinsip dasarnya adanya reaksi pengujian warna dengan suatu reaksi warna (Kristanti, 2008). Uji fitokimia reagen dilakukan pada ekstrak etanol 70% daun Legundi (*V. trifolia*). Hasil pengujian fitomikimia reagen dapat dilihat pada tabel 5.2 dan gambar 5.1

Tabel 5.2 Uji fitokimia reaksi warna

Senyawa		Reaksi warna	Keterangan
Flavonoid		kuning kecoklatan	+
Alkaloid	Dragendroff	endapan jingga	+
	Mayer	endapan putih	+
Tanin		hijau kehitaman	+
Saponin		buih	+

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG



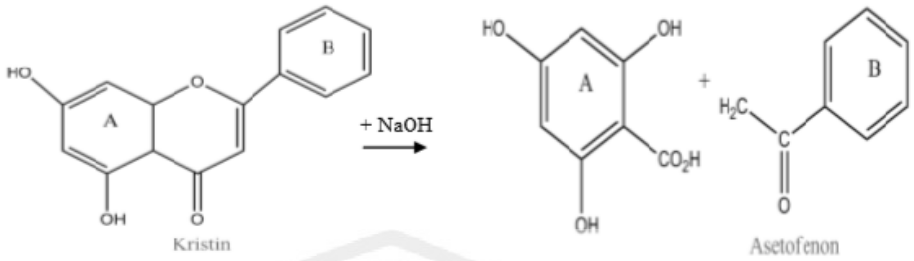
Gambar 5.1 Uji fitokimia reaksi warna ; (A) flavonoid,(B) alkaloid, (C) tannin, (D) saponin

5.5.1 Uji Senyawa Flavonoid

Uji senyawa flavonoid dilakukan untuk mengetahui adanya senyawa flavonoid pada ekstrak etanol 70% daun Legundi. Dari hasil penelitian diketahui bahwa daun Legundi positif mengandung flavonoid. Hasil ini ditunjukkan dengan adanya perubahan warna dengan peraksi NaOH 10% pada tabung ditandai dengan warna kuning kecoklatan pada sampel yang menunjukkan adanya senyawa flavonoid (Taher, 2011). Menurut Kusnadi (2017) menyatakan bahwa terjadinya perubahan warna uji menjadi kuning kecoklatan mengindikasikan adanya senyawa flavonoid.

Senyawa flavonoid merupakan turunan dari senyawa flavon pada penambahan NaOH 10% mengalami penguraian oleh basa menjadi molekul seperti asetefenon yang berwarna kuning karena adanya pemutusan ikatan pada struktur isoprena. Hal ini membuktikan bahwa ekstrak daun Legundi mengandung senyawa flavonoid. Reaksi dugaan yang terjadi pada uji flavonoid dengan menggunakan reagen NaOH sebagai berikut:

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG



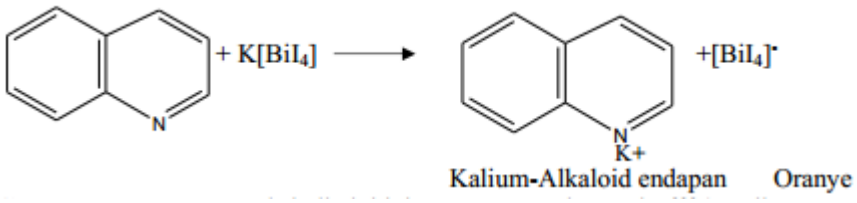
Gambar 5.2 Reaksi flavonoid dengan NaOH (Nugrahani, 2015)

5.5.2 Uji Senyawa Alkaloid

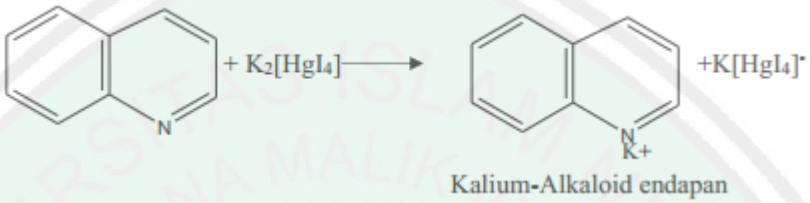
Uji senyawa alkaloid diuji dengan menggunakan pereaksi Dragendroff dan pereaksi Mayer. Hasil uji fitokimia alkaloid menunjukkan bahwa sampel daun Legundi positif mengandung alkaloid. Hal ini dibuktikan dengan terbentuknya endapan pada tabung reaksi setelah ditambah pereaksi Dragendroff dan Mayer yang menunjukkan bahwa sampel tersebut mengandung alkaloid. Terbentuknya endapan jingga pada perekasi Dragendroff dan terbentuk endapan putih pada pereaksi Mayer menunjukkan bahwa ekstrak positif mengandung senyawa alkaloid.

Pereaksi Dragendroff digunakan untuk mendeteksi adanya alkaloid karena pereaksi ini mengandung bismut yang merupakan logam berat atom tinggi (Sirait, 2010). Pada uji alkaloid pereaksi Mayer, diperkirakan nitrogen pada alkaloid akan bereaksi dengan ion logam K+ dari kalium tetraiodomerkurat (II) membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap (Marliana *et al.*, 2005). Persamaan reaksi dugaan yang terjadi pada uji alkaloid dengan menggunakan reaksi Dragendroff dan Mayer ditunjukkan pada gambar 5.3 dan 5.4

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG



Gambar 5.3 Reaksi alkaloid dengan reagen dragendroff (Marliana *et al*., 2015)

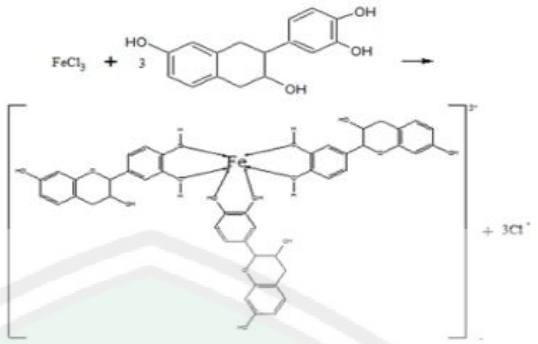


Gambar 5.4 Reaksi alkaloid dengan reagen mayer (Marliana *et al*., 2015)

5.5.3 Uji Senyawa Tanin

Uji fitokimia senyawa golongan tanin diketahui bahwa sampel daun Legundi positif mengandung tanin. Hal ini diketahui dari perubahan warna yang terjadi pada saat penambahan larutan $FeCl_3$ 1% yaitu warba hujau kehitaman. Pada identifikasi tanin, perubahan warna disebabkan oleh reaksi penambahan $FeCl_3$ dengan salah satu gugus hidroksil yang ada pada senyawa tanin. Penambahan $FeCl_3$ menghasilkan warna hijau kehitaman yang menunjukkan adanya tanin terkondensasi (Sanggi *et al*., 2008). Terbentuknya warna hijau kehitaman atau biru tinta pada ekstrak setelah ditambahkan dengan $FeCl_3$ karena tanin akan membentuk senyawa kompleks dengan $FeCl_3$ (Halimah, 2010). Reaksi dugaan yang terjadi pada uji tanin dengan reagen $FeCl_3$ dapat dilihat pada gambar 5.5

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

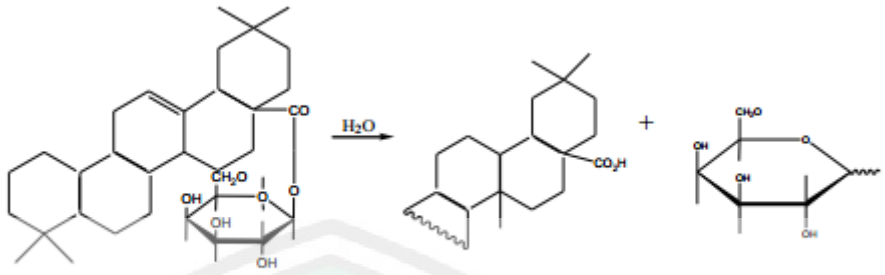


Gambar 5.5 Reaksi tanin dengan $FeCl_3$ (Nugrahani, 2015)

5.5.4 Uji Senyawa Saponin

Saponin merupakan zat yang memiliki senyawa aktif permukaan dan berisfat sabun. Senyawa saponin merupakan glikosida kompleks yaitu terdiri dari senyawa hasil kondensasi suatu gula dengan suatu senyawa hidroksil organik yang apabila dihidrolisis akan menghasilkan gula (glikon) dan non-gula (aglikon) (Bintoro *et al.*, 2017). Dari hasil analisis diketahui bahwa sampel daun Legundi mengandung saponin yang ditandai dengan terbentuknya busa setelah pengocokan. Menurut Robinson (1995) senyawa yang memiliki gugus polar dan non polar bersifat aktof permukaan sehingga saat saponin dikocok dengan air dapat membentuk misel. Pada struktur misel, gugus polar menghadap ke luar seangkan gugus non polarnya menghadap ke dalam, kedaan inilah yang tampak seperti busa. Timbulnya busa menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Merliana *et al.*, 2005). Dugaan reaksi uji saponin dengan air dapat dilihat pada gambar 5.6

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG



1-Arabinopiriosil-3β-asetil olenolat Aglikon Glikosa

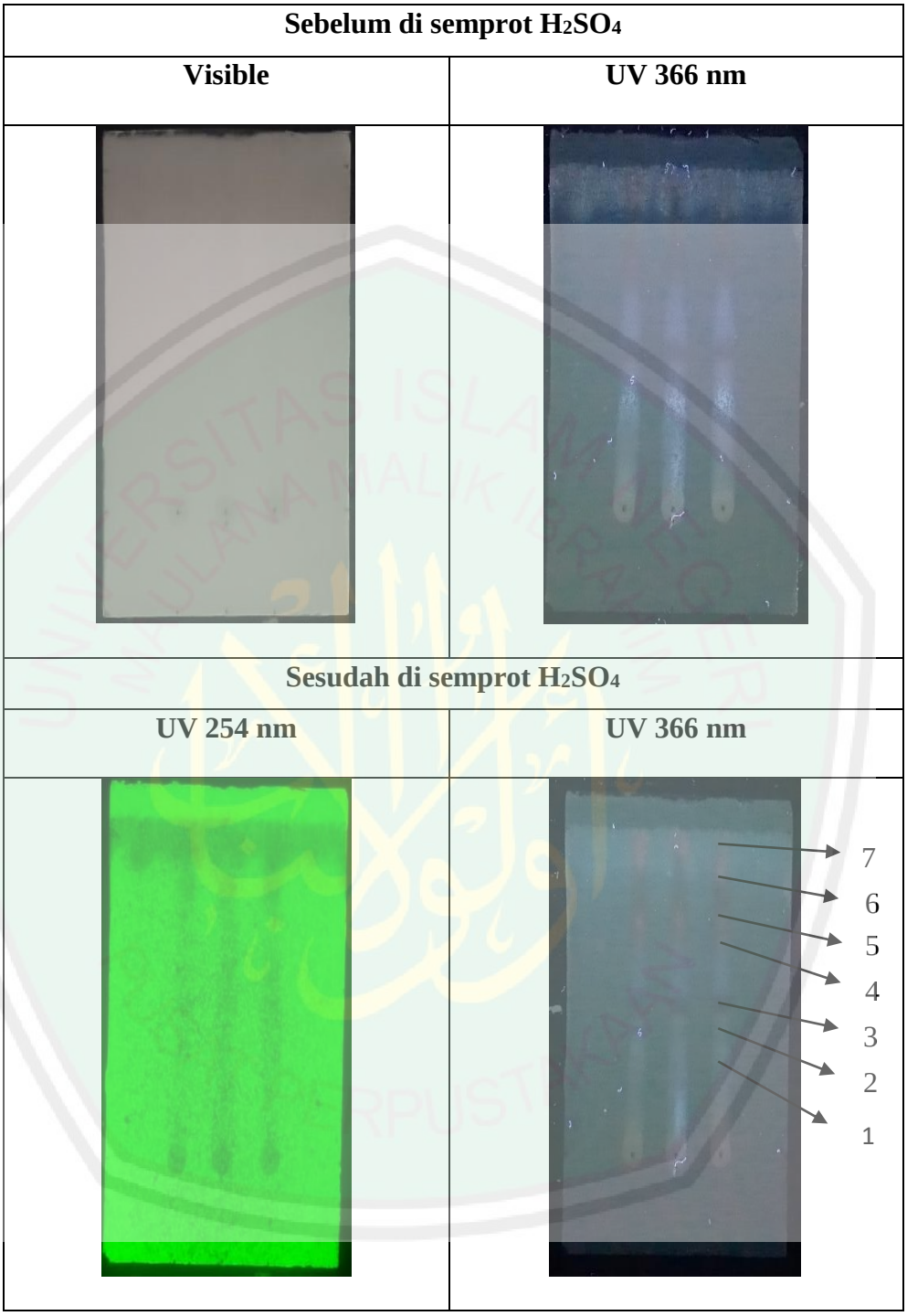
Gambar 5.6 Reaksi saponin dalam air (Nugrahani, 2015

5.6 Uji Kromatgrafi Lapis Tipis (KLT)

Uji kandungan golongan senyawa ekstrak dilakukan menggunakan metode KLT. Prinsip pemisahan KLT adalah adanya perbedaan sifat fisik dan kimia dari senyawa yaitu kecenderungan dari molekukul untuk melarut dalam cairan (kelarutan), kecenderungan molekul untuk menguap dan kecenderungan molekul untuk melekat pada permukaan (adsorpsi atau penjerapan) Hendayana, 2006).

Fase diam yang digunakan adalah Plat Silika Gel F_{254} yang mampu mengikat senyawa yang akan dipisahkan dan mampu berflourosensi di bawah sinar UV pada Panjang Gelombang 254 nm dan 366 nm. Sedangkan fase gerak yang digunakan adalah n-butanol : etil asetat (4:1) perbandingan ini merupakan hasil optimasi menghasilkan pemisahan yang paling baik. Menurut Hendayana (2006) KLT analitik digunakan untuk mencari eluen terbaik dari beberapa eluen yang baik dalam pemisahan golongan senyawa. Eluen yang baik adalah eluen yang menghasilkan senyawa dalam jumlah yang banyak ditandai dengan munculnya noda. Hasil uji KLT dapat dilihat pada gambar 5.7 dan tabel 5.3

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG



Gambar 5.7 Kromatogram ekstrak etanol 70% daun legundi, fase diam silika gel F_{254}, fase gerak n-butanol : etil asetat (4:1)

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Tabel 5.3 Hasil uji senyawa KLT

Spot Noda	Senyawa	Rf	Warna Spot
1	Steroid	0,32	Hijau-biru
2	Antosianin	0,42	Merah lembayung
3	Tanin	0,46	Hitam
4	Alkaloid	0,54	Jingga
5	Antrakuinon	0,72	Kuning
6	Saponin	0,8	Jingga-kuning
7	Flavonoid	0,86	Kuning

Berdasarkan tabel 5.3 hasil uji senyawa KLT ekstrak etanol 70% daun legundi terdapat 7 spot noda setelah diamati dibawah sinar UV pada panjang gelombang 366 nm. Hasil pemisahan dengan nilai Rf 0,86; 0,54; 0,46; 0,8; 0,32; 0,42 dan 0,72. Spot noda 1 hasil noda berwarna hijau kebiruan dengan hasil nilai Rf 0,32 diduga merupakan golongan senyawa steroid. Menurut Miharja (2001) diduga pada Rf 0,39 dibawah sinar UV 366 nm merupakan senyawa steroid karena adanya noda berwarna hijau-biru setelah disemprot dengan pereaksi Lieberman-Buchard. Mekanisme kerja steroid sebagai antibakteri yaitu dengan merusak membran lipid, sehingga liposom mengalami kebocoran (Madduluri *et al.,* 2013). Steroid juga diketahui dapat berinteraksi dengan membran fosfolipid karena sifatnya yang permeabel terhadap senyawa-senyawa lipofilik menyebabkan integritas membran menurun dan morfologi membran sel terganggu yang mengakibatkan sel mengalami lisis dan rapus (Ahmed, 2007).

Spot noda ke 2 berwarna merah lembayung dengan nilai Rf 0,42 diduga menunjukkan golongan senyawa antosianin. Menurut Adrianta (2016) nilai Rf standar antosianin sebesar 0,44 setelah diamati dibawah sinar UV 366 nm dengan warna noda yang dihasilkan adalah merah lembayung. Menurut Harbone (1987)

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

mengatakan warna antosianin akan mengikuti warna dari jenis aglikonnya, warna aglikon pelargonidin itu sendiri adalah merah. Senyawa antosianin merupakan golongan turunan dari flavonoid yang berfungsi sebagai antioksidan dan antimikroba. Menurut Cisowska *et al.*, (2011) antosianin umumnya aktif terhadap mikroba yang berbeda. Mekanisme yang mendasari aktivitas antimikroba pada antosianin meliputi interaksi membrane sel dan intraseluler dari senyawa ini. Bagaian antosianin yang berperan sebagai antimikroba adalah turunannya yaitu antosianindin dan cyanidin 3-glucoside Cisowska *et al.*, 2011).

Spot noda ke 3 berwarna hitam dengan nilai Rf 0,46 diduga merupakan golongan senyawa tannin. Berdasarkan Iqlima (2016) menunjukkan hasil positif tanin dalam tanaman Legundi. Mekanisme senyawa tannin yaitu merusak dinding sel bakteri dengan cara meracuni polipeptida dinding sel, hal ini menyebabkan terjadinya tekanan osmotik maupun fisik sel bakteri sehingga sel bakteri akan mati. Tannin dalam kosentrasi rendah mampu menghambat pertumbuhan bakteri, sedangkan pada kosentrasi tinggi tannin bekerja dengan membentuk ikatan yang stabil dengan protein bakteri sehingga protoplasma bakteri terkoagulasi (Wiryawan *et al.*, 2000).

Spot noda ke 4 dengan hasil noda berwarna jingga dengan nilai Rf 0,54 diduga adanya golongan senyawa alkaloid. Berdasarkan Harbone (1987) bercak warna jingga menandakan golongan alkaloid dengan kisaran nilai Rf 0,07-0,62 setelah diamati dibawah sinar UV 366 nm. Mekanisme senyawa alkaloid dapat mengganggu terbentuknya komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri,

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian pada bakteri (Robinson, 1995).

Hasil Spot noda ke 5 yang terdapat ekstrak etanol 70% daun legundi berwarna kuning dengan nilai Rf 0,72 diduga menunjukkan golongan senyawa antarkuinon. Menurut Miharja (2001) diduga pada nilai Rf 0,79 dan 0,73 dibawah sinar UV 366 nm merupakan senyawa antrakuinon karena terbentuk noda warna kuning setelah disemprot dengan KOH 10%. Mekanisme antrakuinon pada antibakteri diketahui dapat membentuk kompleks yang irreversibel dengan gugus nukleofilik asam amino dari protein, sehingga sering menyebabkan protein bakteri menjadi inaktif dan kehilangan fungsinya dan menyebabkan bakteri tersebut tidak dapat tumbuh (Wu *et al.*, 2006).

Spot noda ke 6 hasil noda berwarna jingga kekuningan dibawah lampu UV 366 nm dengan nilai Rf 0,8 diduga merupakan golongan senyawa saponin. Menurut Setya (2017) *range* nilai Rf golongan senyawa saponin yaitu 0,79-0,84 dibawah sinar UV 366 nm. Mekanisme antibakteri saponin sebagai antibakteri memiliki 3 cara, yaitu menghambat permeabilitas membran sel, menghambat síntesis dinding sel dan menghambat síntesis protein dengan cara membentuk senyawa kompleks dengan protein bakteri melalui ikatan hidrogen (Rinawati, 2011).

Spot noda ke 7 diduga noda berwarna kuning dengan nilai Rf yang didapatkan yaitu 0,86 menandakan adanya senyawa golongan flavonoid pada daun Legundi. Menurut Markham (1988) menyatakan senyawa flavonoid menunjukkan warma hijau atau kuning. Mekanisme golongan senyawa flavonoid dalam antibakteri merusak membran sel bakteri yaitu membentuk senyawa kompleks

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

dengan protein ekstraseluler sehingga membran sel bakteri rusak dan diikuti dengan masuknya air yang tidak terkontrol ke dalam sel bakteri, hal ini menyebabkan pembengkakan dan akhirnya membran sel bakteri pecah (Black, 1993). Hasil uji fitokimia KLT tersebut ekstrak etanol 70% daun Legundi yang telah dilakukan mengandung golongan senyawa flavonoid, alkaloid, tannin dan saponin, steroid, antrakuinon dan antosianin. Penelitian terdahulu Iqlima (2016) menyatakan bahwa daun Legundi memiliki golongan senyawa metabolit sekunder diantaranya flavonoid, alkaloid, tannin dan saponin.

5.7 Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri ini dilakukan bertujuan untuk mengetahui ekstrak daun Legundi dengan pelarut etanol 70% terhadap bakteri *S. typhi*. Metode yang digunakan adalah metode difusi kertas cakram (*paper disk*) yang direplikasi sebanyak 3 kali dan proses ini berlangsung selama 1 x 24 jam. Penggunaan metode difusi ini karena merupakan metode yang sederhana dan sering digunakan dalam pengujian aktivitas antibakteri (Choma, 2010).

Pengujian antibakteri ini menggunakan kontrol positif yang digunakan untuk membandingkan hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol 70% daun Legundi. Kloramfenikol digunakan sebagai kontrol positif yang merupakan antibiotik bakteriostatik berspektrum luas yang aktif dapat melawan pertumbuhan Gram positif maupun Gram negatif. Selain itu, Kloramfenikol dilaporkan dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* (Rahmawati, 2015).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Sebelum dilakukan uji aktivitas antibakteri terlebih dahulu melakukan strerilisasi alat dan bahan menggunakan oven (untuk alat tahan panas) atau *autoclave* (untuk alat yang tidak tahan panas). Sterilisasi ini bertujuan untuk menghilangkan mikroorganisme pada alat dan bahan yang dapat merusak media atau mempengaruhi bakteri yang akan diujikan. Selanjutnya dibuat media tumbuh bakteri *S. typhi*. Media yang digunakan adalah media MHA dikarenakan media tersebut cocok untuk pertumbuhan bakteri *S. typhi* (Silvikasari *et al*., 2011).

Pengujian antibakteri diawali dengan melakukan pembuatan pelarut ekstrak menggunakan perlakuan konsentrasi 5%, 10%, 15% dan 20% (b/v) ekstrak etanol 70% daun Legundi. Proses pembuatan ekstrak untuk pengujian mikrobiologi dilakukan dengan melarutkan ekstrak etanol 70% daun Legundi dengan menggunakan larutan DMSO 0,5%. Untuk mendapatkan konsentrasi DMSO 0,5% dibutuhkan DMSO 1 ml yang dilarutkan dengan 200 ml aquadest steril. Penggunaan DMSO untuk melarutkan ekstrak etanol 70% daun legundi dilakukan karena ekstrak sukar untuk dilarutkan menggunakan pelarut etanol 70%. DMSO merupakan suatu bahan yang digunakan sebagai pelarut bahan organik dan tidak bersifat bakterisidal. Selain itu, pelarut yang dapat melarutkan hampir semua senyawa polar maupun non polar adalah DMSO. DMSO dapat digunakan sebagai pengencer ekstrak untuk memperoleh ekstrak dengan kadar konsentrasi tertentu (Reynolds, 1996).

Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah antibiotik Kloramfenikol dengan dosis 30 mg/ml. Kloramfenikol merupakan antibiotik bakteriostatik berspektrum luas yang aktif terhadap mikrorrganisme.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Kloramfenikol aktif terhadap bakteri *Esherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* (Novia, 2004). Proses pembuatan kontrol positif pertama ditimbang antibiotik Kloramfenikol 30 mg kemudian dilarutkan dalam 100 ml DMSO 0,5% yang sudah dilarutkan dengan aquadest steril, kemudian di masukkan ke dalam effendorf yang telah disediakan.

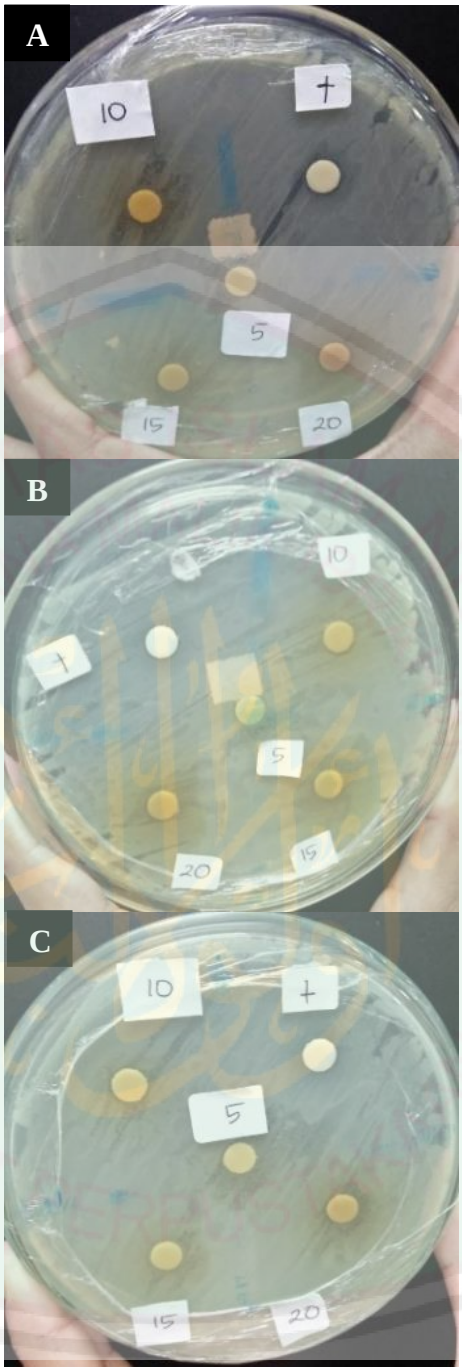
Ekstrak daun legundi memiliki aktivitas antibakteri *S. typhi* karena memiliki kandungan senyawa flavonoid, alkaloid, tanin dan saponin. Berdasarkan penelitian Yanti (2018) menyatakan ekstrak etanol daun legundi mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dalam kategori sedang. Pada penelitian ini tidak menggunakan kontrol negatif dikarenakan pelarut yang digunakan adalah DMSO 0,5%. Berdasarkan Octaviani (2019) menyatakan bahwa pelarut DMSO merupakan pelarut organik dan tidak bersifat bakterisidal. Hal ini menandakan bahwa DMSO tidak memiliki aktivitas antibakteri, sehingga dapat dipastikan aktivitas antibakteri yang dihasilkan tidak dipengaruhi secara langsung oleh DMSO. Selain itu berdasarkan penelitian Subekti (2014) menyatakan kadar toksisitas DMSO adalah ≥ 7,5 %, pada penelitian ini digunakan DMSO 0,5% sehingga dapat dipastikan bahwa DMSO yang digunakan tidak menyebabkan toksiksitas atau kematian pada bakteri *S. typhi* yang diuji. Oleh karena itu pada penelitian ini dapat dipastikan bahwa yang menghambat pertumbuhan bakteri *S. typhi* adalah ekstrak daun Legundi yang diuji.

Hasil uji mikrobiologi didapatkan dengan mengukur diameter zona hambat. Pengukuran dilakukan dengan menggunakan jangka sorong pada zona bening sebagai tanda zona hambat bakteri. Kemudian dihitung rata-rata zona hambat

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

pertumbuhan bakteri dari 3 kali replikasi dan dihitung Standar Deviasinya untuk mengetahui simpangan terhadap rata-rata atau *mean*. Standar deviasi merupakan sebuah ukuran penyebaran yang menunjukkan standar penyimpangan atau deviasi data terhadap penyimpangan rata-ratanya (Pangestu, 2008). Hasil uji mikrobiologi untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak daun Legundi terhadap *S. typhi* sebagai berikut:

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG



Gambar 5.8 Zona hambat ekstrak etanol 70 % daun legundi ; (A) replikasi 1, (B) replikasi 2, (C) replikasi 3

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Tabel 5.4 Diameter zona hambat ekstrak etanol 70% daun legundi

Sampel	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Rata-rata±SD (mm)
5%	2,02	1,8	2,07	1,96 ±0,14
10%	2,25	1,87	2,2	2,1±0,20
15%	2,3	2	2,35	2,21±0,18
20%	2,32	2,07	2,72	2,37±0,32
K +	2,15	1,72	2,12	1,99±0,24

Hasil uji tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% daun legundi memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. typhi*. Hal ini dapat dilihat dari adanya zona bening di sekitar *paper disk* yang menunjukkan bahwa terdapat aktivitas penghambatan pertumbuhan bakteri *S. typhi* oleh ekstrak daun Legundi. Kemampuan ekstrak daun Legundi untuk menghambat pertumbuhan *bakteri S. typhi* disebabkan karena adanya kandungan senyawa flavonoid, alkaloid, saponin dan tanin dalam tanaman ini. Berdasarkan penelitian Nuriyah (2016) menyatakan bahwa golongan senyawa yang berpotensi sebagai antibakteri mengandung flavonoid, tanin, alkaloid dan saponin.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan diketahui bahwa konsentrasi ekstrak 5% sudah mampu menghambat pertumbuhan nakteroi *S. typhi* yang ditunjukkan dengan nilai hambat sebesar 1,96 mm. Hasil ini hampir sama dengan kontrol positif yang digunakan yang memperoleh hasil 1,99 mm. Selain itu, konsentrasi ekstrak 10%, 15%, dan 20% (b/v) memiliki nilai zona hambat yang lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol positif sehingga dapat dikatakan bahwa ekstrak etanol 70% daun Legundi memiliki aktivitas bakteri bakteriostatik yang lebih baik dibanding dengan kontrol positif Kloramfenikol. Mekanisme kerja Kloramfenikol

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

adalah menghambat peptida transferase pada fase pemanjangan, dengan demikian akan merusak proses sintesis protein pada mikroorganisme (Mutschler, 1991).

Menurut Murdianto (2013) kategori respon hambatan pertumbuhan bakteri berdasarkan zona bening dibagi menjadi 4 yaitu lemah, zona bening dengan diameter <5 mm; sedang, zona bening dengan diameter 5-10 mm; kuat, zona bening dengan diameter 10-20 mm; dan sangat kuat, zona bening dengan diameter >20 mm. Adapun kategori penghambatan bakteri *S. typhi* ekstrak etanol 70% daun legundi sebagai berikut:

Tabel 5.5 Kategori zona hambat bakteri *S.typhi*

Konsentrasi Ekstrak	Diameter Zona Hambat	Kategori
5%	1,96 mm	Lemah
10%	2,1 mm	Lemah
15%	2,21 mm	Lemah
20%	2,37 mm	Lemah

Berdasarkan tabel diatas diketahui bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak daun Legundi menyebabkan nilai daya hambat semakin meningkat. Hasil ini sesuai dengan penelitian Murdianto (2013) yang menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi antibakteri yang digunakan maka akan semakin cepat bakteri yang terbunuh. Dari tabel diatas juga didapatkan hasil bahwa kemampuan penghambatan ke empat variasi konsentrasi yang digunakan memiliki kategori yang lemah hal ini dikarenakan diameter zona hambat dari keempat variasi bernilai <5 mm.

Suatu zat antibakteri dapat bersifat bakteriostatik (hanya mampu menghambat perbanyakan bakteri dan tidak mematikan) sehingga bakteri mempunyai kesempatan untuk terus tumbuh secara perlahan dan bersifat

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

bakterisidal (mampu membunuh bakteri) sehingga pertumbuhan bakteri terhenti. Namun beberapa antibakteri yang bersifat bakteriostatik dapat berubah menjadi bakterisidal jika digunakan dengan konsentrasi tinggi dan diinkubasi lebih lama (Jawtz *et al*., 1995).

5.8 Analisis Data

Analisis data ini bertujuan untuk mengetahui adanya perbedaan nilai antibakteri dari ekstrak perlakuan yang telah diuji. Data dari masing-masing kelompok ekstrak dianalisis statistik dengan menggunakan *analysis of variance* (ANOVA) untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan signifikan aktivitas antibakteri dari berbagai konsentrasi ekstrak daun Legundi. Jenis uji ANOVA yang digunakan pada penelitian ini adalah ANOVA *One-Way*.

Analisis varians satu jalur merupakan teknik statistik parametrik yang digunakan untuk pengujian perbedaan beberapa kelompok rata-rata yang dimana hanya terdapat satu variabel bebas atau independen yang dibagi dalam beberapa kelompok dan satu variabel terikat atau dependen. Analisis menggunakan ANOVA *One-Way* digunakan untuk membandingkan 3 atau lebih rata-rata. ANOVA dapat digunakan untuk memisahkan variasi apapun yang disebabkan oleh kesalahan random (Rohman, 2014). Adapun tahapan sebelum menggunakan uji ANOVA *One-Way* terlebih dahulu uji distribusi data normal dan homogenitas (Dahlan, 2004).

5.8.1 Uji Normalitas

Uji normalitas data dilakukan untuk mengetahui apakah data dari hasil pengamatan aktivitas antibakteri ekstrak daun Legundi terdistribusi normal

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

menggunakan *Shapiro-Wilk*. *Shapiro-Wilk* memiliki keunggulan terutama untuk jumlah data yang tidak banyak yaitu kurang dari 50. Hasil uji normalitas dianggap normal apabila nilai *P-value* > 0,05. Berikut merupakan hasil uji normalitas aktivitas antibakteri ekstrak daun Legundi:

Tabel 5.6 Hasil uji normalitas dengan *Shapiro-wilk*

Konsentrasi Ekstrak	*P-value Shaphiro-Wilk*	Keterangan
5 %	0,334	Normal
10%	0,232	Normal
15%	0,253	Normal
20%	0,747	Normal
K +	0,119	Normal

Berdasarkan tabel 5.6 didapatkan hasil *P-value* > 0,05 dengan keterangan nilai aktivitas antibakteri ekstrak daun Legundi dinyatakan normal. Sehingga dapat dilanjutkan dengan homogenitas menggunakan *Levene's test* untuk memenuhi tahapan sebelum menggunakan ANOVA *One-Way*.

5.8.2 Uji Homogenitas

Uji homogenitas dilakukan untuk mengetahui data dari hasil pengamatan aktivitas antibakteri ekstrak daun Legundi merupakan data yang homogen yaitu memiliki varians data yang sama dengan menggunakan *Levene's test*. Uji homogenitas dinyatakan homogen apabila nilai *P-value* > 0,05. Berikut merupakan hasil uji homogenitas aktivitas antibakteri ekstrak daun Legundi:

Tabel 5.7 Hasil uji homogenitas dengan *Levene's test*

Levene's Statistic	*P-value Levene's test*	Keterangan
0,720	0,597	Homogen

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Berdasarkan tabel 5.7 hasil pengujian homogenitas aktivitas antibakteri ekstrak daun Legundi nilai *P-value Lavene's test* > 0,05 yaitu 0,597. Maka dapat dikategorikan data tersebut homogen atau data memiliki varians yang sama. Analisis selanjutnya dilakukan uji ANOVA *One-Way* karena data berdistribusi normal dan homogenitas.

5.8.3 Uji ANOVA *One-Way*

Uji ANOVA *One-Way* ini dilakukan untuk mengetahui apakah ada perlakuan ekstrak yang memberika hasil yang berbeda terhadap pertumbuhan bakteri *S. typhi*. Berikut merupakan hasil uji ANOVA *One-Way* aktivitas antibakteri ekstrak daun Legundi:

Tabel 5.8 Hasil uji ANOVA *One-Way*

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	0,334	4	0.083	1,578	0,254
Within Groups	0,528	10	0,05		
Total	0,862	14			

Berdasarkan tabel 5.8 hasil uji ANOVA *One-way* menunjukkan nilai yang tidak signifikan, karena nilai *P-value* > 0,05 yaitu sebesar 0,254 yang berarti tidak terdapat perbedaan yang signifikan antar perlakuan yang diteliti (Ghozali, 2009). Selanjutnya perlu dilakukan analisis lanjutan menggunakan uji *Post-Hoc* LSD *(Least Significance Different)* untuk mengetahui perbedaan antar kelompok perlakuan. Berikut merupakan hasil uji *Post-Hoc* LSD aktivitas antibakteri ekstrak daun Legundi.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Tabel 5.9 Hasil uji *Post-Hoc* LSD *(Least Significance Different)*

	K +	5%	10%	15%	20%
K +		0,863	0,571	0,268	0,075
5%	0,863		0,463	0,207	0,055
10%	0,571	0,463		0,571	0,191
15%	0,268	0,207	0,571		0,433
20%	0,075	0,055	0,191	0,433	

Berdasarkan tabel 5.6 hasil pengujian *Post-Hoc* LSD aktivitas antibakteri ekstrak daun Legundi didapatkan hasil tidak adanya perbedaan signifikan di semua kelompok perlakuan. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol 70% daun Legundi dengan konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20% (b/v) memiliki hasil yang sama dengan kontrol positif dibuktikan dengan hasil *Post-Hoc* LSD yang menunjukkan nilai tidak signifikan.

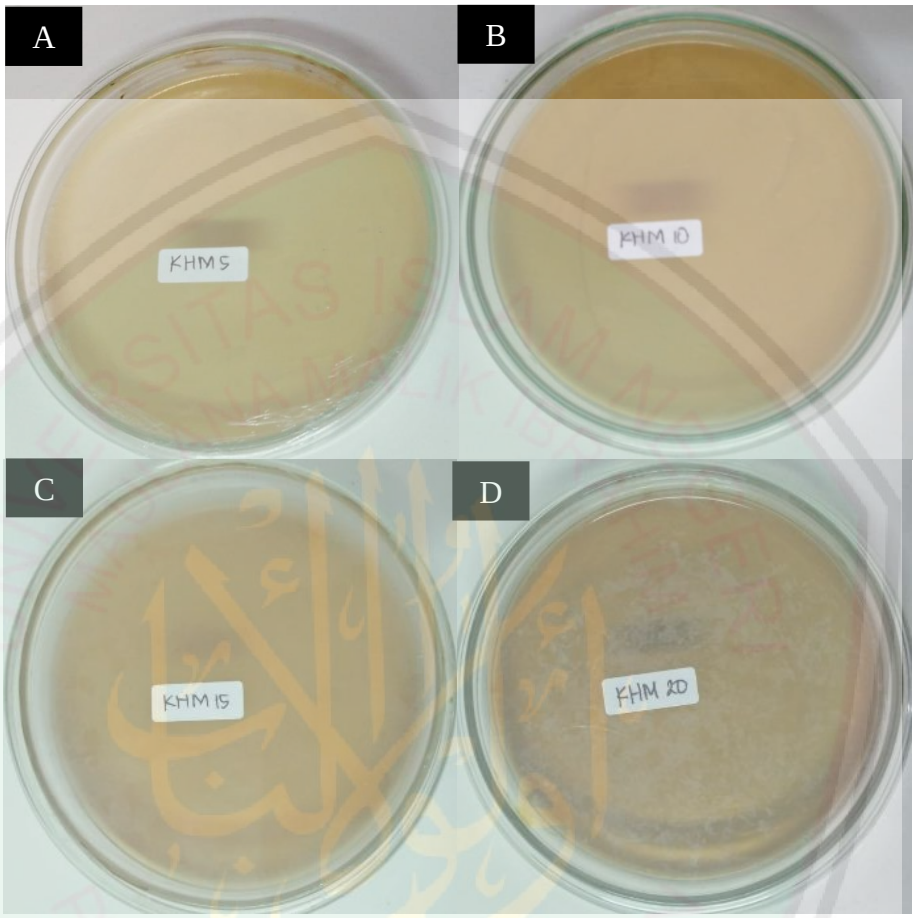
5.9 Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Uji KHM ini dilakukan bertujuan untuk mengetahui konsentrasi ekstrak daun Legundi terendah yang tidak dapat ditumbuhi bakteri *S. typhi*. Uji KHM dilakukan dengan metode dilusi padat dengan media MHA dilarutkan dengan larutan ekstrak daun Legundi. Larutan uji dibuat dengan ekstrak etanol 70% daun Legundi dengan konsentrasi 5%, konsentrasi 10%, konsentrasi 15% dan konsentrasi 20%.

Larutan uji dimasukkan ke dalam cawan petri steril yang berisi media *Mueller Hiton* hangat dengan suhu 40°-50°C, kemudian dituang 1 ml suspensi bakteri uji konsentrasi 10^8 CFU/mL campur hingga homogen. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. KHM ditentukan pada cawan konsentrasi ekstrak

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

terendah yang tidak ditumbuhi bakteri (Alcamo, 1991). Berikut merupakan hasil uji KHM aktivitas antibakteri ekstrak daun Legundi:



Gambar 5.9 Konsentrasi hambat minimum ekstrak etanol 70% daun legundi ; (A) KHM 5%, (B) KHM 10%, (C) KHM 15% dan (D) KHM 20%

Berdasarkan gambar 5.9 hasil KHM ekstrak daun Legundi konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20% (b/v) diketahui bahwa semua sampel pada cawan petri tidak ditumbuhi bakteri *S. typhi*. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun Legundi pada semua konsentrasi memiliki daya hambat yang cukup besar ditandai dengan tidak adanya pertumbuhan bakteri. Ekstrak etanol 70% daun Legundi memiliki sifat bakteriostatik terhadap bakteri *S. typhi*, sehingga dapat dilihat nilai KHM dilihat pada dosis terendah yaitu berada pada konsentrasi 5%. Menurut Ardiansyah (2016)

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

menyatakan daya hambat mununjukkan efektivitas antibakteri, semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin besar efektivitasnya dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. typhi*.

5.10 Aktivitas Antibakteri Daun Legundi dalam Perspektif Islam

Allah SWT menciptakan alam semesta beserta isinya tidak akan ada yang sia-sia dan segala ciptaan Allah semata-mata untuk makhluk-Nya. Al Qur'an telah mengabarkan pada umat manusia tentang fakta-fakta ilmiyah yang kemudian ditentukan dan dibuktikan oleh eksperimen dengan perantara manusia. Semua ciptaan Allah memiliki banyak manfaat salah satunya adalah tumbuh-tumbuhan. Setiap tumbuhan yang ada di muka bumi memiliki berbagai manfaat baik dari sumber makanan, sandang, papan dan sebagai sumber obat hayati. Sebagaimana firman Allah dalam surat Al An'am ayat 99 :

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا نُخْرِجُ مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِنْ طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَابِهٍ ۗ انْظُرُوا إِلَىٰ ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ ۚ إِنَّ فِي ذَٰلِكُمْ لَآيَاتٍ لِقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ

Artinya*: "Dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan maka Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau. Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak; dan dari mayang korma mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan (Kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. Perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah dan (perhatikan pulalah) kematangannya. Sesungguhnya pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman".*

Dalam surat al An'am ayat 99 menjelaskan betapa besarnya kekuasan Allah SWT semua yang diciptakan-Nya tida ada yang sia-sia baik di langit maupun di

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

bumi. Ciptaan Allah SWT memiliki maksud yang telah dijelaskan oleh al-Qur'an agar manusia dapat mengetahuinya. Allah SWT memberikan kesempatan yang seluas-luasnya kepada manusia untuk mengambil manfaat dari alam semesta, salah satunya dengan memanfaatkan tumbuhan sebagai obat.

Al-Qur'an menjadi pedoman bagi manusia untuk mencari jawaban atas penciptaan langit dan bumi dengan menggunakan akal dan pikiran. Upaya manusia untuk mencari jawaban yang dimaksud merupakan awal mula timbulnya studi eksperimen dan penelitian terhadap alam sekitar agar mengetahui berbagai potensi dan manfaat penciptaan alam semesta, karena sesungguhnya penciptaan alam beserta isinya tidaklah sia-sia. Shihab (2002) menjelaskan bahwa Allah SWT menciptakan dari macam tumbuhan yang baik, yaitu subur dan bermanfaat, seperti halnya tumbuhan Legundi, khususnya bagian daun yang di dalamnya banyak manfaatnya bagi manusia yaitu sebagai obat-obatan. Alla SWT berfirman dalam QS. Asy Syu'ara ayat 80:

وَإِذَا مَرِضْتُ فَهُوَ يَشْفِينِ

Artinya: "*Dan apabila aku sakit, Dialah yang menyembuhkan Aku*" (QS. Asy Syu'ara ayat 80)

Firman Allah SWT dalam surat asy Syu'ara ayat 80 diatas menunjukkan bahwa sesungghunya kesehatan merupakan suatu kenikmatan besar yang Allah berikan kepada manusia, akan tetapi terkadang nikmat yang begitu besar tersebut kurang disyukuri. Sakit merupakan musibah dan ujian yang ditetapkan oleh Allah SWT. Melalui ayat ini Allah SWT menganjurkan umat-Nya untuk senantiasa berserah diri apabila menderita suatu penyakit dengan tetap berusaha dan ikhtiar

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

kepada-Nya. Salah satu tersebut mencri obat dari alam yang berasal dari tanaman dan meneliti kegunaannya. Tanaman tersebut salah satunya adalah daun Legundi yang bermanfaat sebagai demam tifoid.

Daun legundi merupakan tanaman yang dapat dimanfaatkan dengan baik. Tumbuhan ini menjadi alternatif pengobatan alamiah yang disediakan Allah untuk hamba-Nya. Berdasarkan penelitian ini, ekstrak etanol 70% daun Legundi memiliki senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, antrakuinon, antosianin dan steroid. Kandungan senyawa tersebut memiliki aktivitas antibakteri *S. typhi* dalam pengobatan demam tifoid.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

BAB VI
PENUTUP

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan pada hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak etanol 70% daun Legundi memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Salmonella typhi* dengan konsentrasi 5%, 10%, 15% dan 20% (b/v).
2. Nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak etanol 70% daun Legundi ditandai dengan tidak adanya pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* dilihat pada konsentrasi terendah yaitu konsentrasi 5%.

6.2 Saran

1. Perlu dilakukan fraksi untuk mengetahui jenis senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri pada ekstrak etanol 70% daun legundi.
2. Perlu dilakukan isolasi senyawa dari ekstrak daun legundi untuk mengetahui efektivitas senyawa antibakteri secara tepat.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

DAFTAR PUSTAKA

Abro, L. 2009. *Hematological and Biochemical Changes in Typhoid Fever*. *Pak J med Sci*, 25(2): 166-171.

Agoes. 2007. Teknologi Bahan Alam. Bandung: ITB.

Agusta, A. 2000. *Minyak Atsiri Tumbuhan Tropika Indonesia*. Bandung: ITB Press, hal 1-7.

Ahmed, Bahar. 2007. Chemistry Of Natural Products. New Delhi: *Departemen of Pharmaceutical Chemistry of Science*. Jamia Hamdard.

Ahmed. 2012. *Phytochemical Studies and Antioxidant Activity of Melia azedarach Linn Leaves bDpph Scavenging Assay*. International Journal of Pharmaceutical Applications. 3(1): 271-276.

Alam, A 2011. Pola Resistensi *Salmonella Enterica Serotipe typhi*. Departemen Ilmu Kesehatan Anak RSHS. Tahun 2006-2010. *Sari Pediatri*, 12 (5): 296-301.

Alcamo, I.E. 1991. *Fundamentals of Microbiology*. 4th Edition. Canada: The Benjamin Publishing Company Inc. p709-710.

Alfiah, Ida. 2012. Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Daun Pepaya Gunung (*Carica pubescens Lenne & K. Koch*) Terhadap Bakteri *Salmonella typhi* secara *in silico* dan *in vitro*. *Skripsi*. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

Anggarini. 2012. *Asuhan Gizi Nutritional Care Process*. Yogyakarta.

Anonim. 1995. *Farmakope Indonesia*. Edisi IV. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

Anonim. 2014. *Farmakope Indonesia*. Edisi V. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

Apriyuslim, A. 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirsak *(Annona muricata L.)* secara *in vitro*. Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Tanjung Pura Kalimantan Barat.

Arifin. 2009. *Hubungan Tingkat Demam dengan Hasil Pemeriksaan Hematologi pada Penderita Demam Tifoid*. Banjarmasin: Departement Medical Faculty Lambung Mangkurat University.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Arjoso, S. 2010. *Typhoid fever and Salmonellosis in Indonesia*. Medical Journal of Indonesia, 1,5.

Banu, R. H., Nagarajan, N. 2014. TLC and HPTLC fingerprinting of leaf extracts of Wedelia chinensis (*Osbeck*) Merrill. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 2(6), 29-3.

Bari, B. 2008. *Resistance to Antibiotic : A Challenge in Chemotheraphy*. Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research.

Batt. 2014. *Encyclopedia Food Microbiology II*. USA: Elsivier.

Bhutta, ZA, 2006. *Typhoid fever: current concepts*. Infect Dis Clin Pract. (14): 266-272.

[BPOM] Badan Pengawasan Obat dan Makanan. 2014. *Monografi Ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia* Volume 1. Jakarta: BPOM.

Black, J. M. 1993. *Medical Surgical Nursing*. 4th edition. Philadephia: W. B. Saunders Company.

Brooks *et al*., 2013. *Mikrobiologi Kedokteran*. Ed. 25. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.

Choma, I.M. and Edyta M. G. 2011. Bioautography Detaction in Thin-layer Chomatography. *Journal of Chomatography A*. Volume 12, Nomor 18: 2684-2691.

Cisowska Al., D. Wojnicz., AB Hendrich. 2011. Anthcyanins as antimicrobial agents of natural plant origin. *Nat Prod Commun*. 6(1):149-56.

Crump, J.A. 2004. *The Global Burden of Typhoid Fever*. Buletin WHO Vol. 82 No. 5.

Darmawati, S. 2009. *Keanekaragaman Genetik Salmonella typhi*. Jurnal Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang. Vol.2 No.1, pp. 27-33.

Davis, W. W., and Stout, T. R., 1971. Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay, Appl. *Microbiol*., 4 (22), 666-670.

Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Pedoman Kerja Tenaga Gizi Puskesmas*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Edisi I. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2006. *Pedoman Pengendalian Demam Tifoid*. Jakarta: Menteri Kesehatan Republik Indonesia.

Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2006. *Pedoman Perencanaan Tingkat Puskesmas.* Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2010. *Profil Kesehatan Indonesia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

Ditjen POM. 1986. *Sediaan Galenik Jilid II*. Departemen Kesehatan RI. Jakarta. Hal 19-22.

Djauhariya dan Hermani. 2004. *Gulma Berkhasiat Obat*. Jakarta: Penerbit Penebar Swadaya.

Effendy, 2007. *Kimia Koordinas*. Jawa Timur: Bayumedika.

Faqih, Kamal Alamah. 2006. *Tafsif Nurul Qur'an*. Jakarta: Al Huda.

Faradisa, M. 2008. Uji Efektifitas Antimikroba Senyawa Saponin dari Batang Tanaman Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi* Linn.). *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi UIN Malang.

Fitriani, S. 2011. *Promosi Kesehatan*. Yogyakarta: Graha Ilmu.

Gandjar, I.G. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.

Ganiswara, V.H.S. 1995. *Farmakologi dan Terapi*. Edisike-4. Jakarta: Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

Greenwood, J. 1995. On The Cyclical Allocation of Risk. *Journal of Economic Dynamics and Control*. 91-124.

Gritter. 1991. *Pengantar Kromatografi*. Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, Edisi II. Bandung: ITB Press.

Handayani. 2016. Ekstraksi Antioksidan Daun Siersak Metode Ultrasonic Bath (Kajian Rasio Bahan: Pelarut dan Lama Ekstraksi). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. Vol. 4 No. 1: 262-272.

Harbone, J. B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung: ITB.

Hariana, A. 2013. *Tumbuhan Obat dan Khasiat III*. Jakarta: Penebar Swadaya.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Heim. 2015. Flavonoid Antioxidants. Chemistry, Metabolism and Structure-activity. *J Nut Biochem*. (13): 572-584.

Hendayana, Sumar. 2006. *Kimia Pemisahan Metode Kromatografi dan Elektroforesis Modern*. Bandung: PT Remaja Rosdakarya.

Iqlima. 2016. Uji Aktivitas Ekstrak Daun Legundi terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Pada Mencit. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Pendidikan Kimia (JIMPK)*. Vol 2. No 2 (99-106).

Istiqomah. 2013. Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokletasi terhadap Kadar Piperin Buah Cabe Jawa (*Piperis retrofracti fruktus*). *Skripsi*. Fakultas Farmasi Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta.

Jacob, B. 1993. *Medical Surgical Nursing*. 4th edition. Philadephia: W. B. Saunders Company.

Jawetz. 1995. *Review of Medical Microbiology*. Los Altos. California: Lange Medical Publication. Pages 227-230.

Juwono, L. 1996. *Ilmu Penyakit Dalam Edisi III*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

Kawono, A. 2007. Comparison of Serological Test Kits for Diagnosis of Typhoid Feverin the Philippines. *Journal of Clinical Microbiology*. 45(1): 246-247.

Kusnadi, 2017. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid pada Ekstrak Daun Seledri (*Apium graveolens* L.) dengan Metode Refluks. *Pancasakti Science Education Journal*. Program Studi Farmasi Politeknik Harapan Bersama: Tegal. ISSN 2528-6714.

Latifah, 2008. Identifikasi Golongan Senyawa Flavonoid dan Uji Aktivitas Antioksidan pada Ekstrak Rimpang Kencur dengan Metode DPPH (1,1-Difebil-2-Pikrilhidrazi). *Skripsi*.

Lei. 2002. *Influence of Salt Added to Solvent on Extractive Distillation*. The Chemical Engineering Journal, 43.

Lenny, S. 2006. Isolasi dan Uji Bioaktivitas Kandungan Kimia Utama Puding Merah dengan Metode U*ji Brine Shrimp*. Medan: Fakultas MIPA, Universitas Sumatera Utara.

Lina, Ednabel Caracas. 2006. Callus Induction in Leaf of *Croton urucurana* BAILL. *Agrotec., Lavras, v.* 32.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Linggawati. 2002. *Pemanfaatan Tanin Limbah Kayu Industri Kayu Lapis untuk Modifikasi Resin Fenol Formaldehid*. Riau. FMIPA Universitas Riau.

Luliana, S., Purwanti, N.U., dan Manihuruk, K.N. 2017. *Pengaruh Cara Pengeringan Simplisia Daun Senggani (Melastoma malabathcrium L.) Terhadap Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH (2,2-defenil-1-pikrilhidrazil)*. Pharm Sci Res ISSN 2407-2354.

Madduliri, Suresh, Rao, K. Babu. Sitram, B. 2013. In vitro evaluation of five Indegenous plant extract Againts five bacterial Phatogens of Human. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science* 5(4): 679-684.

Markham, 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Bandung: ITB Press.

Marliana, S. D., Suryanti, V. & Suyono, 2005. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule Jacq. Swartz*) dalam Ekstrak Etanol. Surakarta: FMIPA UNS.

Maslarova, N.V. 2001. Inhibiting oxidation dalam Jan Pokorny, Nedyalka Yanislieva dan Michael Gordon: Antioxidants in food, Practical applications. *Woodhead Publishing Limited, Cambridge*: 22-70.

Moeharjo, Lucky H. 2009. The Molecular Epidemiology of *Salmonella typhi* Across Indonesia Reveals Bacterial Migration. *J infect Dev Ctries*, 3(8): 579-584.

Monica, A. 2013. *Pengaruh Waktu Pemasakan Terhadap Pembuatan Pulp Pisang Menggunakan Proses Acetosolv*. Palembang: Politeknik Sriwijaya.

Monthly. 2006. Susceptibility testing of Bacillus species. *Journal antimicrob, Chemother*. 49, 1040-1042.

Mubarak. 2018. Pengaruh Kosentrasi Etanol pada Aktivitas Antibakteri Ekstrak Buah Bligo (Benincasa hispida Thunb.) terhadap Salmonella typhi. *Indonesian Journal of Pharmaceutical science and Technology*. *IJPST*-5(3): 76-81.

Murdianto, A. R., Enny F., Dewi K., 2013. Isolasi Identifikasi serta Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Golongan Triterpenoid dari Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steen) Terhadap *Stapylococcus aureus* dan *E. coli* [*Skripsi*]. Semarang: Universitas Diponegoro.

Murdianto, A. R., Enny F., Dewi K., 2013. Isolasi, Identifikasi serta Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Golongan Triterpenoid dari Ekstrak Daun Binahong

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

(*Anredera cordifolia* (Ten.) Steen) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *E. coli* [*Skripsi*]. Semarang: Universitas Diponegoro.

Mutschler, E., 1991. *Dinamika Obat Buku Ajar Farmakologi dan Toksikologi*. Edisi Ke 5, 652-652, Bandung. Penerbit ITB.

Muttaqin. 2011. *Gangguan Gastrointestinal*. Aplikasi Asuhan Keperawatan Medikal bedah. Jakarta: Salemba Medika.

Nainggolan, Indra. 2009. Analisis Faktor-faktor yang Mempengaruhi Kesempatan Kerja Pada Kabupaten/Kota Di Provinsi Sumatera Utara. *Thesis*.

Nelwan R.H.H., 2012. Tata Laksana Terkini Demam Tifoid. *Continuing Medical Education*. CDK-192/Vol. 39. No. 4.

Novak. 2008. *Ultrasound Extracted Flavonoid from Four Varieties of Portuguesese Red Grape Skins Determined by Reservese-phase Hight-Performance Liquid Chromatography with Electrohemical Detection*. Analitical Chimica Acta. 107-115.

Novalina, 2013. Ekstraksi Antioksidan dari Buah Tomat Menggunakan Solven Campuran n-Heksan, Aseton dan Etanol. *Skripsi*. Fakultas Teknik Universitas Diponegoro.

Noviana, H., 2004. Isolasi *Salmonella typhi* dari Penderita Demam Tifoid. Jurnal Kedokteran Yarsi, 12 (3). 54-60.

Nugrahani, R. 2015. Analisis Potensi Serbuk Ekstrak Buncis (Phaseolus vulgaris L.) sebagai Antioksidan. Tesis S2. Universitas Mataram.

Nuriah. 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (Jatropha curcus L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Atcc 25923, *Escherichia coli* Atcc 25922, dan *Salmonella typhi* Atcc 1408. *Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian*, 5(2): 26-37.

Octaviani, Melzi. 2019. Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol dari Kulit Bawang Merah (*Allium cepa* L.) dengan Metode Difusi Cakram. *Pharmaceutical Sciences and Research* (PSR), 6(1), 62-68.

Padmasari. 2013. *Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 70% Rimpang Bangle (Zingiber purpureum Roxb.).* Jurnal Farmasi Udayana 1-7.

Pelczar, M.J dan Chan, E.C.S. 1988. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*, Jilid 1. Jakarta: Universitas Indonesia Press.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Pratiwi, I. 2009. *Uji Antibakteri Ekstrak Kasar Daun Acalypha Indica terhadap Bakteri Salmonella choleraesuis dan Salmonella typhimurim*. Surakarta: Jurusan Farmasi Biologi FMIPA UNS.

Prihantoro, T. 2006. *Antibacterial Effec of Pomegranate (Punica granatium) Rind Extrac Against Shigella Dysentriae In Vitro.* Jurnal Kedokteran Brawijaya. Vol. XXII No. 3.

Putra, A. 2012. *World Health Organization (WHO) pada tahun 2003*. Tata Laksana Terkini Demam Tifoid. Departemen Ilmu Penyakit Dalam.

Putri, Nirwana. 2013. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Daun Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) terhadap Bakteri *Salmonella typhi*. *Skripsi*. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Inrahim Malang.

Quthb, Sayyid. 2001. *Tafsir Fi Zhilalil Qir'an*. Penj. As'ad Yasin. Jakarta: Gema Insani.

Radji, M. 2009. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. Jakarta: EGC.

Rahmawati, M. 2015. Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol dan Air Rimpang Pacing (*Custus spiralis*) terhadap Bakteri *Escherichia coli, Shigella dysenteriae, Salmonella typhimurium, Bacillus subtilis, Staphylococcus aureus* serta Fungsi *Candida albicans* [Skripsi]. Jakarta: Universitas Syarif Hidayatullah.

Reynolds, J. E. F. 1996. *Martindale, The Extra Pharmacopeia 32th Edition*. The Royal Pharmaceutical Society Press. London. p : 114-117.

Rinawati, ND. 2011. Daya Antibakteri Tumbuhan Majapahit (*Crescentia cujete* L.) terhadap Bakteri *Vibrio alginolyticus*. *Skripsi*. Tidak dipublikasikan. Surabaya: Jurusan Biologi Fakultas MIPA Institut Teknologi Sepuluh November.

Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Bandung: ITB.

Rohman T. 2010. Distribusi Penderita Demam Tifoid menurut umur dan Gejala (Studi Kasus di RSI Roemani). *Prosiding Seminar Nasional UNIMUS*.

Rohman, A. 2014. *Statistika Dan Komometrika Dasar Dalam Analisis Farmasi*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.

Santos. 2009. *The Power of Ultrasound In: J.L. Capelo-Martinez (Ed). Ultrasound in Chemistry: Analytical appliction*. WILEY-VCH Verlag & Co. Weinhei. Hlm.1-16.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Sarah, S. 2015. *Tinjauan Tata Ruang Untuk Keamanan dan Kerahasiaan Rekam Medis di Rumah Sakit Qadr Tangerang*. Universitas Esa Unggul: Jakarta Barat.

Sari, K. 2011. *Gangguan Gastrointestinal*. Aplikasi Asuhan Keperawatan Medikal bedah. Jakarta: Salemba Medika.

Sastrohamidjojo, H. 1991. *Kromatografi*. Edisi II. Yogyakarta: Liberty.

Sebayang, F. 2006. Pembuatan Etanol dari Molase secara Fermentasi Menggunakan Sel *Saccharomyces cerivisiae* yang Termobilisasi pada Kalsium Alginat. *Jurnal Teknologi Porses*, No.2 Vol.5.

Sembiring, E. R., 2006. Karakteristik Perusahaan dan Pengungkapan Tanggung Jawab Sosial: Stydi pada Perusahaan yang Tercatat di Bursa Efek Jakarta. *Jurnal Maksi Universitas Diponegoro Semarang*, 6, 69-85.

Seran, M.F.2015. *Uji Diagnostik Pemeriksaan Tubex dan Widal terhadap Baku Emas Kultur Salmonella typhi pada Penderita Demam Tifoid*. Bandung: Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Maranatha.

Setya, Enti. R., 2017. Identifikasi Senyawa Saponin Ekstrak Etanol Pelepah Pisang Uli (*Musa Paradisiaca* L.). *Jurnal Scientia* Vol. 7 No. 1.

Shihab, Q. 2002. *Tafsir Al-Misbah Pesan, Kesan, dan Keserasian Al-Qur'an Volume II*. Jakarta: Lentera Hati.

Silvikasari. 2011. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Flavonoid Daun Gambir (*Uncaria gambir* Roxb.). *Skripsi*. Bogor: IPB.

Sirait, M. 2007. *Petunjuk Fitokimia dalam Farmasi*. Bandung: ITB.

Stahl, E., 1985. *Analisis Obat secara Kromatografi dan Mikroskopi, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro*. Bandung: ITB.

Subekti, N.K., 2014. Uji Toksisita Akut Ekstrak Metanol Daun Laban Abang(*Aglaia elliptica* Blume) Terhadap Larva Udang (*Artemia salina* Leach) dengan Metode *Brine Shripm Lethality* Test (BSLT). Skripsi. Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah.

Sucipta, A. 2015. *Buku Emas Pemeriksaan Laboratorium Demam Tifoid pada Anak*. Analisis Kesehatan Politeknik Kesehatan Denpasar.

Sudarmadji. 1989. *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Penerbit Liberty.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Sudarsono. 2002. *Tumbuhan Obat II (Hasil Penelitian, Sifat-sifat dan Penggunaan)*. Yogyakarta: Pusat Studi Obat Tradisional. (66-68).

Syahmani, Leny, Iriani, R. & Elfa, N., 2017. Penggunaan Kitin Sebagai Alternatif Fase Diam Kromatografi Lapis Tipis dalam Praktikum Kimia Organik. *Jurnal Vidya Karya*, 32(1).

Teddy, Budi Suwandy. 2011. Pemodelan Proses Ekstraksi Ultrasonik Oleresin dan Cinnamaldehyde dari Kayu Msnis. *Thesis*. Semarang: Fakultas Teknik Universitas Diponegoro. Tidak diterbitkan.

Thomas, L.A.J. 1996. *Pandanus tectorius (pandanus).* Houla hawai'i. permanen Argiculture Resources (PAR).

Tortorello. 2014. *Encyclopedia Food Microbiology II*. USA: Elsivier.

Vogel, A. I., Tatchell, A. R., Furnis, B. S., Hannaford, A. J. and Smith. 1996. *Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry,* 5th Edition. New Jersey: Prentice Hall.

Volk dan Wheller. 1993. *Mikrobiologi Dasar Jasad V*. Jakarta: Erlangga.

WHO, 2014. Maternal Mortality: World Healt Organization.

Wiryawan, 2000. *Epidemiologi, Penularan dan Pencegahan*. Jakarta: Erlangga.

Wu, Y. W., Ouyang, J., Xiao, X. H., Gao, W. Y., & Liu, Y. (2006). Antimicrobial properties and toxicity of anthraquinones by microcalorimetric bioassay. *Chinese J. Chem*, 24, 45-50.

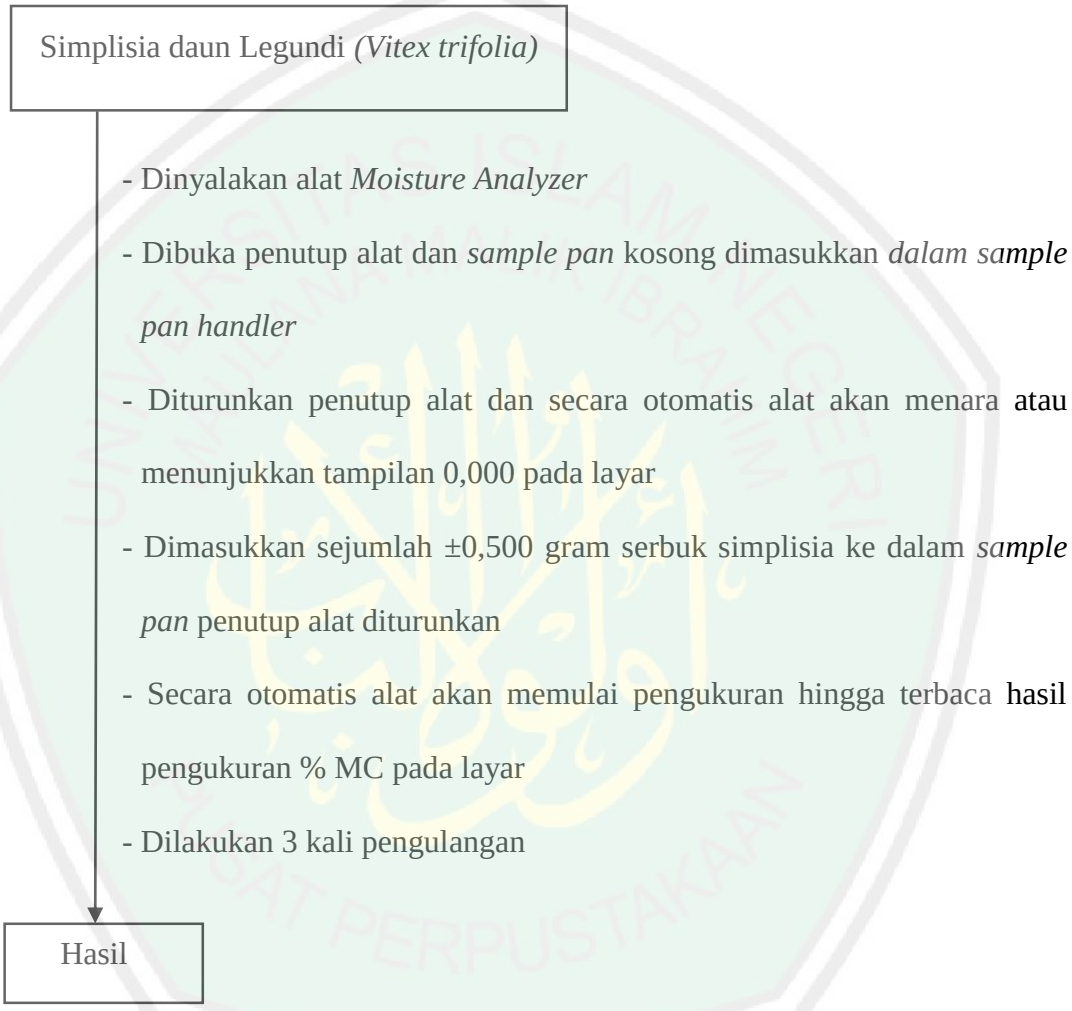
Yanti, Puspita. 2018. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Legundi (*Vitex trifolia* Linn.) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcusmutans* Secara Invitro. *Skripsi*. Kementrian Kesehatan. Politeknik Kesehatan Kemenkes Denpasar.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

LAMPIRAN-LAMPIRAN

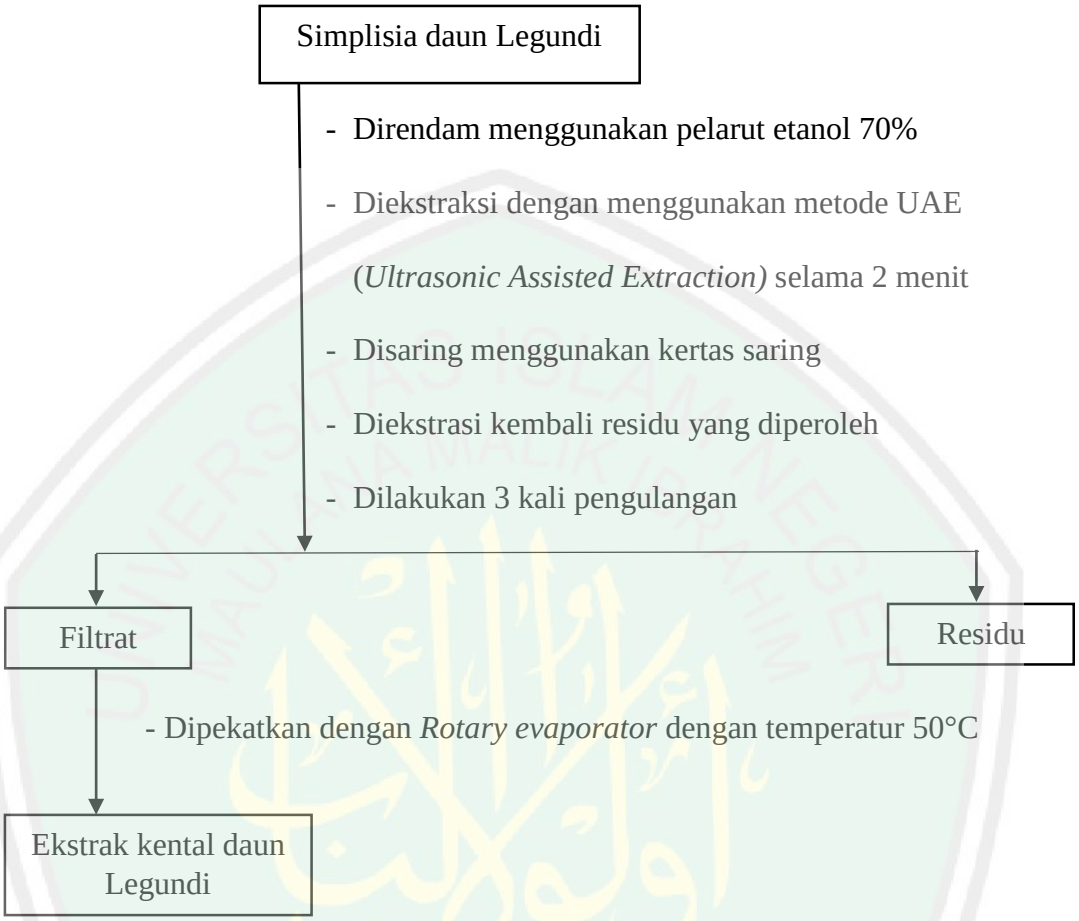
Lampiran 1 Skema Kerja

L.1.1 Analisis Kadar Air



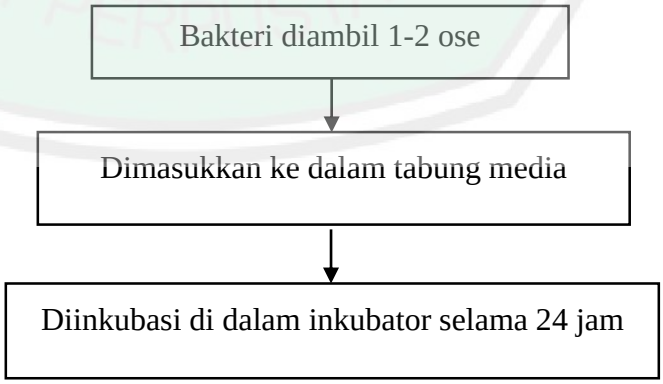
CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

L.1.2 Ekstraksi daun Legundi *(Vitex trifolia)*

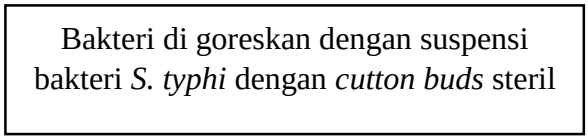


L.1.3 Uji Aktivitas Antibakteri

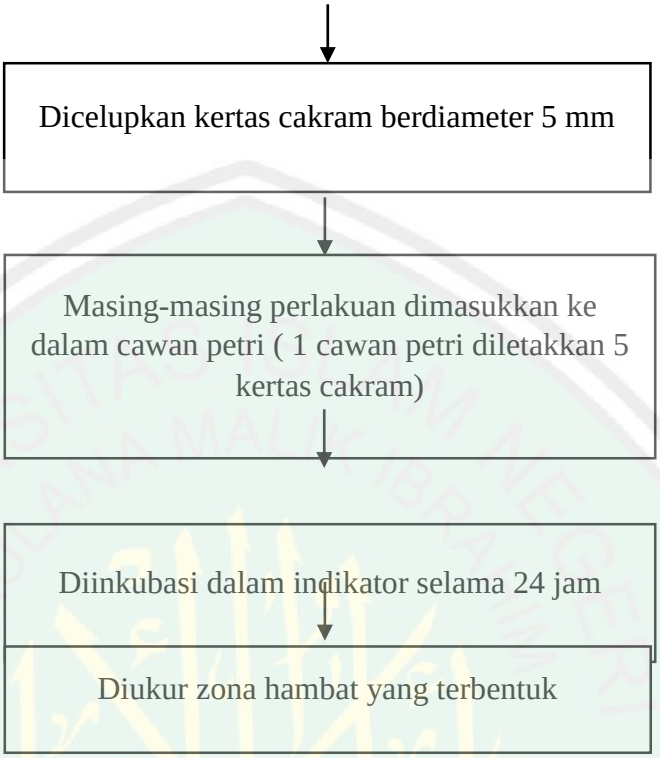
1. Inokulasi Bakteri Salmonella typhi



2. Uji Difusi Kertas Cakram (*paper disk*)



CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG



CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Lampiran 2 Perhitungan

L.2.1 Perhitungan Rendemen Hasil Ekstrak

Berat ekstrak etanol 70% : 26,8

Berat sampel : 120 gram

Rendemen = $\frac{Berat\ ekstrak}{Berat\ sampel}\ x\ 100\% = \frac{26,8}{120} x\ 100\% = 22,3\%$

L.2.2 Perhitungan Dosis

1. Dosis ekstrak daun Legundi 5%

Dosis 5% $= \frac{b}{v} = \frac{5}{100} x10ml = 0,5\ gram$

2. Dosis ekstrak daun Legundi 10%

Dosis 10% $= \frac{b}{v} = \frac{10}{100} x10ml = 1\ gram$

3. Dosis ekstrak daun Legundi 15%

Dosis 15% $= \frac{b}{v} = \frac{15}{100} x10ml = 1,5\ gram$

4. Dosis ekstrak daun Legundi 20%

Dosis 20% $= \frac{b}{v} = \frac{20}{100} x10ml = 2\ gram$

L.2.3 Perhitungan Zona Hambat Bakteri

1. Zona hambat ekstrak 5%

Replikasi 1 = Diameter zona bening – diameter cakram =7,025 mm – 5 mm = 2,02 mm

Replikasi 2 = Diameter zona bening – diameter cakram = 6,8 mm – 5 mm = 1,8 mm

Replikasi 3 = Diameter zona bening – diameter cakram = 7,07 mm – 5 mm = 2,07 mm

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

2. Zona hambat ekstrak 10%

Replikasi 1 = Diameter zona bening – diameter cakram =7,25 mm – 5 mm = 2,25 mm

Replikasi 2 = Diameter zona bening – diameter cakram = 6,87 mm – 5 mm = 1,87 mm

Replikasi 3 = Diameter zona bening – diameter cakram = 7,2 mm – 5 mm = 2,2 mm

3. Zona hambat ekstrak 15%

Replikasi 1 = Diameter zona bening – diameter cakram = 7,3 mm – 5 mm = 2,3 mm

Replikasi 2 = Diameter zona bening – diameter cakram = 7 mm – 5 mm = 2 mm

Replikasi 3 = Diameter zona bening – diameter cakram = 7,35 mm – 5 mm = 2,35 mm

4. Zona hambat ekstrak 20%

Replikasi 1 = Diameter zona bening – diameter cakram = 7,32 mm – 5 mm = 2,32 mm

Replikasi 2 = Diameter zona bening – diameter cakram = 7,07 mm – 5 mm = 2,07 mm

Replikasi 3 = Diameter zona bening – diameter cakram = 7,72 mm – 5 mm = 2,72 mm

5. Zona hambat kontrol positif

Replikasi 1 = Diameter zona bening – diameter cakram = 7,15 mm – 5 mm = 2,15 mm

Replikasi 2 = Diameter zona bening – diameter cakram = 6,72 mm – 5 mm = 1,72 mm

Replikasi 3 = Diameter zona bening – diameter cakram = 7,12 mm – 5 mm = 2,12 mm

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Lampiran 3 Dokumentasi Proses Penelitian

Penimbangan simplisia

(1)

Proses maserasi dengan UAE

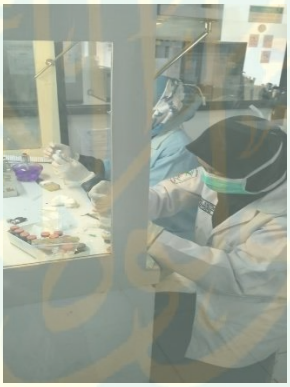
(2)

Penghilangan pelarut menggunakan rotavapor

(3)

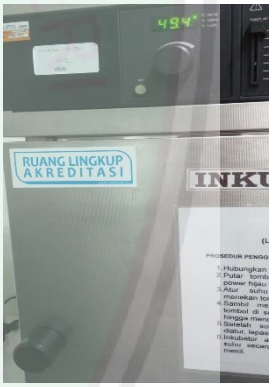
Ekstrak kental daun legundi

(4)



Proses mikrobiologi ekstrak daun legundi

(5)



Proses ikubasi dengan inkubator selama 24 jam

(6)

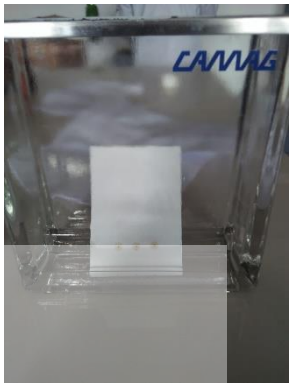
CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Proses menghitung zona hambat

(7)

Uji fitokimia reaksi warna ekstrak daun legundi

(8)



Uji fitokimia KLT ekstrak daun legundi

(9)

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Lampiran 4 Hasil Pengujian

L.4.1 Hasil Analisis Kadar Air Simplisia

1. Uji kadar air pertama

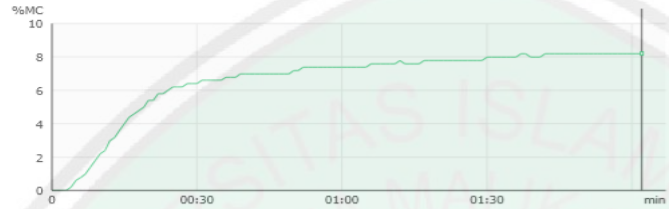
METTLER TOLEDO Moisture determination

Method name	**RAHMI**
Date & Time	08.04.2019 / 11:52

Measured values and drying curve

End result **8.18%MC**

Duration 02:02 min



Comment:

Start weight	0.501 g
Dry Weight	0.460 g
Moisture Content	0.041 g

Method parameters and instrument data

Main parameter		**Workflow handling**	
Drying program	Standard	Start mode	Automatic
Drying temperature	105 °C		
Switch-off criterion	3(1mg/50s)		
Result and value handling			
Instrument data			
Type	HC103/01		
SNR (Drying unit)	B624595599	SNR (Terminal)	B624595599
SW (Drying unit)	1.20	SW (Terminal)	1.31
Last weight adjustment	14.06.2016 09:33	Last temperature adjustment	16.06.2016 11:44

2. Uji kadar air kedua

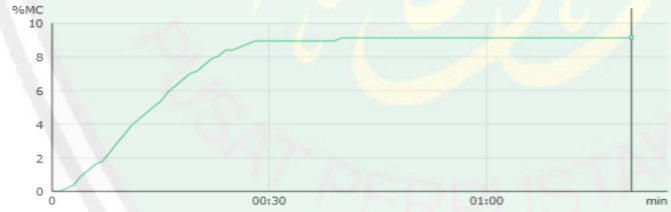
METTLER TOLEDO Moisture determination

Method name	**RAHMI**
Date & Time	08.04.2019 / 11:58

Measured values and drying curve

End result **9.12%MC**

Duration 01:20 min



Comment:

Start weight	0.559 g
Dry Weight	0.508 g
Moisture Content	0.051 g

Method parameters and instrument data

Main parameter		**Workflow handling**	
Drying program	Standard	Start mode	Automatic
Drying temperature	105 °C		
Switch-off criterion	3(1mg/50s)		
Result and value handling			
Instrument data			
Type	HC103/01		
SNR (Drying unit)	B624595599	SNR (Terminal)	B624595599
SW (Drying unit)	1.20	SW (Terminal)	1.31
Last weight adjustment	14.06.2016 09:33	Last temperature adjustment	16.06.2016 11:44

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

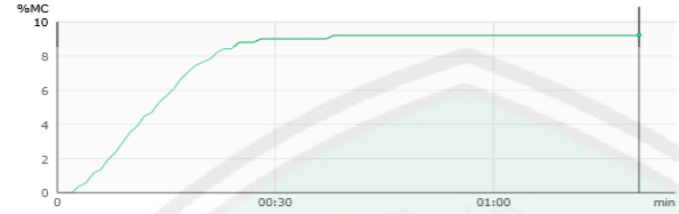
3. Uji kadar air ketiga

METTLER TOLEDO Moisture determination

Method name	**RAHMI**
Date & Time	08.04.2019 / 12:03

Measured values and drying curve

End result	**9.22%MC**
Duration	01:20 min



Comment:

Start weight	0.510 g
Dry Weight	0.463 g
Moisture Content	0.047 g

Method parameters and instrument data

Main parameter		**Workflow handling**	
Drying program	Standard	Start mode	Automatic
Drying temperature	105 °C		
Switch-off criterion	3(1mg/50s)		
Result and value handling			
Instrument data			
Type	HC103/01		
SNR (Drying unit)	B624595599	SNR (Terminal)	B624595599
SW (Drying unit)	1.20	SW (Terminal)	1.31
Last weight adjustment	14.06.2016 09:33	Last temperature adjustment	16.06.2016 11:44

L.4.2 Hasil Analisis Data

1. Uji normalitas

Case Processing Summary

		Cases					
		Valid		Missing		Total	
	Konsentrasi	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Hambatan	5%	3	100.0%	0	0.0%	3	100.0%
	10%	3	100.0%	0	0.0%	3	100.0%
	15%	3	100.0%	0	0.0%	3	100.0%
	20%	3	100.0%	0	0.0%	3	100.0%
	kontrol positif	3	100.0%	0	0.0%	3	100.0%

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Tests of Normality

		Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
	Konsentrasi	Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Hambatan	5%	.320	3	.	.883	3	.334
	10%	.341	3	.	.847	3	.232
	15%	.337	3	.	.855	3	.253
	20%	.227	3	.	.983	3	.747
	kontrol positif	.363	3	.	.802	3	.119

2. Uji homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Hambatan

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.720	4	10	.597

3. Uji anova

ANOVA

Hambatan

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.334	4	.083	1.578	.254
Within Groups	.528	10	.053		
Total	.862	14			

4. Uji *post-hoc*

Multiple Comparisons

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Dependent Variable: Hambatan

(I) Konsentrasi	(J) Konsentrasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval Lower Bound	95% Confidence Interval Upper Bound
5%	10%	-.14333	.18770	.463	-.5616	.2749
	15%	-.25333	.18770	.207	-.6716	.1649
	20%	-.40667	.18770	.055	-.8249	.0116
	kontrol positif	-.03333	.18770	.863	-.4516	.3849
10%	5%	.14333	.18770	.463	-.2749	.5616
	15%	-.11000	.18770	.571	-.5282	.3082
	20%	-.26333	.18770	.191	-.6816	.1549
	kontrol positif	.11000	.18770	.571	-.3082	.5282
15%	5%	.25333	.18770	.207	-.1649	.6716
	10%	.11000	.18770	.571	-.3082	.5282
	20%	-.15333	.18770	.433	-.5716	.2649
	kontrol positif	.22000	.18770	.268	-.1982	.6382
20%	5%	.40667	.18770	.055	-.0116	.8249
	10%	.26333	.18770	.191	-.1549	.6816
	15%	.15333	.18770	.433	-.2649	.5716
	kontrol positif	.37333	.18770	.075	-.0449	.7916
kontrol positif	5%	.03333	.18770	.863	-.3849	.4516
	10%	-.11000	.18770	.571	-.5282	.3082
	15%	-.22000	.18770	.268	-.6382	.1982
	20%	-.37333	.18770	.075	-.7916	.0449

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Lampiran 5 Hasil Determinasi

PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT LABORATORIUM HERBAL MATERIA MEDICA BATU
Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396
KOTA BATU 65313

Nomor : 074/ 028A/ 102.7/ 2019
Sifat : Biasa
Perihal : **Determinasi Tanaman Legundi**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : HUSNUL KHOTIMAH
NIM : 15670010
Fakultas : FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG

1. Perihal determinasi tanaman legundi
   - Kingdom : Plantae (Tumbuhan)
   - Subkingdom : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
   - Super Divisi : Spermatophyta (Menghasilkan biji)
   - Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
   - Sub Divisi : Angiospermae
   - Kelas : Dicotyledonae
   - Bangsa : Solanales
   - Suku : Verbenaceae
   - Marga : Vitex
   - Jenis : *Vitex trifolia* L.
   - Nama Daerah : Langgundi (Minangkabau), gandasari (Palembang), lagundi (Melayu), lagondi (Sunda), legundi (Jawa Tengan), langghundi (Madura), galumi (Sumba), sangari (Bima), laura (Makasar), lawarani (Bugis).
   - Kunci Determinasi : 1b- 2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14b-16b-286b-288a-1a-1.
2. Morfologi : Habitus: Pohon, tinggi 5-8 m. Batang: Berkayu, bulat, ranting berambut, putih kotor. Daun: Majemuk, berseling berhadapan, terdiri dari tiga anak daun, bulat telur, ujung dan pangkal turnpul, tepi rata, pertulangan menyirip, hijau. Bunga: Majemuk, di ujung cabang, bentuk malai, kelopak bentuk tabung, bergigi lima, panjang 2-4 mm, putih keunguan, mahkota bentuk tabung, berbibir dua, berbulu, benang sari empat, ungu. Buah: Batu, bentuk bola, diameter 2-5 mm, coklat. Biji: Kecil, coklat. Akar: Tunggang, kuning kecoklatan.
3. Nama Simplisia : Vitecis Folium/ Daun Legundi.
4. Kandungan : Daun mengandung minyak atsiri yang tersusun dari seskuiterpen, terpenoid, senyawa ester, alkaloid (vitrisin), glikosida flavon (artemetin dan 7-desmetil artemetin) dan komponen non-flavonoid friedelin, ß-sitosterol, glukosida dan senyawa hidrokarbon. Hasil penelitian terhadap minyak atsiri daun legundi atas dasar reaksi warna menggunakan metode kromatografi lapisan tipis ditemukan senyawa golongan aldehida dan atau keton, senyawa tidak jenuh, senyawa dengan ikatan rangkap terkonjugasi, senyawa terpenoid; sedangkan analisis dengan kromatografi gas ditemukan keberadaan sineol.
5. Penggunaan : Penelitian.
6. Daftar Pustaka
   - Syamsuhidayat, Sri sugati dan Hutapea, Johny Ria. 1991. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia I.* Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Badan Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan.
   - Van Steenis, CGGJ. 2008. *FLORA: untuk Sekolah di Indonesia*. Pradnya Paramita, Jakarta.

Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 28 Januari 2019
Kepala UPT Materia Medica Batu

Dr. Husin R.A.F., Drs., Apt., M.Kes.
NIP. 19611107 199103 1 003

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Lampiran 5 Uji Mikrobiologi

	LABORATORIUM BIOLOGI UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MALANG	Nomor : 03.004
		Edisi/revisi : 1
	SURAT KELUAR	Tanggal : 20 September 2015
	SURAT KETERANGAN PENELITIAN	Halaman : 1 dari 1

SURAT KETERANGAN PENELITIAN
No. E.6.k/058/Lab Bio-UMM/VII/2019

Yang bertanda tangan dibawah ini adalah Kepala Laboratorium Biologi Universitas Muhammadiyah Malang, Menerangkan Bahwa:

Nama : Husnul Khotimah
Nim : 15670010
Jurusan : Farmasi
Fakultas : Kedokteran dan Ilmu Kesehatan

Telah benar-benar melakukan penelitian dan menggunakan fasilitas di Laboratorium Biologi Universitas Muhammadiyah Malang, guna menunjang penyelesaian tugas akhir (SKRIPSI) dengan judul **"Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 70% Daun Legundi (*Vitex trifolia* Linn.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Salmonella typhi*"**, Pada tanggal 2 Mei 2019.

Demikian surat keterangan ini kami buat, semoga dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Malang, 2 Juli 2019
Kepala Lab. Biologi

Dra. Roimil Latifa,M.Si,MM

LABORATORIUM BIOLOGI UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MALANG
Jl. Raya Tlogomas No. 246 Malang, Jawa Timur; Telp:(0343) 464318; Fax : (0343) 460435
Website : lab-biologi.umm.ac.id; **Email** : lab.biologiumm@yahoo.com

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

	LABORATORIUM BIOLOGI UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MALANG	Nomor : 03.005
		Edisi/revisi : 1
	SURAT KELUAR	Tanggal : 20 September 2015
	SURAT HASIL PENELITIAN	Halaman : 1 dari 1

SURAT HASIL PENELITIAN
No. E.6.k/058/Lab Bio-UMM/VII/2019

Data Peneliti

Nama	: Husnul Khotimah
Nim	: 15670010
Instansi	: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim
Alamat	: Malang
Status	: Mahasiswa
Keperluan Analisa	: Tugas Akhir (SKRIPSI)
Jenis Sampel	: Ekstrak Etanol 70% Daun Legundi
Jenis Analisa	: Mikrobiologi
Metode Analisa	: Daya Antimikrobial
Tanggal Analisa	: 2 Mei 2019

DATA HASIL PENGAMATAN

Jenis Perlakuan	Diameter Zona Bening (mm)		
	Ulangan		
	I	II	III
5%	7.02	6.80	7.07
10%	7.25	6.87	7.20
15%	7.30	7.00	7.35
20%	7.32	7.07	7.72
Kontrol +	7.15	6.72	7.12
Kontrol -	0	0	0

Mengetahui,
Kepala LabBiologi

Dra. Roimil Latifa, M.Si., M.M.

Malang, 2 Juli 2019
Pendamping Penelitian

Erma Dwi Lailatul Fitri., S.Pd

LABORATORIUM BIOLOGI UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MALANG
Jl. Raya Tlogomas No. 246 Malang, Jawa Timur; Telp:(0343) 464318; Fax : (0343) 460435
Website : lab-biologi.umm.ac.id; **Email** : lab.biologiumm@yahoo.com

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

	LABORATORIUM BIOLOGI UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MALANG	Nomor : 03.006
		Edisi/revisi : 1
	SURAT KELUAR	Tanggal : 20 September 2015
	SURAT VALIDASI PENELITIAN	Halaman : 1 dari 1

LEMBAR VALIDASI HASIL PENELITIAN
No. E.6.k/058/Lab Bio-UMM/VII/2019

Berdasarkan laporan hasil aktivitas di Laboratorium Biologi Universitas Muhammadiyah Malang, Menerangkan bahwa hasil aktivitas yang dilakukan oleh :

Nama : Husnul Khotimah
Nim : 15670010
Jurusan : Farmasi
Fakultas : Kedokteran dan Ilmu Kesehatan

Dengan judul **"Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 70% Daun Legundi (*Vitex trifolia* Linn.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Salmonella typhi*"**, Pada tanggal 2 Mei 2019 merupakan hasil yang sebenar-benarnya.

Demikian surat keterangan ini kami buat, semoga dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Malang, 2 Juli 2019

Mengetahui,
Kepala Lab. Biologi

Dra. Roimil Latifa,M.Si,MM.

Validasi Hasil Penelitian

Fitroh Nilla Prastika Hapsari., S.Pd

LABORATORIUM BIOLOGI UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MALANG
Jl. Raya Tlogomas No. 246 Malang, Jawa Timur; Telp:(0343) 464318; Fax : (0343) 460435
Website : lab-biologi.umm.ac.id; **Email** : lab.biologiumm@yahoo.com

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERIMAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
JURUSAN FARMASI
Jl. Ir. Soekarno No.34 DadaprejoBatu, Telepon (0341) 577033Faksimile (0341) 577033
Website: http//fkik.uin-malang.ac.id. E-mail:fkik@uin-malang.ac.id

LEMBAR PERSETUJUAN PERBAIKAN (REVISI) UJIAN SKRIPSI

Naskah ujian skripsi yang disusun oleh:

Nama : Husnul Khotimah
NIM : 15670010
Judul : Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 70% Daun Legundi (*Vitex trifolia* Linn.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Salmonella typhi*.
Tanggal Ujian Skripsi : 26 November 2019

Telah dilakukan perbaikan sesuai dengan saran tim pembimbing dan tim penguji serta diperkenankan untuk melanjutkan ke tahap penelitian.

No	Nama Penguji	Tanggal Revisi	Tanda Tangan
1.	Burhan Ma'arif ZA, M.Farm., Apt	17 - 12 - 2019	
2.	drg. Arief Suryadinata, Sp. Ort	17 - 12 - 2019	
3.	Ach. Nasichuddin, M.A.	19 - 12 - 2019	
4.	Wirda Anggarini, M.Farm., Apt	18 - 12 - 2019	

Catatan :
1. Batas waktu maksimum melakukan revisi 2 Minggu. Jika tidak selesai, mahasiswa TIDAK dapat mendaftarkan diri untuk mengikuti Yudisium
2. Lembar revisi dilampirkan dalam naskah skripsi yang telah dijilid, dan dikumpulkan di Bagian Administrasi Jurusan Farmasi selanjutnya mahasiswa berhak menerima Bukti Lulus Ujian Skripsi.

Malang,
Ketua Jurusan Farmasi

Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt
NIP. 19800203 200912 2003

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG