

**PENETAPAN KADAR SENYAWA FENOLIK FRAKSI KULIT BUAH RAMBUTAN
BINJAI (*Nephelium lappaceum* L.) SECARA KLT-DENSITOMETRI
DAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI TERHADAP
Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)**

SKRIPSI

**Diajukan untuk Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi pada Program Studi S1 Farmasi
Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Yayasan Pharmasi Semarang**



**Intan Dwianing Pratiwi
1041921010**

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU FARMASI YAYASAN PHARMASI SEMARANG
2022**

Oleh :
Intan Dwianing Pratiwi
1041921010

Program Studi S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Yayasan Pharmasi
Pada tanggal : 15 Februari 2022

Mengetahui
Program Studi S1 Farmasi
Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi
Yayasan Pharmasi Semarang
Ketua

pt. Wulandari, M.Sc.
embimbing II

pt. Ungari Rizki Eka Purwa
embimbing I

1041921010

Mengetahui

Ketua

apt. Ungsari Rizki Eka Purwanto, M.Sc.

Ahmad Fuad Masduqi, M.Si.

4. Ahmad Fuad Masduqi, M.Si.

HALAMAN PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Intan Dwianing Pratiwi

NIM : 1041921010

Judul Skripsi : Penetapan Kadar Senyawa Fenolik Fraksi Kulit Buah Rambutan Binjai (*Nephelium lappaceum* L.) Secara KLT-Densitometri Dan Aktivitas Antibakteri Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*

Tahun Pembuatan : 2022

Dengan ini menyatakan bahwa dalam skripsi saya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah skripsi saya dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Semarang, Februari 2022

Intan Dwianing Pratiwi

HALAMAN MOTTO DAN PERSEMBAHAN

Apapun masalahmu di perkuliahan tuntaskan, jangan berhenti di tengah jalan sebab di ujung sana, ada senyum orang tua yang menantimu

Dengan penuh rasa syukur kehadiran Allah SWT

kupersembahkan karya ini untuk:

Bapak, Ibu, sebagai wujud rasa hormat & baktiku,
kakak dan seluruh keluarga yang selalu memberikan doa, semangat, kasih sayang,
dan dukungan yang tiada henti.

Sahabat-sahabatku yang selalu mendukung dan menguatkan, terimakasih atas

doa, perhatian, dan semangat yang sangat berarti,
serta semua pihak yang telah membantu dan mendoakanku,

Almamaterku STIFAR Yayasan Pharmasi Semarang

Yang selalu kubanggakan

PRAKATA

Segala puji dan syukur atas kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan segala Rahmat, Hidayah dan Inayah-Nya, serta Sholawat dan Salam kepada junjungan kita Baginda Rasulullah SAW beserta keluarga dan para Sahabat-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi yang berjudul “Penetapan Kadar Senyawa Fenolik Fraksi Kulit Buah Rambutan Binjai (*Nephelium lappaceum* L.) Secara KLT-Densitometri Dan Aktivitas Antibakteri Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*” dapat diselesaikan.

Skripsi ini disusun untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Program Studi S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Yayasan Pharmasi Semarang. Skripsi ini diharapkan dapat menambah pengetahuan dan berguna bagi pembaca. terselesaikannya Skripsi ini tidak lepas dari bantuan dan kerja sama dari berbagai pihak yang terkait baik secara langsung maupun tidak langsung. Oleh karena itu, pada kesempatan yang sangat baik ini penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. Dr. apt. Sri Haryanti, M.Si., selaku Ketua Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Yayasan Pharmasi Semarang.
2. apt. Ungsari Rizki E.P, M.Sc., selaku Ketua Program Studi S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Yayasan Pharmasi Semarang.
3. apt. Wulandari, M.Sc., selaku dosen pembimbing I saya yang telah memberikan pengarahan dan bimbingan dalam penyusunan skripsi ini.

4. Ahmad Fuad Masduqi, S.Si, M.Si., selaku dosen pembimbing II saya yang telah memberikan kritik, saran dan pengarahan dalam penyusunan skripsi ini.
5. apt. Christina Astutiningsih, M.Si. selaku Dosen Penguji I saya yang telah memberikan semangat, nasehat dan bimbingan kepada penulis dalam penyusunan skripsi ini.
6. Indah Sulistyarini, M.Si. selaku Dosen Penguji II saya yang telah memberikan semangat, nasehat dan bimbingan kepada penulis dalam penyusunan skripsi ini.
7. Segenap Bapak Ibu Dosen, Asisten Dosen, serta seluruh staf Laboratorium Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Yayasan Pharmasi Semarang yang telah memberikan bekal ilmu pengetahuan dan bimbingan kepada penulis.
8. Ibu, Bapak, Mbak Yara, Mas Yanuar terima kasih atas doa, motivasi dan selalu memberi semangat yang tiada henti dalam menyelesaikan Skripsi ini.
9. Sahabat-sahabatku, teman-teman seperjuangan, dan semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu yang saling memberi semangat satu sama lain.

Penulis menyadari masih banyak ketidaksempurnaan dan kekurangan dalam penulisan hasil penelitian ini. Kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan penulis. Semoga hasil penelitian ini dapat memberi manfaat bagi para pembaca.

Semarang, Februari 2022

Penulis

SARI

Penggunaan antibiotik yang tidak tepat, berlebihan dan penyalahgunaan antibiotik mampu membuat mikroorganisme resistensi terhadap antibiotik. Salah satu bakteri yang mengalami resistensi terhadap suatu antibiotik adalah Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* merupakan strain *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap metisilin dan antibiotik golongan betalaktam. WHO merekomendasikan untuk mulai mencari antibiotik baru dan alternatif pengobatan lain dan menggunakan obat dari tanaman tradisional. Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri adalah tanaman rambutan

Bagian tanaman rambutan yang dapat digunakan adalah bagian kulit buah. Berdasarkan kandungan kimia pada kulit buah rambutan binjai seperti flavonoid, fenolik, tanin, alkaloid, saponin, triterpenoid dan steroid yang berpotensi sebagai antimikroba. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar senyawa fenolik dan aktivitas antibakteri fraksi kulit buah rambutan dengan perbedaan konsentrasi 1%, 3% dan 5% terhadap pertumbuhan Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*.

Metode ekstraksi yang digunakan adalah remaserasi dengan pelarut etanol 70% diperoleh ekstrak kental, selanjutnya dilakukan fraksinasi menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat, dan air dengan corong pisah. Hasil ekstrak dan fraksi masing-masing diuji skrining fitokimia dan uji penegasan kromatografi lapis tipis (KLT). Fraksi n-heksan, etil asetat, dan air kemudian dilakukan penetapan kadar senyawa fenolik dengan KLT-Densitometer dan pengujian aktivitas antibakteri terhadap bakteri Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*.

Berdasarkan hasil skrining fitokimia dan uji penegasan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) ekstrak dan fraksi kulit buah rambutan binjai mengandung senyawa fenol, flavonoid, tanin, alkaloid, saponin, triterpenoid dan steroid. Penelitian ini diperoleh kadar senyawa fenolik fraksi air sebesar 18,76236 mg GAE/g sampel, fraksi etil asetat 58,9238 mg GAE/g sampel, dan fraksi n-heksan 19,95158 mg GAE/g sampel. Fraksi etil asetat dilakukan pengujian terhadap bakteri Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi 1% memiliki daya hambat sebesar 0,6955 cm, konsentrasi 3% 0,7780 cm dan konsentrasi 5% 0,8705 cm dengan kontrol positif sebesar 2,8110 cm.

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa fraksi kulit buah rambutan binjai yang memiliki kadar senyawa fenolik tertinggi dan memiliki aktivitas antibakteri terbesar adalah fraksi etil asetat. Berdasarkan uji statistika anava 1 jalan pada aktivitas antibakteri didapatkan hasil perbedaan yang signifikan antar konsentrasi dilihat dari nilai signifikansi yaitu $< 0,05$. Berdasarkan uji statistika kadar senyawa fenolik fraksi n-heksan; fraksi etil asetat, dan fraksi etil asetat; fraksi air memiliki perbedaan yang signifikan.

Kata kunci : kulit buah rambutan binjai, fraksi, kadar senyawa fenolik, antibakteri, Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
HALAMAN MOTTO DAN PERSEMBAHAN.....	iv
PRAKATA.....	v
SARI.....	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang Masalah.....	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Batasan Masalah.....	4
1.4 Tujuan Penelitian	6
1.5 Manfaat Penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA DAN HIPOTESIS	7
2.1 Tinjauan Tentang Tanaman Rambutan Binjai	7
2.1.1 Sistematika Tanaman	8
2.1.2 Kandungan Kimia.....	9
2.2 Tinjauan Tentang Ekstrak	12
2.2.1 Metode Ekstraksi	13
2.2.2 Fraksinasi.....	13
2.3 Tinjauan Tentang Cairan Penyari.....	14
2.3.1 Etanol.....	14

2.3.2	n-Heksan.....	15
2.3.3	Etil Asetat	15
2.4	Tinjauan Tentang Kromatografi.....	15
2.4.1	Tinjauan Tentang Kromatografi Lapis Tipis.....	16
2.5	Tinjauan Tentang Bakteri.....	17
2.5.1	Klasifikasi Tentang Bakteri Methicillin Resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA).....	17
2.5.2	Morfologi Bakteri Methicillin Resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA).....	18
2.5.3	Epidemiologi	20
2.6	Tinjauan Tentang Antibakteri	20
2.6.1	Antibakteri.....	20
2.6.2	Mekanisme Kerja Antibakteri	21
2.6.3	Metode Pengujian Aktivitas Antibakteri.....	23
2.6.4	Media Pertumbuhan Bakteri.....	24
2.6.5	Medium <i>Nutrient Agar</i> (NA).....	25
2.6.6	Medium <i>Nutrient Broth</i> (NB).....	26
2.6.7	Media <i>Manitol Salt Agar</i>	26
2.7	Tinjauan Tentang DMSO (<i>Dimethyl Sulphoxide</i>).....	27
2.8	Tinjauan Tentang Siprofloksasin	27
2.9	Tinjauan Tentang Fenolik	28
2.10	Tinjauan Tentang Asam Galat	30
2.11	Tinjauan Tentang Densitometri.....	32
2.12	Hipotesis.....	33
	BAB III METODE PENELITIAN	34
3.1	Obyek Penelitian	34
3.2	Sampel dan Teknik Sampling	34
3.2.1	Sampel	34

3.2.2 Teknik Sampling	34
3.3 Variabel Penelitian	35
3.3.1 Variabel Bebas	35
3.3.2 Variabel Terikat	35
3.3.3 Variabel Terkontrol.....	35
3.4 Teknik Pengumpulan Data.....	36
3.5 Alat dan Bahan	37
3.5.1 Alat	37
3.5.2 Bahan	37
3.6 Cara Kerja	38
3.6.1 Determinasi	38
3.6.2 Pembuatan Ekstrak Kulit Buah Rambutan Binjai.....	38
3.6.3 Fraksinasi Ekstrak.....	39
3.6.4 Uji Bebas Etanol	40
3.6.5 Skrining Fitokimia	40
3.6.6 Identifikasi Senyawa Kimia dengan KLT.....	42
3.6.7 Pemilihan Eluen	45
3.6.8 Uji Kadar Senyawa Fenolik dengan KLT-Densitometer.....	45
3.6.9 Uji Aktivitas Antibakteri.....	46
3.6.10 Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Kulit Buah Rambutan Binjai dengan Metode Sumuran.....	48
3.7 Skema Kerja.....	50
3.8 Analisis Data	55
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	56
BAB V SIMPULAN DAN SARAN.....	87
5.1 Simpulan	87
5.2 Saran.....	87
DAFTAR PUSTAKA	88
LAMPIRAN.....	95

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil Pengujian Bebas Etanol Ekstrak Kulit Buah Rambutan Binjai	59
2. Skrining Fitokimia Ekstrak Kulit Buah Rambutan Binjai	60
3. Hasil KLT Ekstrak dan Fraksi n-Heksan, Etil Asetat, Air Kulit Buah Rambutan Binjai	65
4. Nilai Rf Deret Baku Asam Galat dan Sampel.....	72
5. Hasil Nilai AUC Baku Asam Galat	74
6. Kadar Senyawa Fenolik Fraksi n-Heksan, Etil Asetat dan Air Kulit Buah Rambutan Binjai	75
7. Hasil Uji Normalitas Kadar Senyawa Fenolik.....	76
8. Hasil Uji Homogenitas Kadar Senyawa Fenolik	76
9. Hasil Uji Non Parametrik Kruskal Wallis.....	77
10. Hasil Uji Man-Whitney.....	77
11. Hasil Uji Resistansi Bakteri MRSA.....	79
12. Hasil Orientasi Fraksi n-Heksan, Etil Asetat dan Air Kulit Buah Rambutan Binjai Terhadap Bakteri Methicillin Resistant <i>Staphylococcus aureus</i>	81
13. Hasil Replikasi Uji Daya Antibakteri Fraksi Etil Asetat Kulit Buah Rambutan Binjai	81
14. Hasil Uji Pasca Anava Fraksi Etil Asetat Kulit Buah Rambutan Binjai....	86

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Buah Rambutan Binjai (<i>Nephelium lappaceum</i> L.)	9
2. Bakteri Methicillin Resistant <i>Staphylococcus aureus</i>	18
3. Struktur Siprofloksasin	28
4. Instrumen Densitometri.....	33
5. Skema Kerja Secara Umum	50
6. Ekstraksi Kulit Buah Rambutan Binjai	51
7. Fraksinasi Kulit Buah Rambutan	52
8. Penetapan Kadar Senyawa Fenolik dengan KLT-Densitometer.....	53
9. Uji Aktivitas Antibakteri.....	54
10. Struktur Asam Galat.....	71
11. Spektrum UV dan Panjang Gelombang Maksimum Asam Galat.....	71
12. Profil KLT Deret Baku Asam Galat dan Sampel pada Panjang Gelombang 280 nm.....	73
13. Kurva Baku Asam Galat pada Panjang Gelombang 280 nm	74

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Surat Determinasi.....	95
2. Surat Biakan Bakteri	96
3. Surat <i>Ethical Approval</i>	97
4. Tahapan Pembuatan Simplisia Kulit Buah Rambutan Binjai (<i>Nephelium lappaceum</i> L.)	98
5. Proses Remaserasi dan Ekstrak Kental Kulit Buah Rambutan Binjai	100
6. Hasil Uji Bebas Etanol Ekstrak Kulit Buah Rambutan.....	101
7. Perhitungan Rendemen Ekstrak Kulit Buah Rambutan Binjai (<i>Nephelium lappaceum</i> L.)	102
8. Proses Fraksinasi Kulit Buah Rambutan Binjai	103
9. Rendemen Hasil Fraksinasi.....	104
10. Hasil Screening Ekstrak Etanol, Fraksi n-Heksan, Etil Asetat dan Air Kulit Buah Rambutan Binjai	105
11. Hasil KLT Ekstrak, Fraksi n-Heksan, Etil Asetat, dan Air Kulit Buah Rambutan Binjai (<i>Nephelium lappaceum</i> L.).....	107
12. Hasil Identifikasi Senyawa Fenolik pada Sampel	112
13. Hasil Orientasi Eluen	113
14. Deret Baku Asam Galat dan Sampel.....	115
15. Hasil Penotolan Baku Asam Galat dan Sampel	116
16. Penimbangan dan Pembuatan Deret Baku Asam Galat	117
17. Penimbangan Sampel	118
18. Hasil Pembacaan Deret Baku dan Sampel pada Densitometer	119
19. Perhitungan Kadar Senyawa Femolik pada Sampel	120
20. Hasil Output KLT-Densitometer pada Uji Kadar Senyawa Fenolik	123
21. Peremajaan Methicillin Resistant <i>Staphylococcus aureus</i>	134

22. Uji Sterilitas Media	135
23. Uji Fertilitas Media	136
24. Uji Resistensi	137
25. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat Terhadap Bakteri Methicillin Resistant <i>Staphylococcus aureus</i>	138
26. Kontrol Positif Siprofloksasin.....	139
27. Alat-alat Uji Antibakteri dan Penetapan Kadar Senyawa Fenolik.....	140
28. Pembuatan Media.....	142
29. Pembuatan Larutan Mc. Farland	143
30. Uji Normalitas dan Homogenitas Antibakteri	144
31. Uji Normalitas dan Homogenitas Kadar Senyawa Fenolik	146

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Penyakit infeksi merupakan jenis penyakit yang paling banyak diderita oleh penduduk di negara berkembang, salah satunya negara Indonesia (Radji, 2011). Bakteri merupakan salah satu penyebab penyakit infeksi. Umumnya pengobatan untuk penyakit infeksi bakteri menggunakan antibiotik. Penggunaan antibiotika yang berlebihan dan tidak tepat dapat mengakibatkan masalah kekebalan atau resistensi bakteri terhadap antibiotika (Ardhany dkk., 2016). Resistensi antibiotik ini mengakibatkan penurunan efektifitas antibiotik pada suatu bakteri.

Salah satu bakteri yang sering menyebabkan infeksi adalah Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). MRSA merupakan strain dari *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap antibiotik golongan beta laktam seperti meticillin, kloksasilin, flukloksasilin (Prasetio dkk., 2016). Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) merupakan penyebab utama infeksi nosokomial, yaitu infeksi yang didapatkan di rumah sakit berupa infeksi pascaoperasi, infeksi saluran pernapasan, infeksi saluran urin maupun infeksi peredaran darah (Mardigan, 2012).

Menurut (Chen dan Huang, 2014) tingkat prevalensi infeksi yang disebabkan oleh MRSA pada suatu rumah sakit di Indonesia sebesar 28%. Infeksi yang disebabkan oleh bakteri MRSA diketahui dapat diobati dengan salah satu antibiotik vankomisin, namun saat ini terjadi penurunan kepekaan MRSA terhadap obat tersebut sehingga menyebabkan kegagalan pengobatan (Nurani

dkk., 2018). Seiring dengan peningkatan kejadian infeksi dan resistensi terhadap MRSA, WHO telah merekomendasikan untuk mulai mencari antibiotik baru dan alternatif pengobatan lain contohnya pengobatan dengan menggunakan obat dari tanaman tradisional (Rahmadeni dkk., 2019). Penggunaan obat tradisional alami sebagai alternatif pengobatan bukan tanpa alasan. Obat tradisional selain murah juga mudah didapat dan efek sampingnya lebih ringan dari pada pengobatan dengan obat-obat kimia atau bahkan tidak ada sama sekali (Rochmasari, 2013).

Salah satu bahan alam yang dapat digunakan adalah kulit buah rambutan binjai. Ekstrak etanol dari kulit buah rambutan binjai mengandung flavonoid, tanin, fenol, triterpenoid, dan saponin (Swantara dkk., 2017). Hasil pengujian antibakteri menunjukkan pada konsentrasi ekstrak etanol kulit buah rambutan binjai sebesar 0,5% memiliki diameter hambat pada bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar 8 mm (Selvia dkk., 2015). Penelitian juga dilakukan terhadap ekstrak etanol kulit buah rambutan binjai terhadap bakteri Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) dengan konsentrasi ekstrak sebesar 100,000 µg/ml menghasilkan zona hambat 21,4 mm (Rostinawati dkk., 2018). Penelitian lebih lanjut dilakukan pada fraksi kulit buah rambutan dari ekstrak etanol ditemukan bahwa fraksi etil asetat dan fraksi air memiliki daya hambat terhadap bakteri *Streptococcus mutans* (Nurwidyawati, 2018).

Senyawa fenolik di alam terdapat sangat luas mempunyai variasi struktur, mudah ditemukan pada semua tanaman, daun, bunga dan buah. Dalam konsentrasi tinggi, kandungan fenol dapat menembus dan mengganggu dinding sel bakteri dan mempresipitasi protein dalam sel bakteri. Konsentrasi yang lebih rendah, fenol

menginaktifkan sistem enzim penting dalam sel bakteri (Purwantiningsih dkk., 2014). Ekstrak etanol kulit buah rambutan binjai mengandung senyawa fenolik sebanyak 39,7861 mgGAE/g sampel diukur dengan spektrofotometer UV-Vis (Swantara dkk., 2017). Menurut hasil penelitian (Muhtadi dkk., 2014) ekstrak etanol kulit buah rambutan memiliki kandungan fenolik tertinggi 373,19 mg GAE/ g sampel dibandingkan dengan sampel kulit lainnya.

Pengukuran kadar senyawa fenolik telah banyak dilakukan dengan spektrofotometer UV-Vis. Penelitian ini menggunakan alat berupa Densitometer untuk mengukur kadar senyawa fenolik. Kadar senyawa fenolik diukur berdasarkan kesetaraan dengan asam galat. Perbedaan KLT-Densitometri dan spektrofotometri terletak pada sampel kompartemennya, jika spektrofotometri menggunakan kuvet sedangkan KLT-Densitometer menggunakan lempeng (Savitri dan Megantara, 2019). Digunakan KLT-Densitometer karena lebih spesifik pada asam galat. Dikatakan spesifik asam galat sendiri pada hasil Densitometer sendiri nantinya akan terlihat sampel pada peak ke berapa yang memiliki nilai R_f sama dengan baku asam galat. Pengukuran kadar senyawa fenolik dengan KLT-Densitometer memberikan banyak keuntungan. Keuntungan dari penggunaan alat KLT-Densitometer seperti memiliki spesifikasi yang tinggi, dapat dilakukan dengan mudah dan cepat, serta biaya yang dikeluarkan cukup murah karena pelarut yang digunakan relatif sedikit (Abdul, 2009). KLT-Densitometer sendiri dapat digunakan untuk uji kualitatif yang ditunjukkan dengan R_f dan uji kuantitatif berupa luas area hal tersebut yang menyatakan bahwa KLT-Densitometer lebih spesifik.

Berdasarkan uraian tersebut, penelitian ini mengacu pada senyawa fenolik dalam fraksi kulit buah rambutan binjai (*Nephelium lappaceum* L.). Oleh karena itu dilakukan pengukuran kadar senyawa fenolik secara KLT-Densitometri dan aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai dasar pengembangan ilmu pengetahuan.

1.2 Rumusan Masalah

1. Berapakah kadar senyawa fenolik yang terdapat pada fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air kulit buah rambutan binjai (*Nephelium lappaceum* L.) yang diukur dengan KLT Densitometer ?
2. Manakah fraksi kulit buah rambutan binjai (*Nephelium lappaceum* L.) yang memiliki kandungan fenolik tertinggi yang diukur dengan KLT-Densitometer?
3. Apakah ada perbedaan aktivitas antibakteri pada konsentrasi 1%, 3% dan 5% dalam fraksi kulit buah rambutan binjai (*Nephelium lappaceum* L.) yang mengandung kadar fenolik tertinggi terhadap pertumbuhan bakteri Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) ?

1.3 Batasan Masalah

1. Bagian tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit buah rambutan binjai (*Nephelium lappaceum* L.) yang berwarna merah dan tidak busuk yang selanjutnya akan dikeringkan dan diserbuk.
2. Kulit buah rambutan binjai diekstraksi menggunakan metode remaserasi selama 4 hari dengan pelarut etanol 70%.

3. Perbandingan serbuk dan pelarut sebanyak 1 : 10, penggantian pelarut sebanyak 3 kali, pertama setelah serbuk direndam selama 2 x 24 jam, dan selanjutnya setelah 1 x 24 jam (Kusumaningrum, 2012).
4. Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA).
5. Identifikasi senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, fenolik, saponin, triterpenoid dan steroid dilakukan pada ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, fraksi air kulit buah rambutan dengan uji pendahuluan dan uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT).
6. Proses fraksinasi menggunakan corong pisah dengan pelarut *n*-heksan, etil asetat, dan air.
7. Pengujian aktivitas antibakteri Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) dilakukan dengan metode difusi sumuran dengan mengukur zona hambat.
8. Kandungan senyawa fenolik yang diuji dalam penelitian ini adalah kandungan fenolik dalam fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari ekstrak etanol kulit buah rambutan binjai (*Nephelium lappaceum* L.) yang diukur dengan KLT-Densitometer.
9. Fraksi kulit buah rambutan binjai yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri adalah fraksi yang memiliki kadar senyawa fenolik paling tinggi.
10. Konsentrasi 1%, 3%, dan 5% fraksi kulit buah rambutan binjai yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* adalah fraksi yang memiliki zona hambat terbesar.

11. Kadar senyawa fenolik ditentukan dengan membandingkan area sampel dengan area baku asam galat, dinyatakan dalam *gallic acid equivalent* (GAE).

1.4 Tujuan Masalah

1. Mengetahui kadar senyawa fenolik yang terdapat pada fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air kulit buah rambutan binjai (*Nephelium lappaceum* L.) yang diukur dengan KLT Densitometer.
2. Mengetahui fraksi kulit buah rambutan binjai (*Nephelium lappaceum* L.) yang memiliki kadar fenolik tertinggi yang diukur dengan KLT-Densitometer.
3. Mengetahui ada perbedaan aktivitas antibakteri fraksi kulit buah rambutan binjai (*Nephelium lappaceum* L.) yang mengandung kadar senyawa fenolik tertinggi pada konsentrasi 1%, 3%, dan 5% terhadap pertumbuhan bakteri Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)

1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat menambah pengetahuan, wawasan, dan informasi di bidang farmasi mengenai kandungan senyawa fenolik dalam fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air kulit buah rambutan binjai (*Nephelium lappaceum* L.) serta aktivitasnya sebagai antibakteri dan pengaplikasian alat KLT-Densitometer.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA DAN HIPOTESIS

2.1 Tinjauan Tentang Tanaman Rambutan Binjai

Rambutan yang termasuk ke dalam famili *Sapindaceae* merupakan salah satu jenis buah musiman yang dibudidayakan di Indonesia. Tanaman rambutan ini dapat hidup dengan kondisi iklim yang lembab dengan kisaran curah hujan 1.500-2.500 mm/tahun. Tanaman rambutan akan tumbuh berkembang dan berbuah pada suhu sekitar 25°C yang diukur pada siang hari. Pohon rambutan dapat tumbuh baik pada dataran rendah dengan ketinggian antara 30-500 mdpl, tanaman ini sendiri ternyata dapat tumbuh hingga ketinggian 8m. Pertumbuhan pohon rambutan dengan ketinggian di bawah 30 mdpl tidak begitu baik hasil pertumbuhannya (Mahisworo dkk, 1991).

Bentuk buah rambutan sendiri memiliki struktur yang bervariasi tergantung pada jenis varietasnya. Struktur buah rambutan terdiri atas kulit buah, daging buah, dan biji dengan rata-rata berat tiap buah antara 33,80g – 68,15g. Pada kulit buah terdapat rambut dengan ukuran, struktur, dan warna yang bervariasi. Ukuran rambut pada kulit buah rambutan sendiri bervariasi mulai dari sangat pendek hingga dengan ukuran yang panjang. Struktur rambutnya sendiri bervariasi dari yang jarang dan kasar hingga jarang dan agak halus atau halus. Warna kulit rambut buah rambutan ini bervariasi dari merah dengan ujung hijau, hijau dengan

ujung kemerahan, hijau kekuningan dengan ujung merah sampai merah tua, atau merah dengan ujung kekuning-kuningan (Rukmana & Yuyun, 2002).

Varietas buah rambutan binjai menurut survei yang dilakukan BAPPENAS (2000) merupakan salah satu rambutan yang terbaik di Indonesia dengan buah cukup besar, rasanya manis sedikit asam dan memiliki nilai ekonomis yang relative tinggi. Ekstrak etanol kulit buah rambutan binjai memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) dengan konsentrasi ekstrak sebesar 100,000 µg/ml menghasilkan zona hambat 23,4 mm, dengan perbandingan kontrol positif (Tetracycline) 2500 µg/ml menghasilkan zona hambat 21,4 mm (Rostinawati dkk., 2018). Biji rambutan binjai memiliki kandungan polifenol lebih banyak yang dapat meningkatkan kecerahan kulit (Pambudi, 2016).

2.1.1 Sistematika Tanaman

Klasifikasi rambutan menurut (Kalie, 1994) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Sapindales
Famili	: Sapindaccae
Genus	: <i>Nephelium</i>
Spesies	: <i>Nephelium lappaceum</i> L.



Gambar 1. Buah Rambutan Binjai (*Nephelium lappaceum* L.) (Dokumentasi pribadi)

2.1.2 Kandungan Kimia

Kulit rambutan mengandung flavonoid, tanin dan saponin (Dalimartha, 2005) serta antosianin yang diduga sebagai pigmen yang membuat kulitnya berwarna merah tua (Lydia dkk., 2001). Penelitian lebih lanjut dilakukan oleh (Kusumaningrum, 2012) yang menyebutkan bahwa kulit rambutan memiliki kandungan tanin, alkaloid, saponin, flavonoid, dan triterpenoid.

1. Alkaloid

Alkaloid adalah senyawa metabolit sekunder mengandung unsur nitrogen (N) biasanya pada cincin heterosiklis dan bersifat basa. Alkaloid dalam tumbuhan umumnya berbentuk garam, yaitu berikatan dengan asam-asam organik yang terdapat dalam tumbuhan, seperti asam suksinat, maleat, mekonat, kinat, dan bersifat larut dalam pelarut polar etanol ataupun air. Dalam bentuk basa, alkaloid lebih larut dalam pelarut nonpolar, seperti eter, benzena, toluen, dan kloroform (Hanani, 2015).

Alkaloid dapat muncul di berbagai bagian tumbuhan tetapi, dapat diketahui bahwa pada spesies tertentu, biasanya hanya satu atau dua organ tertentu, dan bukan seluruh organ yang terutama berfungsi pada pembentukan alkaloid (Kar, 2013). Alkaloid dalam tanaman berfungsi sebagai zat beracun, pelindung metabolik, faktor pertumbuhan yang sangat teratur, dan zat cadangan pada tumbuhan (Kar, 2013). Senyawa alkaloid mempunyai kemampuan antibakteri dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada dinding sel bakteri (Robinson, 1991).

2. Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa fenol yang paling banyak ditemukan di alam. Flavonoid umumnya ditemukan pada tanaman yang berwarna merah, ungu, biru, atau kuning. Flavonoid menurut strukturnya, merupakan turunan senyawa induk flavon yang berupa tepung putih yang terdapat pada tumbuhan primula, dan semuanya mempunyai sejumlah sifat yang sama. Flavonoid merupakan senyawa yang larut dalam air, dapat diekstraksi dengan etanol 70%, dan terdapat pada tumbuhan dalam bentuk glikosida (Harborne, 1987). Umumnya flavonoid ditemukan berikatan dengan gula membentuk glikosida yang menyebabkan senyawa ini lebih mudah larut dalam pelarut polar seperti metanol, etanol, butanol, dan etil asetat.

Senyawa golongan flavonoid dalam menghambat pertumbuhan bakteri dengan mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel tanpa diperbaiki lagi. Flavonoid menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara merusak permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom, dan lisosom sebagai hasil dari

interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri dan juga mampu melepaskan energi transduksi terhadap membran sitoplasma bakteri, serta menghambat motilitas bakteri (Robinson, 1991).

3. Saponin

Saponin adalah suatu glikosida yang ada pada banyak tanaman. Saponin ada pada bagian tertentu dari tanaman dengan konsentrasi yang tinggi yang dipengaruhi oleh varietas tanaman dan tahap pertumbuhan. Saponin merupakan senyawa aktif permukaan dan memiliki sifat seperti sabun. Saponin dapat dideteksi karena kemampuannya membentuk busa dan menyebabkan hemolisis pada darah (Harborne, 1987). Mekanisme kerja dari saponin yaitu menghambat fungsi membran sel sehingga merusak permeabilitas membran yang mengakibatkan dinding sel rusak dan hancur. Saponin dapat mengakibatkan pecahnya lapisan lemak pada membran sel yang pada akhirnya menyebabkan gangguan permeabilitas membran sel. Hal tersebut mengakibatkan proses difusi bahan atau zat-zat yang diperlukan oleh jamur dapat terganggu, akhirnya sel membengkak dan pecah (Sugianitri, 2011).

4. Tanin

Tanin merupakan senyawa polifenol yang larut dalam air, gliserol, metanol, hidroalkoholik, dan propilena glikol tetapi tidak dapat larut dalam benzena, kloroform, eter, dan karbon disulfida. Tanin mempunyai rasa sepat dan juga bersifat antibakteri dan astringen atau menciutkan dinding usus yang rusak karena bakteri atau asam. Mekanisme penghambatan tanin terhadap bakteri adalah dengan merusak membran sel, inaktivasi enzim-enzim esensial dan destruksi fungsi material genetik.

5. Triterpenoid

Senyawa-senyawa golongan triterpenoid diketahui memiliki aktivitas fisiologis tertentu, seperti antijamur, antibakteri, antivirus, kerusakan hati, gangguan menstruasi, dan mengatasi penyakit diabetes (Robinson, 1991).

2.2 Tinjauan Tentang Ekstrak

Ekstrak merupakan suatu sediaan pekat yang 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 waktu yang telah ditetapkan (Departemen Kesehatan RI, 2014).

Ekstrak merupakan sediaan kering, kental, atau cair dibuat dengan menyari simplisia nabati atau hewani menggunakan metode yang cocok, tanpa terpapar cahaya matahari langsung. Cairan penyari yang biasa digunakan adalah air, eter, atau campuran etanol dan air (Departemen Kesehatan RI, 1979).

Ekstrak tanaman obat dari simplisia nabati bisa dijadikan sebagai bahan awal, bahan antara atau bahan produk jadi. Ekstrak sebagai bahan awal dijadikan komoditi bahan baku obat yang dengan teknologi fitofarmasi diubah menjadi produk jadi. Ekstrak sebagai bahan antara berarti masih dapat diolah lagi menjadi fraksi, isolat tunggal, ataupun campuran dengan ekstrak lain, dan sebagai produk jadi yaitu ekstrak yang berada dalam suatu sediaan obat dan siap digunakan oleh pasien (Departemen Kesehatan RI, 2000).

2.2.1 Metode Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu cara penarikan satu atau lebih zat berkhasiat dari bahan asal dengan cairan penarik atau pelarut. Simplisia yang digunakan umumnya sudah dikeringkan, tetapi kadang simplisia segar juga dipergunakan. Simplisia dihaluskan terlebih dahulu untuk mempercepat proses difusi zat berkhasiatnya (Syamsuni, 2005).

Maserasi adalah proses pengestrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengadukan pada temperatur ruangan. Keuntungan dari metode ini adalah pengerjaan dan alat yang digunakan sederhana, mudah digunakan, dapat digunakan untuk zat yang rusak dengan adanya pemanasan. Kerugian dari metode ini membutuhkan banyak pelarut dan waktu ekstraksi cukup lama.

Remaserasi adalah metode ekstraksi yang dilakukan secara berulang, umumnya setiap hari cairan penyari diganti baru (Departemen Kesehatan RI, 2000). Metode ini dilakukan dengan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya. Cara ini dapat menarik zat-zat berkhasiat yang tahan pemanasan maupun yang tidak tahan pemanasan (Departemen Kesehatan RI, 2000).

2.2.2 Fraksinasi

Fraksinasi adalah teknik pemisahan dan pengelompokan kandungan kimia ekstrak berdasarkan kepolaran. Pada proses fraksinasi digunakan dua pelarut yang tidak tercampur dan memiliki tingkat kepolaran yang berbeda. Senyawa-senyawa yang terdapat dalam ekstrak akan terpisah menurut kepolarannya (Akhsanita, 2012).

Pelarut pertama yang sering digunakan adalah air sedangkan sebagai pelarut kedua adalah pelarut organik atau pelarut yang tidak bercampur dengan air. Dengan demikian senyawa organik polar sebagian besar akan terdapat dalam fase air, sedangkan senyawa organik nonpolar terdapat dalam fasa organik. Peristiwa ini disebut dengan “*like dissolves like*” yang berarti bahwa senyawa yang bersifat polar akan larut dalam pelarut polar, dan senyawa yang bersifat nonpolar akan larut dalam senyawa nonpolar (Sudjadi, 1986).

Corong pemisah atau corong pisah merupakan peralatan laboratorium yang digunakan dalam ekstraksi cair-cair untuk memisahkan komponen-komponen dalam suatu campuran antara dua fase pelarut dengan densitas berbeda yang tidak saling tercampur. Metode partisi pelarut biasanya menggunakan dua pelarut yang tidak saling bercampur dalam corong pisah. Metode ini juga disebut penyarian cair-cair, yaitu proses pemisahan dimana suatu zat terbagi dalam dua pelarut yang tidak saling bercampur (Sarker dkk., 2005).

2.3 Tinjauan Tentang Cairan Penyari

2.3.1 Etanol

Etanol banyak digunakan sebagai pelarut bahan-bahan kimia yang ditunjukkan untuk konsumsi dan kegunaan manusia. Etanol adalah cairan tak berwarna yang mudah menguap dengan aroma yang khas. Etanol terbakar tanpa asap dengan lidah api berwarna biru yang kadang-kadang tidak dapat terlihat pada cahaya biasa. Rumus molekul etanol C_2H_5OH atau rumus empiris C_2H_6O . Keuntungan penggunaan etanol dalam ekstraksi yaitu tidak menyebabkan

pembengkakan membran sel dan memperbaiki stabilitas bahan obat terlarut, selain itu sifatnya yang mampu mengendapkan albumin dan menghambat kerja enzim. Untuk meningkatkan penyarian biasanya digunakan campuran antara etanol dan air. Etanol dapat melarutkan alkaloida basa, kurkumin, kumarin, antrakuinon, flavonoid dan klorofil (Departemen Kesehatan RI, 1986).

2.3.2 *n*-Heksan

n-Heksan adalah salah satu pelarut yang bersifat nonpolar. *n*-Heksan bersifat sangat mudah terbakar. Sifat dari pelarut ini mudah menguap, pelarut *n*-Heksan biasa digunakan untuk melarutkan suatu senyawa yang bersifat kurang polar pada selubung sel dan dinding sel (Harborne, 1987).

2.3.3 Etil Asetat

Etil asetat adalah senyawa organik dengan rumus empiris $C_2H_5O(CO)CH_3$. Senyawa ini merupakan ester dari etanol dan asam asetat. Senyawa ini berwujud cairan tak berwarna, memiliki aroma khas. Etil asetat merupakan pelarut semipolar yang volatil (mudah menguap), tidak beracun dan tidak higroskopis. Etil asetat merupakan pelarut semipolar.

2.4 Tinjauan Tentang Kromatografi

Kromatografi adalah suatu metode pemisahan fisik, dalam hal ini komponen-komponen yang dipisahkan didistribusikan di antara dua fasa, salah satu fasa tersebut adalah suatu fase diam dengan permukaan yang luas, yang lainnya sebagai fase gerak yang mengalir lembut di sepanjang fase diam. Fasa diam bisa berupa padatan, sedangkan fasa bergerak bisa berupa cairan maupun gas (Day dan Underwood, 1986).

2.4.1 Tinjauan Tentang Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan salah satu metode kromatografi yang paling sering digunakan di laboratorium farmasi. KLT merupakan metode pemisahan fisikokimia. Komponen yang terkandung dalam KLT terdiri dari fase diam (lapisan yang memisahkan), campuran yang akan dipisahkan berupa larutan, fase gerak yang berupa larutan pengembang, serta bejana pengembang. Pemisahan komponen campuran pada KLT terjadi selama perambatan kapiler.

KLT digunakan untuk analisis *solute-solute organic* terutama dalam bidang biokimia, farmasi, klinis, forensik, baik untuk analisis kualitatif dengan cara membandingkan nilai R_f solut dengan nilai R_f senyawa baku atau untuk analisis kualitatif (Gandjar dan Rohman, 2008).

Jarak rambat senyawa pada kromatogram dinyatakan dengan nilai R_f . *Retardation factor* (R_f) diperoleh dengan mengukur jarak rambat senyawa dari titik awal hingga pusat bercak dibagi dengan jarak rambat fase gerak hingga garis depan.

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh senyawa terlarut}}{\text{Jarak yang ditempuh pelarut}}$$

(Hanani, 2015)

Kromatografi ini mempunyai keunggulan dari segi kecepatan dibanding kromatografi kertas. Proses kromatografi lapis tipis membutuhkan waktu hanya setengah jam saja, sedangkan kromatografi kertas membutuhkan waktu beberapa jam (Day dan Underwood, 1986).

2.5 Tinjauan Tentang Bakteri

Berdasarkan perbedaan di dalam menyerap zat warna gram bakteri dibagi menjadi dua golongan yaitu bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. Bakteri gram positif menyerap zat warna pertama yaitu kristal violet yang menyebabkan berwarna ungu, sedangkan bakteri gram negatif menyerap zat warna kedua yaitu safranin dan menyebabkan berwarna merah muda (Dwidjoseputro, 1998).

Bakteri gram positif memiliki kandungan peptidoglikan yang tinggi (dapat mencapai 50%) dibandingkan bakteri gram negatif (sekitar 10%). Sebaliknya kandungan lipida dinding sel bakteri gram positif rendah sedangkan sel bakteri gram negatif tinggi yaitu sekitar 11-22% (Hastowo dan Lay, 1992).

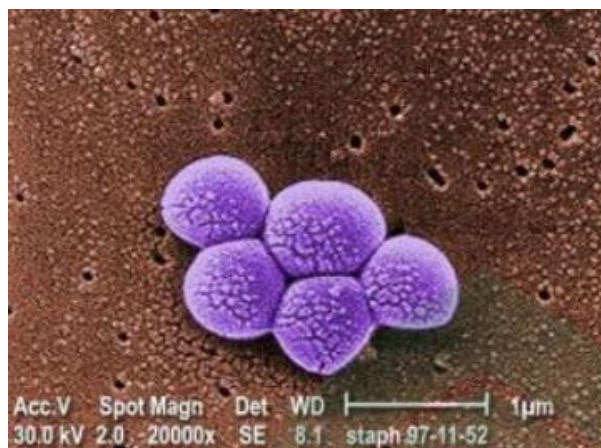
2.5.1 Klasifikasi Tentang Bakteri Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)

Menurut Berget dalam (Cappucino dan Sherman, 2013) klasifikasi Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) sebagai berikut :

Domain	: Bacteria
Kingdom	: Eubacteria
Divisi	: Firmicutes
Class	: Cocci
Ordo	: <i>Bacillales</i>
Family	: <i>Staphylococcaceae</i>
Genus	: <i>Staphylococcus</i>
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i>

2.5.2 Morfologi Bakteri Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)

Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) merupakan galur dari *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap berbagai macam antibiotik. Bakteri MRSA tidak hanya resisten terhadap antibiotik golongan betalaktam tetapi juga resisten terhadap antibiotik golongan nonbetalaktam seperti makrolida (eritromisin), inhibitor sintesa protein (tetrasiklin, kloramfenikol) dan kuinolon (Putri dkk, 2015). Karakteristik dari struktur cincin antibiotik betalaktam adalah mengikat PBP (*Penicillin Binding Protein*) yang terkait dalam sintesis peptidoglikan dan mencegah sintesis dinding sel. Resistensi terhadap betalaktam merupakan hasil dari degradasi enzimatis dan cincin betalaktam oleh betalaktamase atau rendahnya afinitas (Qolbaini, 2014). Gambar bentuk mikroskopis Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) dapat disajikan pada gambar 2.



Gambar 2. Bakteri Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (Ibrahim, 2016)

Morfologi dan fisiologi MRSA secara mikroskopis adalah organisme gram positif yang berbentuk kokus. Bakteri tersebut tidak memiliki spora dan tidak motil (Greenword, 2012). Organisme ini dapat berbentuk kokus tunggal,

berpasangan, atau dalam rantai pendek dengan kecenderungan untuk membentuk kelompok. Bakteri gram positif memproduksi dinding sel luar tebal yang terdiri dari peptidoglikan yang berguna untuk memproteksi bakteri dari sistem pertahanan hospes, yaitu sistem komplemen ataupun kerusakan yang disebabkan tekanan osmotik (Qolbaini, 2014). Bakteri *Staphylococcus aureus* menghasilkan protein A, protein ini memiliki afinitas khusus pada bagian IgG. Peptidoglikan adalah unsur utama dari dinding sel *Staphylococcus aureus*, peptidoglikan memberi bentuk dan stabilitas pada mikroorganisme. *Staphylococcus aureus* menghasilkan jumlah racun dan enzim yang berfungsi sebagai faktor patogenesisnya. Enzim tersebut yaitu katalase, koagulase, faktor penggumpalan, hyaluronidase, betalaktam, dan lainnya (Haddadin dan Fappiano, 2012).

MRSA telah resisten terhadap methicillin dan antibiotik β -lactam lainnya (misalnya, penisilin dan sefalosporin). Metisilin adalah antibiotika golongan β -laktam dengan spektrum sempit. Metisilin ini mulai diperkenalkan tahun 1959 untuk menanggulangi *Staphylococcus aureus* yang merupakan bakteri gram positif penghasil betalaktamase. Antibiotika metisilin bekerja dengan cara menghambat pembentukan akhir peptidoglikan dinding sel bakteri yang difasilitasi transpeptidase yang dikenal sebagai *Penicillin Binding Protein* (PBP). Antibiotika metisilin akan berikatan dengan PBP2 sehingga menghambat terbentuknya peptidoglikan dan akhirnya lisis. MRSA terjadi karena adanya perubahan PBP2 menjadi PBP2a yang dikode oleh gen *mecA* yang menyebabkan afinitas antibiotika metisilin ini rendah sehingga pembentukan tahap akhir peptidoglikan tidak terganggu dan bakteri menjadi resisten (Brooks, 2005).

2.5.3 Epidemiologi

Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) adalah bakteri *Staphylococcus aureus* yang mengalami kekebalan terhadap antibiotik jenis metisilin. MRSA mengalami resistensi karena perubahan genetik yang disebabkan oleh paparan terapi antibiotik yang tidak rasional. Transmisi bakteri berpindah dari satu pasien lainnya melalui alat medis yang tidak diperhatikan sterilitasnya. Transmisinya dapat pula melalui udara maupun fasilitas ruangan, misalnya selimut atau kain tempat tidur (Nurkusuma, 2009).

Faktor-faktor resiko terjadinya MRSA antara lain lingkungan, populasi, kontak olahraga, kebersihan individu, riwayat perawatan, riwayat operasi, riwayat infeksi dan penyakit, riwayat pengobatan, serta kondisi medis (Biantoro, 2008).

2.6 Tinjauan Tentang Antibakteri

2.6.1 Antibakteri

Antibakteri adalah senyawa yang digunakan untuk mengendalikan pertumbuhan bakteri. Pengendalian pertumbuhan bakteri bertujuan untuk mencegah penyebaran penyakit dan infeksi, membasmi mikroorganisme pada inang yang terinfeksi (Sulistyo, 1971). Obat antibakteri sering disebut sebagai bakteristatik atau bakterisidal. Bakteristatik adalah antibakteri yang hanya menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Sedangkan bakterisidal yaitu antibakteri yang membunuh atau menyebabkan kematian pada mikroorganisme (Ganiswara, 1995).

2.6.2 Mekanisme Kerja Antibakteri

Berdasarkan sifat toksisitas selektif ada dua macam sifat antibakteri yaitu :

1. Bakteriostatik

Ini berarti bahwa bahan antimikrobia memiliki kemampuan untuk menghambat perkembangbiakan bakteri. Jika bahan antimikrobia dihilangkan, perkembangbiakan bakteri berjalan kembali seperti semula. Contohnya adalah tetrasiklin, sulfonamide, dan kloramfenikol (Hastowo dan Lay, 1992).

2. Bakterisidal

Daya bakterisidal berbeda dengan bakteriostatik karena bahan antimikrobia kelompok ini memiliki kemampuan untuk membunuh bakteri. Contohnya adalah penicillin, streptomycin, polymyxin (Hastowo dan Lay, 1992).

Mekanisme kerja zat antibakteri dalam melakukan efeknya terhadap mikroorganisme adalah sebagai berikut :

1. Merusak Dinding Sel

Pada umumnya bakteri memiliki suatu lapisan luar yang kaku disebut dinding sel (peptidoglikan). Sintesis dinding sel ini melibatkan sejumlah langkah enzimatik yang banyak diantaranya dihalangi oleh antimikroba. Rusaknya dinding sel bakteri misalnya karena pemberian enzim lisosim atau hambatan pembentukannya oleh karena obat antimikroba, dapat menyebabkan sel bakteri lisis. Kerusakan dinding sel akan berakibat terjadinya perubahan-perubahan yang mengarah pada kematian sel karena dinding sel berfungsi sebagai pengatur pertukaran zat-zat dari luar ke dalam sel, serta memberi bentuk sel.

2. Mengubah Permeabilitas Membran Sel

Sitoplasma semua sel hidup dibatasi oleh selaput yang disebut membran sel yang mempunyai permeabilitas selektif, membran ini tersusun atas fosfolipid dan protein. Membran sel berfungsi untuk mengatur ke luar masuknya zat antar sel dengan lingkungan luar, melakukan pengangkutan zat-zat yang diperlukan dan mengendalikan susunan dalam diri sel. Proses pengangkutan zat-zat yang diperlukan baik ke dalam maupun ke luar sel dimungkinkan karena di dalam membran sel terdapat enzim protein untuk mensintesis peptidoglikan komponen membran luar. Dengan rusaknya dinding sel, bakteri secara otomatis akan berpengaruh pada membran sitoplasma, beberapa bahan antimikroba seperti fenol, kresol, dan beberapa antibiotik dapat menyebabkan kerusakan pada membran sel, bahan-bahan ini akan menyerang dan merusak membran sel sehingga fungsi semi permeabilitas membran mengalami kerusakan. Kerusakan pada membran sel ini akan mengakibatkan terhambatnya sel atau matinya sel.

3. Merusak Sitoplasma

Sitoplasma atau cairan sel terdiri dari 80% air, asam nukleat, protein, karbohidrat, lipid, ion anorganik dan berbagai senyawa dengan bobot molekul rendah. Kehidupan suatu sel tergantung pada terpeliharanya molekul-molekul protein dan asam nukleat dalam keadaan alamiahnya. Konsentrasi tinggi beberapa zat kimia dapat mengakibatkan koagulasi dan denaturasi komponen-komponen seluler yang vital.

4. Menghambat Kerja Enzim

Dalam sel terdapat enzim dan protein yang membantu kelangsungan proses metabolisme, banyak zat kimia telah diketahui dapat mengganggu reaksi biokimia

misalnya logam berat, golongan tembaga, perak, air raksa, dan senyawa logam berat lainnya umumnya efektif sebagai bahan antimikroba pada konsentrasi relatif rendah. Logam-logam ini akan mengikat gugus enzim sulfhidril yang berakibat terhadap perubahan protein yang terbentuk. Penghambatan ini dapat mengakibatkan terganggunya metabolisme atau matinya sel.

5. Menghambat Sintesis Asam Nukleat dan Protein

DNA, RNA, dan protein memegang peranan amat penting dalam sel, beberapa bahan antimikroba dalam bentuk antibiotik misalnya siprofloksasin, tetrasiklin, prumysin menghambat sintesis protein. Sedangkan sintesis asam nukleat dapat dihambat oleh senyawa antibiotik misalnya mitosimin. Bila terjadi gangguan pada pembentukan atau pada fungsi zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel.

2.6.3 Metode Pengujian Aktivitas Antibakteri

Menurut (Pratiwi, 2008), pengujian aktivitas antibakteri antara lain sebagai berikut :

1. Metode Difusi

a. Metode *disc diffusion*

Metode ini digunakan untuk menentukan aktivitas agen antimikroba. Piringan yang berisi agen antimikroba diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media tersebut area jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba pada permukaan media agar.

b. Metode sumuran

Metode ini serupa dengan metode *difusi disk*, dimana dibuat sumur pada media agar yang telah ditanami dengan mikroorganisme dan pada sumur tersebut diberi agen antimikroba yang akan diuji (Pratiwi, 2008).

2. Metode Dilusi

a. Metode dilusi cair

Metode ini mengukur MIC (*minimum inhibitory concentration*) atau KHM (kadar hambat minimum) dan MBC (*minimun bactericidal concentration*) atau kadar bunuh minimum (KBM). Caranya dengan membuat seri pengenceran agen antimikroba pada medium cair yang ditambahkan dengan mikroba uji.

b. Metode dilusi padat

Metode ini serupa dengan metode dilusi cair namun menggunakan media padat. Keuntungan metode ini adalah satu konsentrasi agen antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji.

2.6.4 Media Pertumbuhan Bakteri

Menurut (Waluyo, 2008) media adalah suatu bahan yang terdiri atas campuran nutrisi atau zat-zat hara (*nutrient*) yang digunakan untuk menumbuhkan mikroorganisme di atas atau di dalamnya. Berdasarkan konsistensinya media dibagi menjadi 3, yaitu:

1. Media Padat

Media padat diperoleh dengan cara menambahkan agar-agar. Agar berasal dari ganggang atau alga yang berfungsi sebagai pepadat. Alga digunakan karena bahan ini tidak diuraikan oleh mikroorganisme, dan dapat membeku pada suhu di

atas 45°C. Media padat terbagi menjadi media agar miring dan agar *deep*. Contoh dari medium padat adalah agar bulyon, agar endo, agar SS, dan lain-lain.

2. Media Setengah Padat

Media setengah padat dibuat dengan bahan sama dengan media padat, akan tetapi yang berbeda adalah komposisi agarnya. Media ini digunakan untuk melihat gerak kuman secara mikroskopik dan kemampuan fermentasinya. Contoh media setengah padat adalah media agar.

3. Media Cair

Media cair adalah media yang berbentuk cair. Media ini digunakan untuk berbagai tujuan seperti pembiakan mikroba dalam jumlah besar, penelaahan fermentasi dan berbagai macam uji. Contoh media cair adalah kaldu nutrien, kaldu glukosa, air pepton, perbenihan Kauffman, medium deret gula-gula, kaldu laktosa, BGLBB (*Brilliant Green Lactosa Blue Broth*) dan sebagainya.

2.6.5 Medium *Nutrient Agar* (NA)

Media ini berisi :

<i>Lab-Lenco Powder</i>	gram/liter	1
<i>Yeast Extract</i>		2
Peptone		5
Sodium Chloride		5
Agar		15

pH 7,4 ± 0,2

Media ini merupakan media universal, karena dapat digunakan untuk menumbuhkan beberapa bakteri misalnya : *Alyxiella*, *Argobacterium*, *Arthibacter*, *Brucella*, *Eschericia*, *Flavobacterium*, *Micromonospora*, *Pseudomonas*,

Rhizobium, *Sarcina*, *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Streptomyces*, *Thermopolysora*, *Thiobacillus*, dan *Xanthomonas* (Atlas, 2004).

2.6.6 Medium Nutrient Broth (NB)

Media ini berisi :

<i>Lab-Lenco Powder</i>	gram/liter	1
<i>Yeast Extract</i>		2
Peptone		5
Sodium Chloride		5

pH 7,4 ± 0,2

Media ini sangat hemat untuk penanaman mikroorganisme, karena 500 gram NB dapat dibuat media sebanyak 38 liter. Pembuatan media ini mungkin dapat diperkaya dengan menambahkan zat seperti karbohidrat, darah, serum, dan lain lain (Atlas, 2004).

2.6.7 Media Manitol Salt Agar

Komposisi MSA:

<i>Lab-Lenci Powder</i>	gram/liter	1
Pepton		10
Manitol		10
NaCl		75
<i>Phenol Red</i>		0,025
Agar		15

pH 7,4 ± 0,2 pada suhu 25°C (Atlas, 2004).

MSA mengandung garam dengan konsentrasi tinggi (7,5% NaCl) yang dapat menghambat pertumbuhan hampir semua bakteri kecuali *Staphylococcus aureus*. MSA juga mengandung manitol dan indikator *phenol red*, dimana *Staphylococcus* dapat memfermentasi manitol menghasilkan asam yang bereaksi dengan *phenol red* sehingga merubah warna menjadi kuning, dengan alasan tersebut MSA merupakan media yang selektif terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

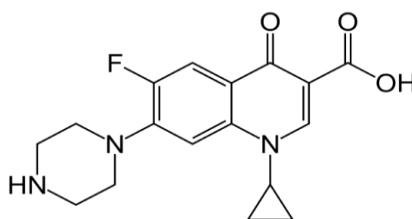
2.7 Tinjauan Tentang DMSO (*Dimethyl Sulphoxide*)

DMSO (*Dimethyl Sulphoxide*) adalah zat yang sangat polar dan memiliki sifat pelarut yang baik untuk bahan kimia organik dan anorganik. Beberapa sifat dari DMSO adalah penetrasi membran, efek antiinflamasi, analgesia lokal dan tidak bersifat bakteriostatik (Sweetman, 2009).

2.8 Tinjauan Tentang Siprofloksasin

Siprofloksasin merupakan salah satu dari lima antibiotik, analgetik /antipiretik dan antihistamin (Handayani dkk, 2009). Siprofloksasin merupakan antibiotik derivat siklopropil dari kelompok fluorokuinolon. Siprofloksasin yang beredar di pasaran antara lain tersedia dalam bentuk tablet, kapsul, dan infus (Sukandar, 2013). Siprofloksasin berupa kristal berwarna kuning pucat dengan sifat amfoter. Siprofloksasin dihasilkan dari sintesa kimia sebagai garam hidroksida dalam bentuk monohidrat. Siprofloksasin adalah antibiotik golongan fluorokuinolon generasi ke dua yang mempunyai spektrum luas, aktif terhadap

bakteri gram negatif maupun gram positif. Senyawa fluorokuinolon merupakan senyawa bakterisida kuat. Efek samping yang menyertai penggunaan fluorokuinolon ini relatif kecil, dan resistensi mikroba tidak banyak berkembang (Hardman dan Limbird, 2007). Siprofloksasin memiliki mekanisme menghentikan pertumbuhan bakteri dengan cara menghambat sintesis asam nukleat berupa penghambatan transkripsi dan replikasi mikroorganisme (Pratiwi, 2008).



Gambar 3. Struktur Siprofloksasin (Siswandono, 2016)

2.9 Tinjauan Tentang Fenolik

Fenolik merupakan suatu senyawa yang memiliki satu atau lebih gugus hidroksil yang menempel di cincin aromatik. Dapat disebutkan bahwa senyawa fenolik sendiri adalah senyawa yang sekurang-kurangnya memiliki satu gugus fenol. Senyawa fenolik ini terdiri atas molekul-molekul besar dengan beragam struktur, karakteristik utamanya adalah cincin aromatik yang memiliki hidroksil (Ningsih, 2007).

Fenol merupakan golongan asam fenolat dari senyawa fenolik yang tersubstitusi oleh gugus karboksil. Contoh dari asam fenolat adalah fenol yang tersubstitusi oleh gugus karboksil. Asam fenolat merupakan asam galat. Asam galat adalah trifenol 14 yang biasa terdapat di daun teh dalam bentuk teresterifikasi bersama dengan katekin. Selain gugus karboksil, gugus lainnya

seperti aldehid juga dapat terdistribusi di gugus fenol. Salah satu contoh senyawa dari jenis ini adalah vanilin, vanilin berasal dari kacang vanilla dan merupakan flavor paling terkenal di dunia (Andarwulan dkk, 2012).

Senyawa fenolik merupakan metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan dalam tumbuhan. Senyawa ini didapatkan dari jalur shikimat yang secara langsung menghasilkan fenilpropanoid, atau jalur malonat yang dapat menghasilkan fenol-fenol sederhana. Senyawa ini dianggap memiliki peran kunci sebagai senyawa pertahanan ketika terjadi tekanan pada lingkungan tanaman tersebut, seperti terlalu panas, suhu rendah, infeksi patogen, dan kekurangan nutrisi yang dapat menyebabkan peningkatan radikal bebas dan stres oksidatif pada tanaman (Lattanzio, 2013).

Senyawa fenol memiliki gugus hidroksi yang tersubstitusi pada cincin benzen pada posisi orto dan para terhadap gugus -OH dan -OR (Prasetyo dkk., 2016). Terdapat beberapa senyawa fenol dalam tanaman, seperti asam fenol, flavonoid, tanin, serta stilbenes dan ligan yang kurang umum. Menurut bilangan oksidasi cincin C pusat, flavonoid dibagi menjadi enam kelompok, yaitu flavon, flavonol, flavanon, isoflavon, dan antosianin. Asam fenol dapat dibagi menjadi dua, yaitu derivat asam benzoat seperti asam galat, dan derivat asam sinamat, seperti kumarat, kafeat, dan asam ferulat. Tanin merupakan kelompok utama polifenol terbagi menjadi dua golongan, yaitu tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi (Khoddami dkk., 2013).

Analisis senyawa fenolik dapat dilakukan dengan beberapa metode. Metode yang paling umum dan mudah adalah spektrofotometri yang banyak digunakan.

Metode Folin-Denis dan Folin Ciocalteu adalah dua uji spektrofotometri yang banyak digunakan. Metode ini didasarkan pada reduksi kimia yang menggunakan reagen tungsten dan *molybdenum*. Produk reduksi ditandai dengan warna biru pada panjang gelombang 760 nm (Khoddami dkk., 2013).

Analisis kualitatif senyawa fenolik juga dapat dilakukan dengan kromatografi lapis tipis. Metode ini dapat memisahkan komponen senyawa dalam ekstrak tumbuhan, termasuk golongan fenol (Khoddami dkk, 2013). Penentuan kadar senyawa fenolik dapat dilakukan dengan menggabungkan kromatografi lapis tipis dan spektrofotodensitometer. Metode ini sering disebut *High Performance Thin Layer Chromatography* (HPTLC) atau Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Densitometri (Stanek dan Jasicka-Misiak, 2018).

2.10 Tinjauan Tentang Asam Galat

Asam galat (3,4,5 asam trihidroksibenzoin) merupakan padatan kristal yang sedikit tidak berwarna atau agak kuning. Senyawa ini memiliki bobot molekul 170,11954 g/mol dengan rumus molekul $C_7H_6O_5$. Asam galat dapat meleleh pada suhu 210°C, dan terdekomposisi pada suhu 235-240°C menghasilkan karbon monoksida dan karbondioksida. Senyawa dengan nilai pKa 4,40 dan logP 0,7 (20°C) ini larut dalam air, alkohol, eter, gliserol. Namun, senyawa ini praktis tidak larut dalam benzena, kloroform, dan petroleum eter (Fernandes dan Salgado, 2016).

Asam galat adalah senyawa fenol antioksidan alami yang diekstrak dari tanaman, khususnya teh hijau (Iwansyah dkk., 2013). Asam galat merupakan

senyawa trifenol dengan berat molekul rendah yang banyak ditemukan secara alami pada tumbuhan dalam bentuk bebas atau bagian dari tanin. Senyawa ini termasuk dalam salah satu asam fenolik yang paling menonjol dan dapat mewakili metabolik sekunder golongan polifenol pada tanaman (AL Zahrani dkk., 2020).

Asam galat memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dan lebih baik dibandingkan asam askorbat, trolox, dan asam urat. Senyawa ini memberikan perlindungan yang efisien terhadap kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh spesies reaktif yang sering ditemukan dalam sistem biologis, seperti hidroksil (OH^*), superoksida (O_2^*), peroksi (ROO^*), non-radikal hidrogen peroksida (H_2O_2) dan asam hipoklorit (HOCl). Selain itu, senyawa ini telah dibuktikan sebagai komponen antioksidan utama yang bertanggung jawab terhadap sifat antiradikal dan antikanker yang efisien dari sejumlah ekstrak tumbuhan (Badhani dkk., 2015).

Asam galat dapat dianalisis dengan beberapa metode, yaitu spektroskopi, kromatografi, elektroforesis kapiler, analisis termal, dan analisis *chemiluminescence*. Metode kromatografi paling banyak digunakan untuk identifikasi dan kuantifikasi asam galat pada berbagai matrik. Metode tersebut diantaranya kromatografi lapis tipis, kromatografi gas, dan kromatografi cair kinerja tinggi. Kromatografi lapis tipis (KLT) banyak digunakan karena metodenya cepat, dan ekonomis untuk menganalisis senyawa sidik jari dari komposisi kimiawi ekstrak tumbuhan. Identifikasi asam galat dan golongan fenolik lainnya menggunakan kromatografi lapis tipis dengan fase diam plat silika

dan fase gerak kloroform: etil asetat: asam asetat (50: 50: 1) dapat memberikan pemisahan yang terbaik (Fernandes dan Salgado, 2016).

2.11 Tinjauan Tentang Densitometri

Densitometri merupakan metode analisis instrumental berdasarkan interaksi radiasi elektromagnetik dengan analit berupa bercak pada KLT. KLT-Densitometri dapat digunakan untuk uji kualitatif dan kuantitatif. Uji kualitatif pada KLT-Densitometri dilakukan dengan cara membandingkan nilai R_f analit dengan baku standar. Uji kuantitatif KLT-Densitometri dilakukan dengan cara membandingkan luas area noda analit dengan luas area baku standar.

Penetapan kadar suatu senyawa dengan menggunakan densitometri merupakan metode penetapan kadar dengan menggunakan lempeng kromatografi menggunakan instrumen *TLC-scanner*. Pengukuran dengan densitometri dengan cara mengukur serapan analit (cahaya yang diukur dapat berupa cahaya yang dipantulkan atau yang diteruskan) (Gandjar dan Rohman, 2008). Penetapan kadar dengan menggunakan kombinasi KLT dan Densitometri (KLT-Densitometri) cukup murah karena menggunakan fase gerak yang sedikit, waktu yang singkat, dan dapat dilakukan penetapan kadar beberapa sampel secara simultan (Yuangsoi dkk, 2008). Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Densitometri menggunakan suatu fase gerak untuk memisahkan sampel berdasarkan pada komponen-komponen senyawa. Teknik kromatografi ini menggunakan suatu absorben yang disalutkan pada suatu lempeng (fase diam) dan fase gerak.



Gambar 4. Instrumen Densitometri (Camag, 2012)

2.12 Hipotesis

1. Terdapat kadar senyawa fenolik fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air kulit buah rambutan binjai (*Nephelium lappaceum* L.) yang diukur dengan KLT-Densitometer.
2. Terdapat fraksi kulit buah rambutan binjai (*Nephelium lappaceum* L.) yang memiliki kadar fenolik tertinggi yang diukur dengan KLT-Densitometer
3. Terdapat perbedaan aktivitas antibakteri konsentrasi 1%, 3% dan 5% fraksi kulit buah rambutan binjai (*Nephelium lappaceum* L.) yang mengandung kadar senyawa fenolik tertinggi yang dapat menghambat bakteri Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Obyek Penelitian

Obyek penelitian yang diteliti dalam penelitian ini yaitu kadar senyawa fenolik pada fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air kulit buah rambutan binjai (*Nephelium lappaceum* L.). Kadar senyawa fenolik diukur dengan KLT-Densitometer serta aktivitas antibakteri fraksi kulit buah rambutan binjai (*Nephelium lappaceum* L.) dengan kadar fenol tertinggi terhadap pertumbuhan Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA).

3.2 Sampel dan Teknik Sampling

3.2.1 Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah kulit buah rambutan binjai (*Nephelium lappaceum* L.) yang didapatkan dari Desa Tunjungan Kabupaten Blora. Sampel kulit buah rambutan binjai diekstraksi dengan etanol 70% dan difraksinasi dengan pelarut *n*-heksan, etil asetat, dan air.

3.2.2 Teknik Sampling

Teknik sampling yang digunakan pada penelitian ini adalah *random sampling*, dengan menganggap setiap elemen dalam populasi memiliki peluang yang sama untuk dipilih menjadi sampel.

3.3 Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas adalah variabel yang menyebabkan atau yang mempengaruhi faktor-faktor yang diukur, dipilih oleh peneliti untuk menentukan hubungan antara fenomena yang diobservasi atau diamati. Variabel bebas yang digunakan dalam penelitian ini adalah konsentrasi penetapan kadar fenolik dalam fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air kulit buah rambutan binjai (*Nephelium lappaceum* L.) serta konsentrasi fraksi kulit buah rambutan binjai terhadap pertumbuhan bakteri Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA).

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah fenol yang terdapat pada fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air kulit buah rambutan binjai (*Nephelium lappaceum* L.) dan aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) yang ditunjukkan dengan adanya zona bening

3.3.3 Variabel Terkontrol

Variabel kontrol adalah variabel yang dikendalikan atau dibuat konstan sehingga hubungan variabel bebas terhadap variabel terikat tidak terpengaruh oleh faktor luar yang tidak diteliti. Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah pemilihan sampel kulit buah rambutan binjai dipilih yang berwarna merah dan tidak busuk. Pengeringan sampel, ekstraksi, proses fraksinasi dengan menggunakan corong pisah. Media yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) adalah MSA (*Manitol Salt*

Agar) tiap cawan petri 20 mL. media yang digunakan untuk peremajaan bakteri adalah *Nutrient Agar* (NA) sebanyak 10 mL tiap tabung. Media yang digunakan untuk pembuatan suspensi bakteri adalah NB (*Nutrient Broth*). Volume suspensi bakteri yang digunakan 5,0 µL. Volume sediaan uji fraksi *n*-heksan, etil asetat, air kulit buah rambutan, kontrol (+) dan kontrol (-) yang digunakan adalah 50 µL. Suhu inkubasi yang digunakan adalah 37°C, dengan waktu inkubasi 1 x 24 jam. Pengukuran kadar fenolik pada fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air kulit buah rambutan binjai (*Nephelium lappaceum* L.) menggunakan KLT-Densitometer. Pengujian aktivitas antibakteri fraksi kulit buah rambutan binjai (*Nephelium lappaceum* L.) menggunakan metode sumuran.

3.4 Teknik Pengumpulan Data

Metode pengumpulan data yang digunakan adalah dengan metode eksperimen sebenarnya (*true eksperiment*).

1. Skrining fitokimia hasil ekstraksi dan fraksinasi dari kulit buah rambutan binjai kemudian dilanjutkan dengan uji kromatografi lapis tipis untuk masing-masing senyawa yang terkandung dalam sampel.
2. Uji kadar fenolik dari fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air kulit buah rambutan binjai
3. Uji aktivitas antibakteri fraksi kulit buah rambutan binjai menggunakan metode sumuran dengan replikasi sebanyak lima kali dan pengukuran zona bening yang terbentuk menggunakan jangka sorong.

3.5 Alat dan Bahan

3.5.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya yaitu timbangan analitik, loyang, blender, sendok, sudip, batang pengaduk, alat-alat gelas, cawan porselen, penangas air, kain kola, plastik hitam, corong kaca, tabung reaksi, penjepit tabung, kertas saring, pipet tetes, chamber, plast tetes, pipa kapiler, pinset, lampu UV, alat penyemprot bercak, vial, sumuran, ose bulat, otoklaf, inkubator, bunsen, enkas, mikropipet, pipet ukur, pipet volume, dan KLT-Densitometer.

3.5.2 Bahan

1. Bahan untuk ekstraksi dengan metode remaserasi adalah kulit buah rambutan binjai yang telah dikeringkan dan pelarutnya menggunakan etanol 70%.
2. Bahan untuk uji pendahuluan ekstrak, fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air kulit buah rambutan binjai :
 - a. Uji fenolik : FeCl_3 1%
 - b. Uji alkaloid : Pereaksi dragendorff, mayer, bouchardat, HCl 2N
 - c. Uji flavonoid : Serbuk Mg, HCl, amyl alkohol
 - d. Uji saponin : HCL 1%
 - e. Uji tanin : NaCl 10%, gelatin 0,5%
 - f. Uji steroid/triterpenoid : *n*-heksan, asam asetat anhidrat, dan asam sulfat P
3. Bahan untuk identifikasi senyawa aktif silika gel GF 254, etil asetat, metanol, *n*-butanol, asam asetat, kloroform, *n*-heksan, dragendorff, vanilin-asam sulfat, amonia p, FeCl_3 5%.

4. Bahan uji antibakteri yang digunakan : Biakan murni bakteri Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). Media MSA dan NB, larutan Mc Farland, Siprofloksasin sebagai kontrol positif, DMSO sebagai kontrol negatif.
5. Bahan untuk uji kadar fenolik adalah metanol p.a, baku asam galat dan eluen terbaik.

3.6 Cara Kerja

3.6.1 Determinasi

Determinasi memiliki tujuan untuk mengetahui kebenaran indentitas tanaman yang digunakan apakah benar tanaman tersebut adalah tanaman yang diinginkan, dengan begitu kesalahan dalam pengumpulan bahan yang akan diteliti dapat dihindari. Tanaman rambutan binjai yang digunakan dalam penelitian ini dideterminasi di Laboratorium Biologi Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Yayasan Pharmasi Semarang.

3.6.2 Pembuatan Ekstrak Kulit Buah Rambutan Binjai

Pembuatan simplisia kulit buah rambutan binjai dimulai dengan sortasi basah. Kulit buah rambutan dicuci dengan air mengalir hingga bersih, ditiriskan dan dikeringkan. Sortasi dilakukan kembali pada kulit buah rambutan binjai yang sudah kering, kemudian diserbukkan dan diperkecil ukuran partikelnya. Penyarian senyawa kimia dalam serbuk kulit rambutan binjai dilakukan dengan metode remaserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Pembuatan ekstrak pertama kali dimulai dengan menimbang serbuk kulit buah rambutan binjai lalu dimasukkan ke dalam wadah kaca yang berukuran besar. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi

diukur dengan perbandingan simplisia : pelarut (1:10) dan dimasukkan ke dalam wadah yang berisi serbuk kulit rambutan, lalu diaduk. Remaserasi dilakukan selama 4 x 24 jam. Rendaman serbuk kulit buah rambutan binjai didiamkan selama 2 x 24 jam sambil sesekali diaduk. Setelah 2 hari, rendaman disaring dengan kain kola dan diambil filtratnya. Ampas kulit rambutan direndam kembali dengan pelarut baru selama 1 x 24 jam lalu disaring. Perendaman dilakukan kembali sampai didapatkan filtrat dari 3 kali hasil remaserasi (Kusumaningrum, 2012). Maserat yang diperoleh diuapkan dengan *rotary evaporator* atau penangas air hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental kulit buah rambutan binjai yang didapat lalu ditimbang untuk menghitung rendemen.

3.6.3 Fraksinasi Ekstrak

Ekstrak kulit buah rambutan binjai (*Nephelim lappaceum* L.) ditimbang sebanyak 10 gram dimasukkan ke dalam erlenmeyer, ditambah dengan 100 mL aquadest, diaduk sampai seluruh ekstrak kental larut. Kemudian dimasukkan dalam corong pisah, ditambahkan dengan 100 mL *n*-heksan, dilakukan penggojogan kemudian didiamkan sampai terbentuk 2 fase, ditampung fase *n*-heksan. Penambahan 100 mL *n*-heksan dilakukan sebanyak tiga kali hingga fraksi *n*-heksan berwarna jernih. Kemudian fase air yang tidak larut *n*-heksan, ditambahkan dengan etil asetat 100 mL, dilakukan hal yang sama penambahan 100 mL etil asetat sebanyak tiga kali hingga fraksi etil asetat berwarna jernih (Daud dkk, 2011).

Kemudian dari ketiga fase *n*-heksan, etil asetat, dan air masing-masing dikumpulkan jadi satu, fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air kulit buah rambutan

binjai diuapkan dengan *waterbath* hingga didapatkan fraksi kental dan dihitung rendemennya.

3.6.4 Uji Bebas Etanol

Pengujian bebas etanol dilakukan dengan cara dimasukkan ekstrak kulit buah rambutan binjai ke dalam tabung reaksi, tambahkan asam sulfat dan asam asetat glasial kemudian dipanaskan hasil positif bebas etanol ditandai dengan tidak tercium bau ester (Kurniawati, 2015). Pengujian bebas etanol juga dapat dilakukan dengan cara ekstrak kulit buah rambutan binjai dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan 5 tetes asam sulfat pekat dan 2 mL larutan kalium dikromat 2%, jika ekstrak tersebut masih terdapat etanol ditandai dengan adanya perubahan warna mula dari jingga menjadi hijau kebiruan (Ramadhani dkk., 2020).

3.6.5 Skrining Fitokimia

1. Uji Fenolik

a. FeCl_3 1%

Sejumlah ekstrak, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air kulit buah rambutan binjai dilarutkan dengan metanol. Ditambahkan beberapa tetes larutan pereaksi FeCl_3 1%. Hasil positif jika terdapat senyawa fenolik akan membentuk warna hijau, ungu, biru atau hitam (Agustina W, Nurhamidah, 2017).

b. Folin Ciocalteu

Sampel yang telah dilarutkan dengan metanol ditambah beberapa tetes Folin Ciocalteu, kemudian didiamkan selama 10 menit. Selanjutnya, ditambahkan beberapa tetes Na_2CO_3 1M pada larutan tersebut. Adanya senyawa fenolik ditandai dengan terbentuknya larutan berwarna biru (Rollando dan Monica, 2018)

2. Uji Tanin

Sejumlah ekstrak, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air kulit buah rambutan binjai masing-masing ditambahkan 20 mL air panas dan ditambahkan 1 mL NaCl 10% disaring dan filtratnya ditampung dalam dua tabung. Tabung pertama ditetesi 3 tetes gelatin 0,5%. Tabung kedua ditetesi dengan FeCl₃ 10%. Hasil positif terdapat adanya tanin bila pada tabung pertama terdapat endapan putih dan tabung kedua terjadi perubahan warna menjadi biru tua atau hijau (Robinson, 1991).

3. Uji Flavonoid

Sejumlah ekstrak, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air kulit buah rambutan binjai ditambahkan dengan aquadest panas. Campuran dididihkan selama kurang lebih 5 menit, kemudian disaring. Sebanyak 5 mL filtrat yang diperoleh, ditambahkan secukupnya serbuk Mg, dan 1 mL HCl pekat dan amyl alkohol, dikocok dan dibiarkan memisah. Sampel positif mengandung flavonoid jika terdapat warna merah, kuning, jingga pada lapisan amyl alkohol (Marjoni, 2016).

4. Uji Alkaloid

Sejumlah ekstrak, fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air kulit buah rambutan binjai ditambahkan 1 mL HCl 2N dan 9 mL aquadest panas. Larutan dipanaskan selama 2 menit, dan disaring.

- a. Diambil 3 tetes filtrat, lalu ditambahkan 2 tetes pereaksi Mayer menghasilkan endapan putih/kuning.
- b. Diambil 3 tetes filtrat, lalu ditambahkan 2 tetes pereaksi Bouchardat menghasilkan endapan coklat hitam

- c. Diambil 3 tetes filtrat, ditambahkan 2 tetes pereaksi Dragendroff menghasilkan endapan merah bata.

Apabila terdapat endapan paling sedikit 2 dari pengujian dengan golongan yang berbeda, maka simplisia atau sampel yang diuji dinyatakan positif mengandung alkaloid (Marjoni, 2016).

5. Uji Steroid dan Triterpenoid

Sejumlah ekstrak, fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air kulit buah rambutan binjai dimaserasi dengan 20 mL *n*-heksan, didiamkan selama $\pm$ 2 jam. Larutan disaring, lalu diukur 5 mL, filtrat dan diuapkan dalam cawan hingga diperoleh residu. Residu ditambah dengan 2 tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes asam sulfat pekat, diaduk, hasil positif jika sampel terbentuk warna ungu atau merah kemudian berubah menjadi hijau biru (Marjoni, 2016).

6. Uji Saponin

Sejumlah ekstrak, fraksi *n*-heksan, etil asetat, air kulit buah rambutan binjai dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 10 mL aquadest panas, didinginkan kemudian kocok hingga muncul buih. Larutan didiamkan selama 2 menit, kemudian ditetaskan HCl 1%. Bila terdapat senyawa saponin maka akan terbentuk buih stabil selama 10 menit. (Wijaya dkk, 2012: 12).

3.6.6 Identifikasi Senyawa Kimia dengan KLT

1. Identifikasi Fenolik secara KLT

Uji Fenolik dipertegas dengan cara ekstrak, fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air kulit buah rambutan binjai ditotolkan pada plat KLT dan dielusi dengan eluen

n-butanol: asam asetat: air (4:1:5), noda yang terbentuk ditandai secara visual, lampu UV dan dengan penampak bercak FeCl_3 (Ahmad dkk., 2015).

2. Identifikasi Tanin secara KLT

Uji tanin dipertegas dengan cara ekstrak, fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air kulit buah rambutan binjai masing-masing ditotolkan pada lempeng silika gel GF 254. Kemudian dielusi menggunakan eluen etil asetat : metanol : air (100 : 13,5 : 10). Setelah lempeng kering kemudian dideteksi dengan sinar UV 254 nm serta disemprot dengan larutan FeCl_3 1%. Positif mengandung tanin jika noda berwarna biru kehitaman, hijau, hijau kehitaman atau biru kehijauan (Hanani, 2015).

3. Identifikasi Flavonoid secara KLT

Bejana dijenuhkan dengan eluen *n*-butanol : asam asetat : air (4:1:5) dengan bantuan kertas penjenuh. Ekstrak, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan air kulit buah rambutan ditotolkan pada lempeng silika gel GF 254 nm. Plat KLT dimasukkan ke dalam bejana yang berisi eluen yang telah jenuh dan dielusi sampai tanda batas elusi. Plat KLT yang telah terelusi diambil kemudian diangin-anginkan dan bercak yang timbul dilihat dengan sinar tampak. Plat KLT diuapkan dengan amonia pekat dan diamati noda yang terbentuk berwarna kuning muda hingga jingga. Noda yang terbentuk diukur dan dihitung harga R_f nya (Harborne, 1987).

4. Identifikasi Alkaloid secara KLT

Bejana dijenuhkan dengan eluen metanol : NH_4OH (200 : 3) dengan bantuan kertas penjenuh. Ekstrak, fraksi *n*-heksan, etil asetat, air kulit buah rambutan binjai ditotolkan pada lempeng silika gel GF 254 nm. Plat KLT

dimasukkan ke dalam bejana yang berisi eluen yang telah jenuh dan dielusi sampai tanda batas elusi. Plat KLT yang telah terelusi diambil kemudian diangin-anginkan dan dilihat dengan sinar tampak bercak yang timbul. Plat KLT disemprot dengan pereaksi dragendroff dan dilihat dibawah sinar UV 254. Noda yang terbentuk diamati, berwarna coklat jingga berlatar belakang kuning. Noda yang terbentuk diukur dan dihitung harga Rfnya (Harborne, 1987).

5. Identifikasi Triterpenoid secara KLT

Bejana dijenuhkan dengan *n*-heksan : etil asetat (1:1) dengan bantuan kertas penjenuh. Ekstrak, fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air kulit buah rambutan binjai ditotolkan pada lempeng silika gel GF 254 nm. Plat KLT dimasukkan ke dalam bejana yang berisi eluen yang telah jenuh dan dielusi sampai tanda batas elusi. Plat KLT yang telah terelusi diambil kemudian diangin-anginkan dan bercak yang timbul dilihat dengan sinar tampak. Plat KLT disemprot dengan anisaldehyd-asam sulfat dan dioven pada suhu 105°C. Terbentuknya warna noda merah, ungu, ungu tua, hijau biru, atau merah menunjukkan adanya kandungan triterpenoid. Noda yang terbentuk diukur serta dihitung harga Rfnya (Halimah dkk, 2010).

6. Identifikasi Saponin secara KLT

Bejana dijenuhkan dengan eluen kloroform : metanol : air (13 : 7 : 2) dengan bantuan kertas penjenuh. Ekstrak, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan air kulit buah rambutan binjai ditotolkan pada lempeng silika gel GF 254 nm. Plat KLT dimasukkan ke dalam bejana yang berisi eluen yang telah jenuh dan dielusi sampai tanda batas elusi. Plat KLT yang telah terelusi diambil kemudian diangin-anginkan dan bercak yang timbul dilihat dengan sinar tampak. Plat KLT

disemprot dengan pereaksi anisaldehyd-asam sulfat dan dipanaskan sampai suhu 110°C selama 5 sampai 10 menit. Terbentuknya warna noda merah, kuning, biru tua, ungu, hijau, atau kuning, coklat menunjukkan adanya kandungan saponin. Noda yang terbentuk diukur dan dihitung harga Rfnya (Harborne, 1987).

3.6.7 Pemilihan Eluen

Ditotolkan sampel dan baku asam galat pada plat silika GF 254. Dielusi dengan lima eluen yang berbeda, yaitu n-heksan: etil asetat: asam asetat (20: 9: 1) (Agatonovic-Kustrin dkk., 2019), etil asetat: metanol: air (120: 5: 4) (Orsini dkk., 2019), etil asetat : air: asam format (17: 3: 2) (Ibrahim dkk, 2018), n-butanol: asam asetat: air (4: 1: 5) (Ahmad, 2015) dan kloroform: etil asetat: n-butanol: asam format (15: 2: 2: 1) (Suputri dkk., 2021). Hasil elusi diamati pada sinar UV 254. Dipilih eluen yang dapat menghasilkan noda yang sejajar dengan baku asam galat, dan noda dengan pemisahan yang baik.

3.6.8 Uji Kadar Senyawa Fenolik dengan KLT-Densitometer

1. Pembuatan Baku dan Pengukuran Panjang Gelombang Maksimal Asam Galat

Asam galat ditimbang sebanyak 50 mg, dimasukkan ke dalam labu takar dan dilarutkan dengan metanol p.a. Larutan tersebut dibuat seri konsentrasi 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, dan 900 ppm (Syarif dkk., 2010).

2. Pembuatan Orientasi Larutan Fraksi *n*-Heksan, Etil Asetat, dan Air Kulit Buah Rambutan Binjai (*Nephelium lappaceum* L.)

Dilakukan orientasi dengan menimbang fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air masing masing sebanyak 50 mg, dilarutkan fraksi menggunakan pelarut metanol p.a sebanyak 50 mL (Syarif dkk., 2010).

3. Pembuatan Larutan Fraksi *n*-Heksan, Etil Asetat, dan Air Kulit Buah Rambutan Binjai (*Nephelium lappaceum* L.)

Ditimbang 25,0 mg fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air kulit buah rambutan bijai, kemudian dimasukkan dalam labu takar 5,0 mL. Dilarutkan masing-masing sampel dengan metanol (p.a) sampai tanda batas.

4. Pengukuran Fraksi *n*-Heksan, Etil Asetat, dan Air Kulit Buah Rambutan Binjai (*Nephelium lappaceum* L.)

Ditotolkan 10,0 μ L fraksi air, 5,0 μ L fraksi etil asetat, 10,0 μ L fraksi *n*-heksan dan 3,0 μ L deret baku asa, galat dengan mikropipet pada lempeng silika GF 254. Diamati hasil penotolan pada UV 254. Dielusi lempeng dengan fase gerak (kloroform: etil asetat: *n*-butanol: asam format) pada *chamber* yang telah dijenuhkan. Noda yang terpisah diamati di bawah lampu UV 254 nm. Dicari panjang gelombang maksimal baku asam galat. Diukur luas puncak dan Rf sampel pada panjang maksimal dengan KLT-Densitometer. Dihitung kadar senyawa fenolik masing-masing fraksi kulit buah rambutan binjai yang dinyatakan dalam mg GAE/ g sampel.

3.6.9 Uji Aktivitas Antibakteri

1. Sterilisasi Alat

Alat-alat dari gelas yang akan digunakan untuk pengujian dicuci bersih dan dibungkus dengan kertas coklat disterilkan dengan otoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

2. Pembuatan Media *Nutrient Agar* (NA)

Media agar miring *Nutrient Agar* (NA) ditimbang 1,4 gram ditambahkan 50 mL aquadest. Larutan media NA dipanaskan sambil diaduk, hingga agarnya

melarut. Jika sudah terbentuk media NA yang jernih maka media dimasukkan ke dalam tabung reaksi masing-masing sebanyak 10 mL, ditutup tabung dengan sumbat kapas, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Tabung yang berisi NA diletakkan dalam posisi miring dan dibiarkan memadat.

3. Peremajaan Bakteri Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)

Agar miring NA yang sudah steril disiapkan, diambil satu ose biakan bakteri Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) dengan ose bulat kemudian digoreskan pada permukaan NA miring dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

4. Pembuatan Media *Nutrient Broth* (NB)

Media NB ditimbang sebanyak 1,2 g dalam *beaker glass*, ditambahkan aquadest sebanyak 50 mL sambil diaduk hingga larut, kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Erlenmeyer kemudian ditutup dengan sumbat dari kapas, lalu disterilkan dengan otoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

5. Pembuatan Suspensi Bakteri

Media NB sebanyak 10 mL disiapkan dalam tabung reaksi steril. Bakteri Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) hasil dari peremajaan yang berumur 1 x 24 jam diambil satu ose dimasukkan dalam media NB. Kemudian diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C dan diukur serapannya pada panjang gelombang 625 nm, disetarakan dengan larutan $\frac{1}{2}$ Mc Farland mempunyai populasi $1,5 \times 10^8$ CFU/mL dengan rentang absorbansi 0,08-0,1.

6. Pembuatan larutan $\frac{1}{2}$ Mc. Farland

Komposisi larutan $\frac{1}{2}$ Mc Farland adalah sebagai berikut:

Larutan $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 1,175%

Larutan H_2SO_4 0,36N

Cara Pembuatan:

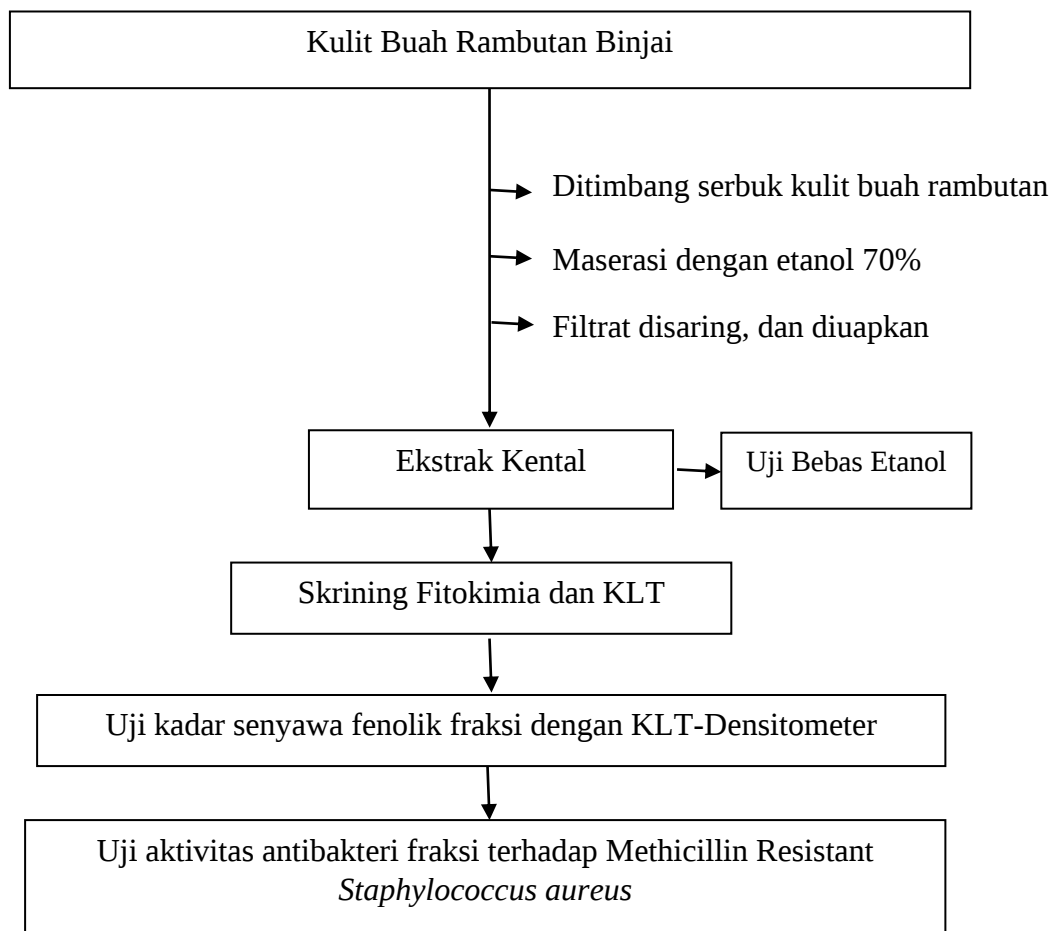
- Ditimbang $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ sebanyak 117,5 mg kemudian dilarutkan ad 10ml aquadest.
- Dibuat larutan H_2SO_4 0,36N, dipipet 0,1 ml H_2SO_4 ad 10 ml aquadest pada labu takar.
- Diukur larutan H_2SO_4 0,36 N, sebanyak 9,9 ml, diukur larutan $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ sebanyak 0,1 masukkan ke dalam labu takar 10ml.
- Dipipet campuran H_2SO_4 dan $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ sebanyak 5ml, kemudian ditambahkan NB 5ml.
- Larutan $\frac{1}{2}$ Mc Farland diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV pada panjang gelombang 625 nm. Larutan $\frac{1}{2}$ Mc Farland mempunyai kekeruhan setara dengan 1×10^8 CFU/ml dengan absorbansi 0,08-0,1.

3.6.9 Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Kulit Buah Rambutan Binjai dengan Metode Sumuran

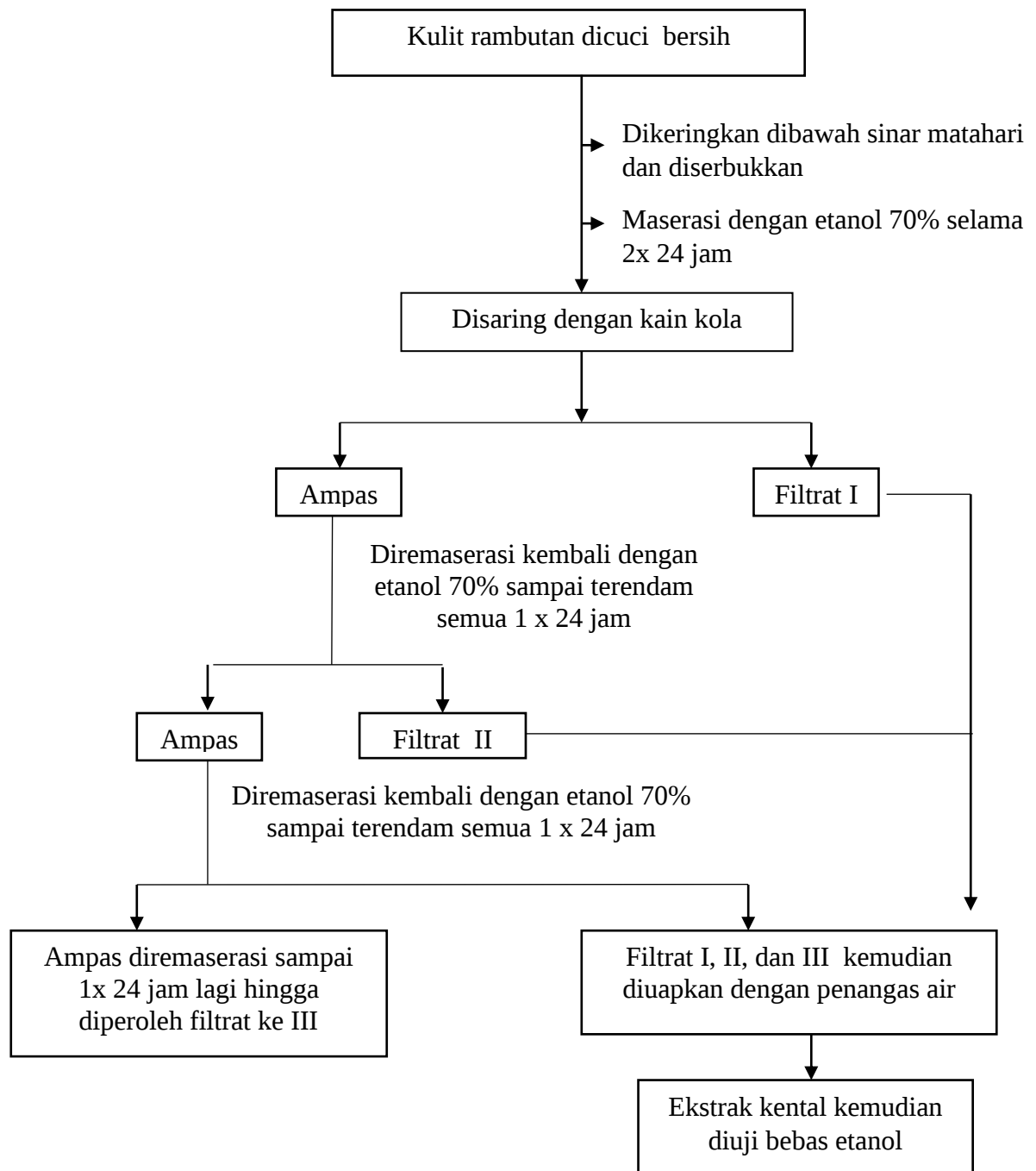
Fraksi kulit buah rambutan binjai (*Nephelium lappaceum* L.) ditimbang dan diencerkan dengan menggunakan DMSO sehingga didapatkan konsentrasi berbeda pada fraksi yang memiliki kadar fenolik tertinggi. Pengujian antibakteri fraksi kulit buah rambutan binjai (*Nephelium lappaceum* L.) dilakukan dengan metode sumuran dengan cara meletakkan *cylinder cup* di atas lapisan pertama media MSA yang sudah memadat, kemudian dituang campuran suspensi

Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) sebanyak 5 μ L ke dalam 20 mL media MSA dan lapisan media MSA kedua, dibiarkan memadat. *Cylinder cup* diangkat, dimasukkan sebanyak 50 μ L ke dalam sumuran fraksi kulit buah rambutan binjai (*Nephelium lappaceum* L.) dengan konsentrasi yang berbeda. Larutan siprofloksasin sebagai kontrol positif sedangkan larutan DMSO sebagai kontrol negatif. Cawan diinkubasi 1 x 24 jam pada suhu 37°C kemudian diukur diameter zona hambat Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) dengan menggunakan alat jangka sorong.

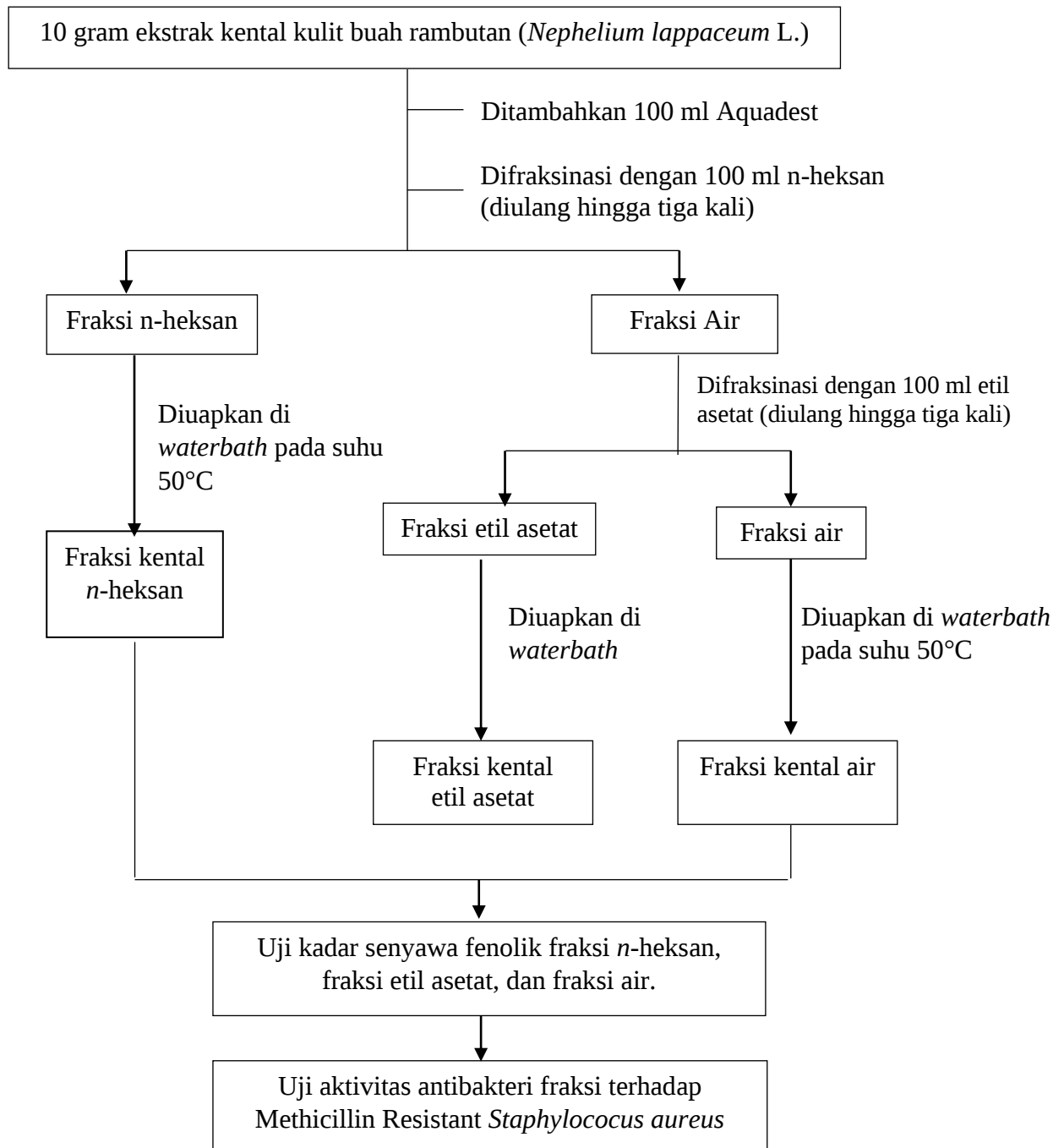
3.7 Skema Kerja



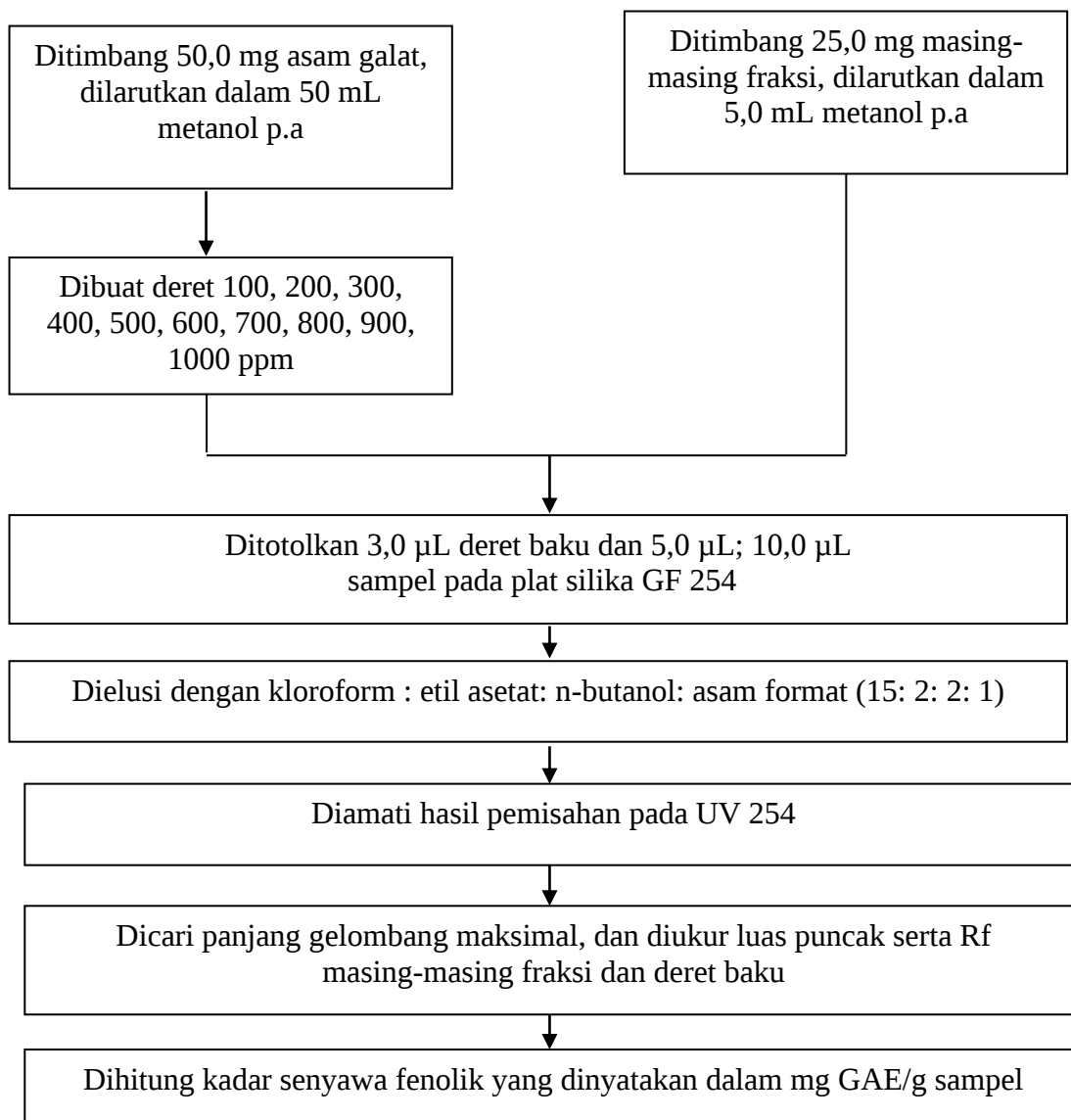
Gambar 5. Skema Kerja Secara Umum



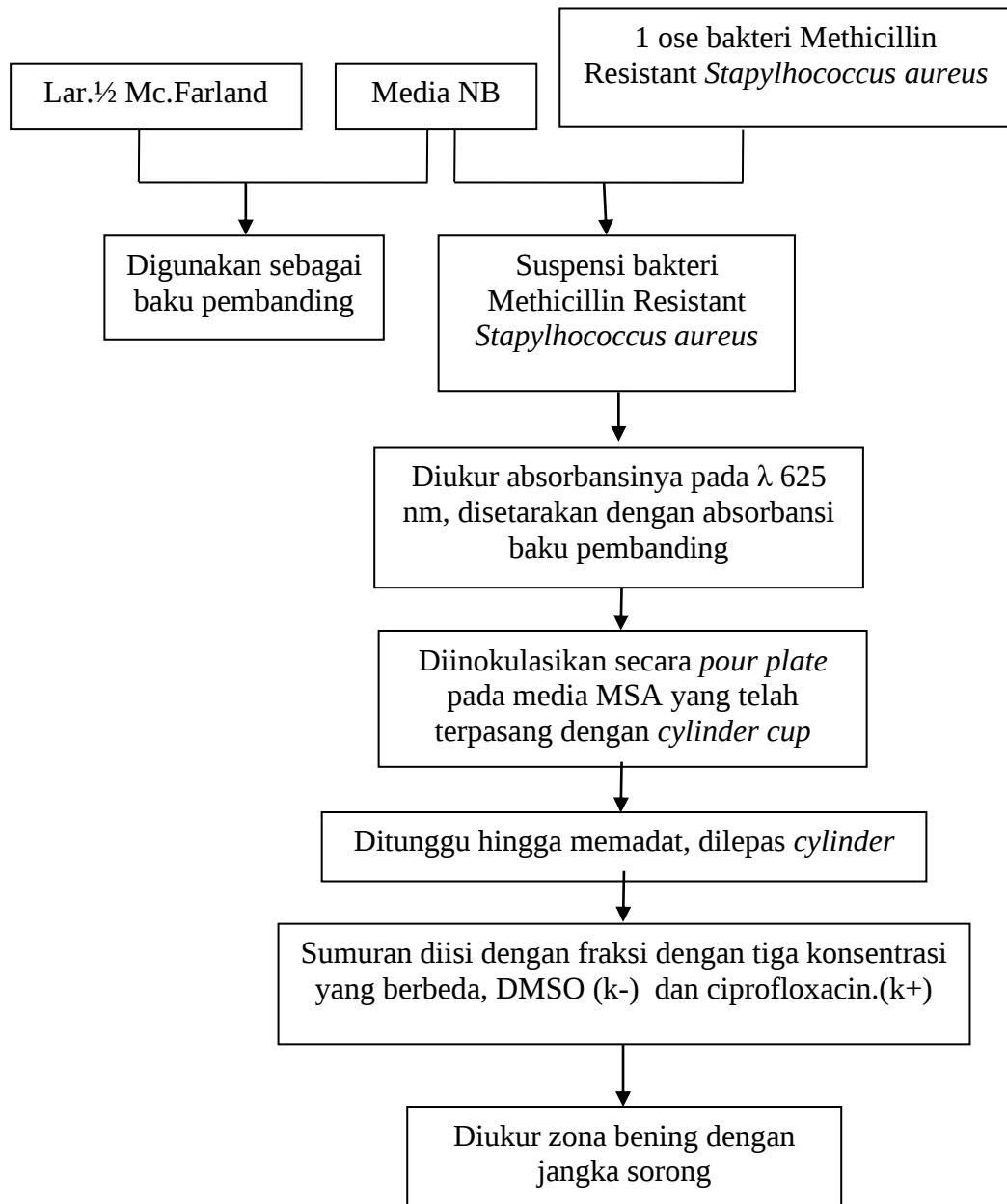
Gambar 6. Ekstraksi Kulit Buah Rambutan Binjai



Gambar 7. Fraksinasi Kulit Buah Rambutan



Gambar 8. Penetapan Kadar Senyawa Fenolik dengan KLT-Densitometer



Gambar 9. Uji Aktivitas Antibakteri

3.8 Analisis Data

Penentuan fenol didapatkan dari nilai x hasil persamaan regresi baku asam galat yang nilai y disubstitusikan dengan luas area sampel. Kadar fenol fraksi n -heksan, etil asetat, dan air kulit buah rambutan binjai (*Nephelium lappaceum* L.) dinyatakan dalam mg GAE/g sampel. Kadar senyawa fenolik dan aktivitas antibakteri fraksi n -heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air kulit buah rambutan dianalisis normalitas dan homogenitasnya. Jika data normal dan homogen, maka dilanjutkan dengan uji beda menggunakan t -test (uji parametrik). Namun, jika data tidak normal dan tidak homogen, maka dilanjutkan uji beda *Mann-Whitney* (uji non parametrik).

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan antibakteri dari fraksi kulit buah rambutan binjai (*Nephelium lappaceum* L.) dalam menghambat Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) dan kadar senyawa fenolik. Penelitian ini menggunakan bagian dari tumbuhan yaitu kulit buah, kulit buah rambutan yang digunakan haruslah sudah matang dan tidak rusak. Kulit rambutan didapatkan dari Blora, Jawa Tengah. Pengambilan tanaman dari satu daerah yang sama bertujuan untuk menghindari perbedaan kondisi iklim dan lingkungan yang dapat mempengaruhi hasil dari penelitian. Pengambilan sampel dilakukan dengan metode random sampling atau secara acak dengan tujuan setiap sampel memiliki kesempatan yang sama untuk diuji.

Tahapan pertama sebelum penelitian adalah melakukan identifikasi tanaman yang akan digunakan yaitu tanaman rambutan binjai (*Nephelium lappaceum* L.). Determinasi ini bertujuan untuk memastikan kebenaran identitas dan menghindari kesalahan dalam pengumpulan sampel tanaman. Determinasi dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Yayasan Pharmasi Semarang. Hasil determinasi menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan merupakan Rambutan dengan nama latin *Nephelium lappaceum* L.

Kulit buah rambutan yang sudah didapat kemudian dipisahkan dari pengotor dan dicuci bersih dengan air mengalir, kemudian dikeringkan di bawah sinar matahari dan ditutup dengan kain hitam. Pengeringan dilakukan untuk mengurangi kadar air dan mencegah timbulnya bakteri dan jamur sehingga simplisia yang tidak mudah rusak dan dapat disimpan dalam waktu yang cukup lama. Penutupan dengan kain hitam bertujuan untuk mencegah kontak simplisia dengan sinar UV secara langsung agar zat aktif dalam tanaman yang dikeringkan tidak rusak terurai oleh sinar UV. Kulit buah rambutan yang sudah kering selanjutnya diperkecil ukuran partikelnya dengan menggunakan mesin penggiling untuk memudahkan proses ekstraksi kemudian diayak.

Metode yang digunakan untuk ekstraksi serbuk kulit rambutan adalah dengan cara remaserasi. Remaserasi dilakukan dengan cara pergantian larutan penyari dengan jumlah yang tetap hingga seluruh senyawa aktif tersari dalam cairan penyari. Penggantian cairan penyari dilakukan setelah 1-2 hari perendaman pada saat pelarut sudah jenuh. Prinsip dari remaserasi sama dengan maserasi, yaitu perendaman serbuk simplisia ke dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan akan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, sehingga zat aktif akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi larutan di dalam dan di luar sel maka cairan terpekat akan didesak ke luar. Peristiwa ini akan terjadi berulang-ulang sehingga terjadi kesetimbangan

konsentrasi antara larutan di dalam dan di luar sel (Departemen Kesehatan RI, 1986).

Metode remaserasi dipilih dengan pertimbangan bahwa metode ini mampu mengurangi tingkat kejenuhan pelarut terhadap senyawa kimia yang disari serta dengan penggantian pelarut yang dilakukan, memungkinkan penarikan senyawa kimia dalam simplisia berlangsung lebih sempurna sehingga rendemen dihasilkan lebih banyak. Serbuk kulit rambutan disari dengan cairan penyari etanol 70% (Kusumaningrum, 2012). Etanol dipilih sebagai cairan penyari karena bersifat universal sehingga dapat menarik senyawa yang bersifat polar, semipolar, maupun nonpolar. Etanol 70% juga dapat menarik senyawa fitokimia lebih maksimal karena masih mengandung air cukup banyak sehingga sebagian senyawa ada yang tertarik dalam etanol dan ada pula yang tertarik dalam air (Sani dkk., 2014).

Remaserasi dilakukan selama 4 x 24 jam dan dilakukan penggantian cairan 2 x 24 jam untuk mendapatkan maserat pertama. Penggantian cairan penyari yang kedua dan ketiga dilakukan setelah 1 x 24 jam. Penggantian cairan penyari ini bertujuan untuk menghindari terjadinya konsentrasi penyari yang jenuh sehingga akan menghambat proses penarikan senyawa oleh cairan penyari dan sesekali diaduk agar fase kesetimbangan cepat tercapai. Maserat yang didapat disaring terlebih dahulu lalu diuapkan dengan menggunakan *waterbath* sehingga didapatkan ekstrak kental. Rendemen ekstrak etanol kulit rambutan yang diperoleh sebesar 63,65%.

Ekstrak kental kulit buah rambutan binjai kemudian diuji bebas etanol, tujuan dari pengujian tersebut adalah untuk mengetahui bahwa ekstrak kental yang didapatkan benar-benar sudah terbebas dari etanol saat dilakukannya ekstraksi, karena etanol sendiri mempunyai sifat dapat membunuh mikroorganisme. Hasil uji bebas etanol ekstrak kulit buah rambutan binjai dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil Pengujian Bebas Etanol Ekstrak Kulit Buah Rambutan Binjai

Pereaksi	Hasil Positif berdasarkan pustaka	Hasil Penelitian	Keterangan
H ₂ SO ₄ p + Asam asetat glasial	Tercium bau ester (Kurniawati, 2015)	Tidak tercium bau eter	Ekstrak bebas etanol
H ₂ SO ₄ p + K ₂ Cr ₂ O ₇ 2% 5 tetes	Mengandung etanol bila mula berwarna jingga menjadi biru (Ramadhani dkk., 2020)	Berwarna hitam	Ekstrak bebas etanol

Hasil pengujian bebas etanol menunjukkan bahwa sampel ekstrak kulit rambutan tidak mengandung etanol. Ekstrak kental kulit buah rambutan binjai dilakukan uji pendahuluan atau uji skrining fitokimia untuk mengetahui senyawa apa saja yang terkandung di dalam kulit buah rambutan. Uji pendahuluan atau skrining fitokimia dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui ada tidaknya senyawa aktif yang terkandung dalam kulit buah rambutan binjai (*Nephelium lappaceum* L). Hasil uji pendahuluan dapat dilihat sebagai berikut :

Tabel 2. Skrining Fitokimia Ekstrak Kulit Buah Rambutan Binjai

Golongan Senyawa	Pereaksi	Hasil Positif (Pustaka)	Hasil Reaksi Warna berdasarkan Penelitian	Keterangan Hasil Penelitian			
				Ekstrak	Fraksi <i>n</i> -heksan	Fraksi Etil Asetat	Fraksi Air
Fenolik	+ FeCl ₃ 1% (Agustina W, Nurhamidah, 2017)	Terbentuk warna biru-hitam	Terbentuk warna biru-hitam	+	+	+	+
Tanin	+ FeCl 10%(Robinson, 1991)	Terbentuk warna biru-hitam	Terbentuk warna biru kehitaman	+	+	+	+
	+ gelatin 0,5% (Robinson, 1991)	Terbentuk endapan putih	Terbentuk endapan putih	+	+	+	+
Flavonoid	+ Serbuk Mg + HCl _p + Amyl alkohol (Marjoni, 2016)	Terbentuk warna merah, kuning, jingga pada lapisan amil alkohol	Lapisan amil alkohol terbentuk warna jingga	+	+	+	+
Alkaloid	Mayer (Marjoni, 2016)	Terdapat endapan putih	Tidak terdapat endapan putih	-	-	-	-
	Dragendorff (Marjoni, 2016)	Terbentuk endapan merah bata	Terbentuk endapan merah bata	+	+	+	+
	Bourchard (Marjoni, 2016)	Terbentuk endapan coklat-hitam	Terbentuk endapan coklat-hitam	+	+	+	+
Steroid/ Triterpenoid	<i>n</i> -heksan + asam asetat anhidrat + H ₂ SO ₄ (Marjoni, 2016)	Terbentuk warna ungu atau merah berubah menjadi hijau-biru	Terbentuk warna ungu kecoklatan dan hijau-biru	+	+	+	+
Saponin	Dikocok + HCl 1% (Wijaya dkk. 2012)(Marjoni, 2016).	Busa stabil	Busa stabil	+	+	+	+

Berdasarkan uji pendahuluan yang telah dilakukan, menunjukkan hasil positif terhadap senyawa fenol, alkaloid, flavonoid, tanin, saponin dan tritepenoid. Identifikasi senyawa fenolik bertujuan untuk mengetahui ada atau tidaknya gugus

fenolik dalam ekstrak dan fraksi kulit buah rambutan binjai. Hasil positif uji pendahuluan fenolik adalah terbentuknya warna biru-hitam setelah direaksikan dengan pereaksi FeCl_3 , karena membentuk ikatan dengan Fe^{3+} menghasilkan kompleks Fe-Fenolat yang mempunyai 3 ikatan ionik dan 3 ikatan kovalen (Sudjadi dan Rohman, 2004). Sampel ekstrak, fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air kulit buah rambutan binjai mengandung senyawa fenolik dengan ditandai terbentuknya larutan berwarna biru-hitam.

Identifikasi alkaloid dilakukan dengan cara menambahkan air dan larutan HCl 2N. Penambahan HCl 2N dimaksudkan untuk menarik senyawa alkaloid dalam sampel karena alkaloid bersifat basa maka dengan penambahan asam seperti HCl akan terbentuk garam, sehingga alkaloid akan terpisah dengan komponen-komponen lain dari sel tumbuhan yang ikut terekstrak dengan mendistribusikannya ke fase asam. Sampel kulit buah rambutan binjai dengan pereaksi Mayer terjadi kekeruhan namun tidak terbentuk endapan putih, hal ini dikarenakan tidak semua alkaloid bereaksi dengan pereaksi Mayer. Pengendapan yang terjadi tergantung pada jenis alkaloidnya.

Sampel dengan pereaksi Bouchardat dan Dragendorff menghasilkan endapan coklat kehitaman dan endapan merah bata. Hasil positif alkaloid pada uji Bouchardat yang menghasilkan endapan coklat kehitaman, diperkirakan endapan tersebut adalah kalium-alkaloid. Pembuatan pereaksi Bouchardat, iodin bereaksi dengan ion I^- dari kalium iodida menghasilkan ion I_3^- . Ion logam K^+ akan membentuk ikatan kovalen koordinat dengan nitrogen pada alkaloid membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap (Marliana dkk., 2005).

Hasil positif alkaloid pada uji Dragendorff ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna merah bata. Endapan tersebut adalah kalium-alkaloid. Pada pembuatan pereaksi Dragendorff, bismut nitrat dilarutkan dalam HNO_3 . Ion Bi^{3+} dari bismut nitrat bereaksi dengan kalium iodida membentuk endapan hitam Bismut (III) iodida yang kemudian melarut dalam kalium iodida berlebih membentuk kalium tetraiodobismutat (Svehla, 1990). Pada uji alkaloid dengan pereaksi Dragendorff, nitrogen digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan K^+ yang merupakan ion logam (Marliana dkk., 2005).

Uji pendahuluan flavonoid adalah terbentuknya warna merah, kuning, merah tua, hijau sampai biru pada lapisan amil alkohol. Larutan amil alkohol setelah ditambahkan pada sampel akan membentuk 2 lapisan, senyawa amil alkohol akan melarutkan senyawa flavonoid yang ada pada sampel kulit buah rambutan binjai (Ma'rifah, 2016). Senyawa flavonoid sendiri terbagi menjadi beberapa golongan berdasarkan kelarutannya, flavonoid yang larut dalam pelarut yang bersifat polar merupakan glikosida flavonoid contohnya rutin, flavonoid yang bersifat semi polar atau aglikon flavonoid contohnya adalah kuersetin dan yang bersifat nonpolar adalah sinersetin (Departemen Kesehatan, 1995).

Pengujian tanin pada sampel menunjukkan hasil positif, tanin dapat mengikat dan mengendapkan protein sehingga membentuk senyawa kompleks (Harborne, 1987). Pengujian tanin dapat menggunakan reagen NaCl -gelatin, penambahan NaCl akan menyebabkan *salting-out* dari kompleks tanin-gelatin (Fong dkk, 1973). Tanin dapat mengendapkan gelatin sehingga terbentuknya

endapan menunjukkan adanya tanin. Reaksi pengendapan ini lebih sensitif dengan penambahan NaCl untuk mempertinggi penggaraman dari tanin dan gelatin (Gusliana, 2017). Gelatin merupakan protein alami yang memberikan sifat penstabil dan pengental bagi media yang berisikan air, sehingga terbentuk senyawa protein dikarenakan adanya ikatan hidrogen antara tanin dan protein pada gelatin sehingga terbentuk endapan putih yang merupakan hasil positif. Identifikasi senyawa tanin, juga dilakukan dengan penambahan larutan FeCl_3 1%. Tanin dan Fe^{3+} akan membentuk ikatan kompleks yang memberikan perubahan warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam kuat. Identifikasi dengan FeCl_3 digunakan untuk mengidentifikasi apakah sampel mengandung gugus fenol sedangkan tanin merupakan senyawa polifenol (Ergina dan Indarini, 2014). Sampel menunjukkan bahwa ekstrak, dan fraksi kulit buah rambutan binjai mengandung tanin dengan terbentuknya warna hijau kehitaman ketika ditambahkan FeCl_3 dan terbentuk endapan putih ketika ditambahkan NaCl dan gelatin.

Hasil uji pendahuluan saponin menunjukkan terbentuknya busa stabil. Senyawa yang memiliki gugus polar dan nonpolar bersifat aktif permukaan sehingga saat dikocok dengan air, saponin dapat membentuk misel. Struktur misel gugus polar menghadap ke luar sedangkan gugus nonpolar menghadap ke dalam. Keadaan inilah yang tampak seperti buih (Robinson, 1991). Penambahan HCl 1% untuk menambahkan kepolaran sehingga gugus hidrofil akan berikatan lebih stabil dan busa yang terbentuk menjadi stabil (Kumalasari, 2003).

Uji pendahuluan steroid/triterpenoid adalah terbentuknya larutan berwarna coklat kemerahan atau ungu. Penambahan asam asetat anhidrat bertujuan untuk membentuk turunan asetil dari triterpenoid. Senyawa triterpenoid akan mengalami dehidrasi dengan penambahan asam kuat dan membentuk garam yang memberikan sejumlah reaksi warna (Robinson, 1991). Terpenoid tersusun dari rantai panjang hidrokarbon C₃₀ disebut triterpenoid yang menyebabkan sifatnya nonpolar sehingga mudah tertarik dalam pelarut yang bersifat nonpolar. Senyawa triterpenoid juga memiliki gugus hidroksi sehingga akan dapat tertarik oleh pelarut yang bersifat semipolar bahkan pelarut polar (Kristanti, 2008)

Uji penegasan dilakukan dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Pengujian KLT dilakukan dengan cara menjenuhkan fase gerak dalam *chamber* dan memasukkan kertas penjenuh lalu ditutup dengan penutup *chamber*, dibiarkan hingga fase gerak melewati kertas penjenuh dari sisi *chamber* bagian dalam ke bagian luar *chamber*. Tujuan dilakukan penjenuhan *chamber* adalah untuk meminimalkan penguapan pelarut dan noda dapat tertarik dengan sempurna. Sampel ditotolkan pada lempeng silika menggunakan pipa kapiler. Sampel yang telah ditotolkan pada permukaan lempeng KLT selanjutnya dimasukkan ke dalam *chamber* yang berisi fase gerak yang telah dijenuhkan.

Hasil pengujian dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) untuk mengetahui kandungan fenolik, flavonoid, alkaloid tanin, saponin, dan steroid/triterpenoid terhadap ekstrak, fraksi n-heksan, etil asetat, dan air kulit buah rambutan binjai ditunjukkan pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil KLT Ekstrak dan Fraksi n-Heksan, Etil Asetat, Air Kulit Buah Rambutan Binjai

Sampel	Golongan Kandungan Senyawa	Fase Gerak	Penampak Bercak	Warna Noda dengan Penampak Bercak	Keterangan positif
Ekstrak Etanol	Fenolik	n-butanol: asam asetat: air (4: 1: 5)	FeCl ₃	(+)Hitam (Rf = 0,25; 0,59; 0,72)	(+) Hijau, merah, ungu, biru atau hitam kuat (Ahmad, 2015).
Fraksi n-heksan				(+)Hitam (Rf = 0,31; 0,62; 0,75)	
Fraksi Etil asetat				(+)Hitam (Rf = 0,31; 0,62; 0,75)	
Fraksi Air				(+)Hitam (Rf = 0,31)	
Ekstrak Etanol	Tanin	Etil asetat: methanol: air 100: 13,5: 10	FeCl ₃ 1%	(+) Biru kehitaman (Rf = 0,35; 0,60)	(+) Biru Kehitaman (Hanani, 2015)
Fraksi n-heksan				(+) Biru kehitaman (Rf = 0,40; 0,60; 0,73)	
Fraksi Etil asetat				(+) Biru kehitaman (Rf = 0,38; 0,62; 0,73)	
Fraksi Air				(+) Biru kehitaman (Rf = 0,40; 0,65; 0,75; 0,82)	
Ekstrak Etanol	Flavonoid	n-butanol : asam asetat : air (4: 1: 5)	Uap amonia	(+)Kuning kecoklatan (Rf = 0,37; 0,81)	(+) Kuning kecoklatan (Harbone, 1987)
Fraksi n-heksan				(+) Kuning Kecoklatan (Rf = 0,68; 0,81; 0,87)	
Fraksi Etil asetat				(+) KuningKecoklatan (Rf = 0,56; 0,82; 0,87)	
Fraksi Air				(+) KuningKecoklatan (Rf = 0,37; 0,81; 0,87)	
Ekstrak Etanol	Alkaloid	Metanol : NH ₄ OJH (200:3)	Dragendorff	(+) coklat kuning (Rf = 0,60)	(+) Coklat berlatar belakang kuning (Harbone, 1987)
Fraksi n-heksan				(+) coklat kuning (Rf = 0,55; 0,90)	
Fraksi Etil asetat				(+) coklat kuning (Rf = 0,50; 0,90)	
Fraksi Air				(+) coklat kuning (Rf = 0,55; 0,90)	
Ekstrak Etanol	Saponin	Kloroform: metanol: air (13: 7: 2)	Anisaldehyd- H ₂ SO ₄ dioven 5-10 menit suhu 105°C	(+)Ungu Kebiruan (Rf = 0,45; 0,95)	(+) Merah, kuning, biru tua, ungu, hijau, atau kuning, coklat (Harborne, 1987)
Fraksi n-heksan				(+)Ungu Kebiruan (Rf = 0,40; 0,60)	
Fraksi Etil Asetat				(+)Ungu Kebiruan (Rf = 0,40; 0,55)	
Fraksi Air				(+) Ungu Kebiruan (Rf = 0,45; 0,60)	
Ekstrak Etanol	Triterpenoid	n-heksan: etil asetat (4:6)	Anisaldehyd- H ₂ SO ₄ dioven 5-10 menit suhu 105°C	(+) merah-ungu (Rf = 0,30; 0,50; 0,70; 0,85)	(+) Merah ungu, ungu tua, hijau biru, atau merah (Halimah dkk. 2010).
Fraksi n-heksan				(+) merah-ungu (Rf = 0,20; 0,70; 0,90)	
Fraksi Etil asetat				(+) merah-ungu (Rf = 0,25; 0,55; 0,75)	
Fraksi Air				(+) merah-ungu (Rf = 0,25; 0,55; 0,75)	

Uji KLT fenolik menggunakan fase gerak n-butanol : asam asetat : air (4: 1: 5) dengan penampak bercak FeCl_3 . Positif fenolik jika terbentuk noda warna biru-kehitaman, hijau, hijau kehitaman (Marliani dkk, 2017). Senyawa fenolik apabila disemprot dengan FeCl_3 akan memberikan warna hijau, merah ungu, biru, atau hitam (Nurlaila, 2019). Hasil positif terdapat pada ekstrak, fraksi n-heksan, etil asetat, dan air kulit buah rambutan binjai, dari hasil tersebut dijadikan acuan dalam pengukuran terhadap kandungan fenolik. Perbedaan antara nilai R_f pada ekstrak dan fraksi dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya yaitu struktur kimia dari senyawa yang dipisahkan, sifat penyerap dan aktivitas, tebal, dan kerapatan lapisan penyerap, fase gerak, derajat kejenuhan, suhu, jumlah cuplikan yang diambil terlalu sedikit atau terlalu banyak (Sastrohamidjojo, 1991). Pada penelitian (Wulandari, 2011), juga menyebutkan beberapa faktor yang menyebabkan nilai R_f bervariasi meliputi dimensi, dan jenis ruang, sifat dan ukuran lempeng, arah aliran fase gerak, volume dan komposisi fase gerak, kondisi kesetimbangan, kelembaban, dan metode persiapan sampel KLT sebelumnya. Alkaloid pada ekstrak etanol dan fraksi kulit buah rambutan binjai ditunjukkan dengan terbentuknya noda warna coklat jingga dengan latar belakang kuning setelah disemprot dengan pereaksi *dragendorff* bercak tersebut menandakan adanya senyawa golongan alkaloid, pada sampel kulit buah rambutan binjai.

Flavonoid pada ekstrak etanol dan fraksi kulit buah rambutan binjai ditunjukkan dengan terbentuknya noda warna kuning setelah diberi uap amonia, berdasarkan warna noda pada ekstrak etanol dan fraksi kulit buah rambutan binjai

mengandung senyawa flavonoid (Robinson, 1991). Flavonoid mempunyai tipe yang beragam dan terdapat dalam bentuk bebas (aglikon) maupun terikat sebagai glikosida. Aglikon polimetoksi bersifat non polar, aglikon polihidroksi bersifat semi polar, sedangkan glikosida flavonoid bersifat polar karena mengandung sejumlah gugus hidroksil dan gula (Markham, 1988). Tipe flavonoid yang beragam juga dapat mempengaruhi nilai R_f sehingga harga R_f yang dihasilkan juga berbeda.

Identifikasi kandungan senyawa tanin menggunakan KLT menunjukkan hasil positif pada ekstrak, fraksi n-heksan, etil asetat, dan air kulit buah rambutan binjai dengan ditandai adanya noda berwarna biru kehitaman setelah disemprot dengan penampak bercak FeCl_3 (Hanani, 2015). Uji KLT senyawa saponin, hasil positif terkandung dalam ekstrak, fraksi n-heksan, dan air kulit buah rambutan binjai. Jika terbentuk noda merah, kuning, biru tua, ungu, hijau kuning kecoklatan dengan penampak bercak anisaldehyd-asam sulfat maka positif saponin (Hanani, 2015). Triterpenoid adalah suatu golongan senyawa terpenoid yang sifatnya cenderung nonpolar sehingga mudah tertarik dalam pelarut yang bersifat nonpolar dan semipolar (Harbone, 1987). Hasil identifikasi KLT menunjukkan ekstrak, fraksi n-heksan, etil asetat, dan air kulit buah rambutan binjai positif mengandung triterpenoid.

Identifikasi senyawa fenolik yang terkandung dalam sampel fraksi n-heksan, etil asetat, dan air kulit buah rambutan dapat dilakukan dengan metode analisis instrumental berdasarkan radiasi elektromagnetik dengan analit berupa noda pada plat. Penentuan kadar suatu senyawa dapat menggunakan KLT-Densitometri

dengan cara noda-noda yang telah terpisah pada lempeng KLT dimasukkan ke dalam alat tersebut kemudian ditentukan kadarnya berdasarkan hubungan *Area Under Curva* (AUC) masing masing noda pada plat (Schunack, 1990; Sherma, 1994).

Identifikasi kualitatif dan kuantitatif dilakukan dengan pengukuran menggunakan densitometer. Nilai R_f dan spektrum sampel yang dibandingkan dengan baku asam galat merupakan pengujian kualitatif. Spektrum baku asam galat juga dapat digunakan untuk mengetahui panjang gelombang maksimum. Panjang gelombang maksimum berhubungan dengan uji kuantitatif, yaitu untuk menentukan pengukuran luas area (AUC). Tujuan pengukuran luas area pada panjang gelombang maksimum adalah mendapatkan sensitivitas pengukuran yang tinggi dan dihasilkan nilai yang cukup konstan saat diukur berulang.

Penentuan kadar senyawa fenolik pada fraksi n-heksan, etil asetat, dan air kulit buah rambutan binjai dengan alat Densitometer memiliki keuntungan yaitu pengerjaannya lebih sederhana, waktu pengerjaan cepat, memiliki kepekaan tinggi dalam menganalisis senyawa yang dideteksi. Dalam pengerjaannya harus diperhatikan cara dalam penotolan dan volume yang ditotolkan harus sama (Kurniawan, 2014). Langkah pertama yang dilakukan adalah menentukan eluen, penentuan eluen merupakan faktor yang paling penting dalam kromatografi lapis tipis. Eluen harus dapat memisahkan senyawa dan menghasilkan noda sampel yang sejajar dengan noda baku pembanding. Optimasi eluen diawali dengan menentukan jenis fase diam dan sifat fisika kimia analit yang akan dianalisis. Fase

diam yang digunakan dalam penelitian ini adalah silika gel GF 254. Silika gel GF 254 merupakan lempeng silika yang bersifat polar dan dapat berfluoresensi pada UV 254 (Wulandari, 2011b).

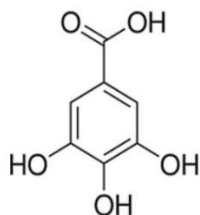
Penentuan eluen dilakukan pada lima eluen yang berbeda. Eluen pertama yang digunakan n-heksan: etil asetat: asam asetat glasial (20: 9: 1) (Agatonovic-Kustrin dkk., 2019), eluen kedua etil asetat: metanol: air (120: 5: 4) (Orsini dkk., 2019), etil asetat: air: asam format (17: 3: 2) (Ibrahim dkk., 2018) digunakan sebagai eluen ketiga, eluen keempat butanol: asam asetat: air (4: 1: 5), dan eluen kelima kloroform: etil asetat: n-butanol: asam format (15: 2: 2: 1) (Suputri dkk., 2021). Sebelum dilakukan elusi, *chamber* perlu dijenuhkan. Penjenuhan ini ditujukan agar memaksimalkan proses pergerakan noda dengan cara mendistribusikan fase gerak secara merata (Gandjar dan Rohman, 2008).

Baku asam galat, fraksi n-heksan, etil asetat, dan air kulit buah rambutan binjai tidak dapat terelusi dengan baik pada eluen pertama. Eluen kedua menghasilkan pemisahan yang baik, namun pada baku dan sampel tidak terelusi dengan baik (mengekor). Asam galat dapat terelusi karena eluen kedua lebih polar dibandingkan eluen pertama. Eluen kedua ini belum dapat digunakan karena adanya noda yang mengekor. Noda yang mengekor dapat menghasilkan puncak yang kurang simetris pada densitometer (Wulandari, 2011b). Hasil eluen yang ketiga tidak baik karena asam galat, fraksi n-heksan, etil asetat, dan air kulit buah rambutan binjai terelusi sampai batas elusi. Hal ini disebabkan oleh sifat fase gerak yang lebih polar dari eluen kedua. Eluen keempat menghasilkan pemisahan

yang baik, namun hasil pada baku dan sampel mengekor Eluen kelima merupakan eluen yang dipilih untuk analisis dengan densitometer. Sampel dapat menghasilkan R_f yang sejajar dengan asam galat dan noda pada baku asam galat tidak mengekor. Gugus hidroksi dalam asam galat memberikan sifat polar, dan gugus benzene memberikan sifat nonpolar oleh karena itu, asam galat dapat terelusi dan nodanya berada ditengah lintasan elusi.

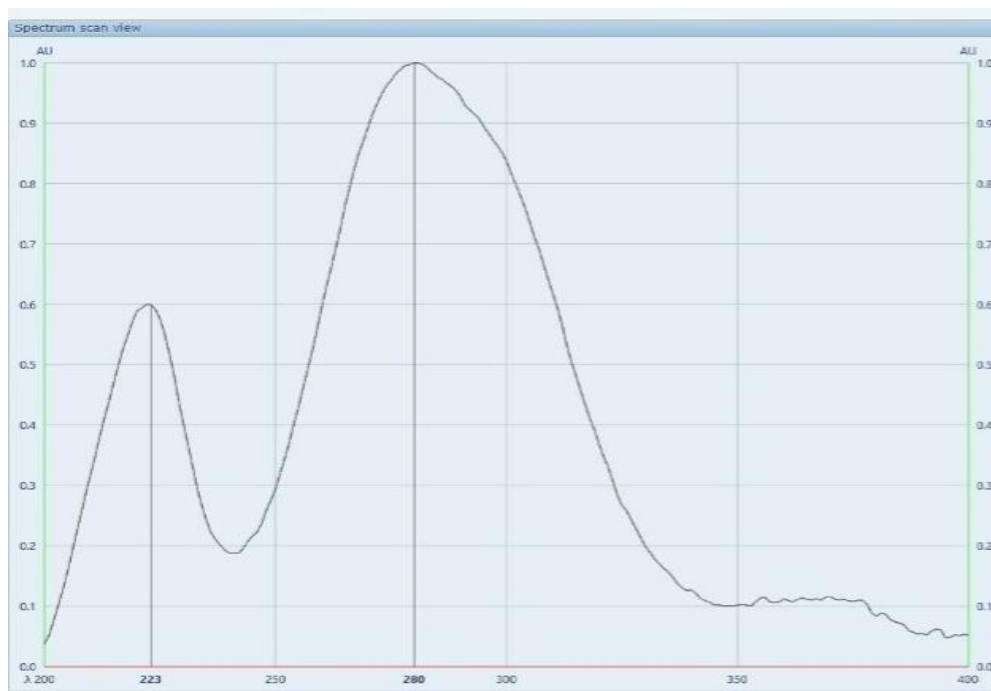
Setelah didapatkan eluen yang menghasilkan noda sampel sejajar dengan baku asam galat, perlu dilakukan orientasi konsentrasi sampel. Orientasi ini digunakan untuk menentukan konsentrasi sampel yang dapat masuk dalam kurva deret baku asam galat. Orientasi dilakukan terhadap konsentrasi dan volume penotolan sampel. Didapatkan konsentasi pada sampel fraksi n-heksan 5000 ppm dengan volume penotolan 10 μ L, fraksi etil asetat 5000 ppm dengan volume penotolan 5 μ L, dan fraksi air konsentrasi 5000 ppm dengan volume penotolan 10 μ L. Deret baku yang digunakan dalam penelitian ini yaitu 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, dan 1000 ppm. Deret digunakan dalam jumlah banyak agar sampel masuk ke dalam deret dan memudahkan dalam menentukan nilai koefisien korelasi (r).

Asam galat diukur pada spektrum panjang gelombang ultraviolet, yaitu 200-400 nm. Asam galat memiliki dua puncak pada rentang panjang gelombang tersebut puncak pertama di antara 200-240 nm dan puncak kedua di antara 250-300 nm (Verma dkk., 2011). Hasil pengukuran spektrum asam galat dalam penelitian ini yaitu 223 nm (puncak pertama), dan 280 nm (puncak kedua).



Gambar 10. Struktur Asam Galat (Fernandes dan Salgado, 2016)

Asam galat memiliki gugus hidrokarbon aromatik (benzena) dan gugus hidroksil. Hidrokarbon aromatik yang termasuk dalam gugus kromofor dapat memberikan serapan pada sinar UV, sehingga terdapat dua puncak tersebut. Hidroksil termasuk gugus ausokrom karena memiliki satu elektron bebas. Gugus tersebut dapat menggeser panjang gelombang maksimal (batokromik) jika berikatan langsung dengan gugus kromofor (seperti pada asam galat). Hasil pengukuran panjang gelombang maksimal asam galat sesuai dengan penelitian (Luis Aleixandre-Tudo dan du Toit, 2019) yaitu 280 nm.



Gambar 11. Spektrum UV dan Panjang Gelombang Maksimum Asam Galat

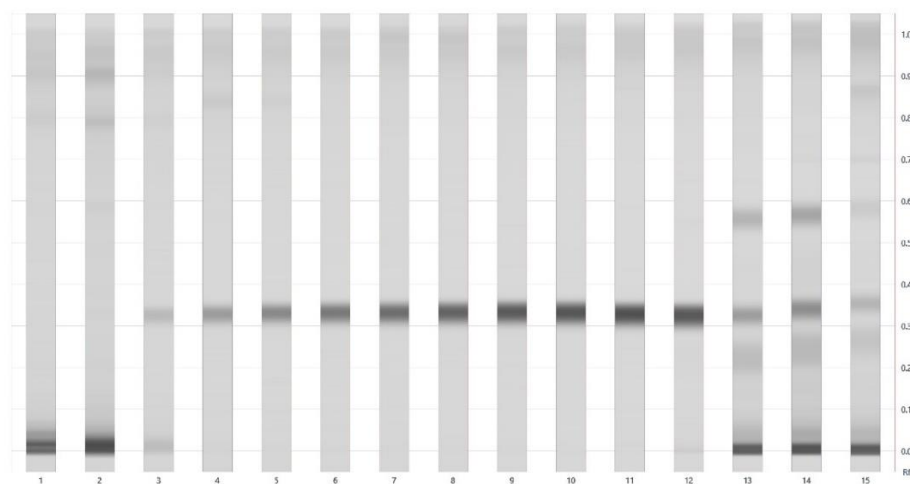
Hasil pengukuran panjang gelombang maksimum tersebut digunakan untuk menentukan nilai Rf dan kadar senyawa fenolik dalam sampel fraksi n-heksan, etil asetat dan fraksi air kulit buah rambutan binjai. Pengukuran kadar senyawa fenolik dilakukan dengan AUC sampel pada Rf tertentu (yang mendekati Rf asam galat). Hasil Rf deret baku dan sampel fraksi n-heksan, etil asetat, dan air dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Nilai Rf Deret Baku Asam Galat dan Sampel

Senyawa	Rf
Asam Galat 200 ppm	0,427
Asam Galat 400 ppm	0,432
Asam Galat 500 ppm	0,438
Asam Galat 600 ppm	0,438
Asam Galat 700 ppm	0,443
Fraksi Air 1	0,395
Fraksi Air 2	0,395
Fraksi Air 3	0,398
Fraksi Air 4	0,403
Fraksi Air 5	0,410
Fraksi Etil Asetat 1	0,443
Fraksi Etil Asetat 2	0,448
Fraksi Etil Asetat 3	0,448
Fraksi Etil Asetat 4	0,448
Fraksi Etil Asetat 5	0,445
Fraksi n-Heksan 1	0,445
Fraksi n-Heksan 2	0,445
Fraksi n-Heksan 3	0,445
Fraksi n-Heksan 4	0,445
Fraksi n-Heksan 5	0,445

Hasil tabel di atas menunjukkan ketiga sampel mengandung asam galat. Nilai Rf dikatakan baik dan dapat diterima pada nilai 0,2-0,8 (Gandjar dan Rohman, 2008). Sistem kromatografi yang digunakan dalam penelitian ini adalah normal phase, dimana fase diam lebih polar dibandingkan fase gerak. Berdasarkan nilai Rf, dapat diketahui bahwa noda asam galat berada di tengah lintasan elusi.

Oleh karena itu, membuktikan bahwa asam galat bersifat lebih nonpolar dibandingkan lempeng silika gel, dan lebih polar dibandingkan fase gerak yang digunakan.



Gambar 12. Profil KLT Deret Baku Asam Galat dan Sampel pada Panjang Gelombang 280 nm

Pengukuran kadar senyawa fenolik dilakukan pada fraksi n-heksan, etil asetat, dan air kulit buah rambutan. Prinsip dari pengukuran ini adalah mengukur dan membandingkan AUC baku asam galat dan sampel. Pengukuran dengan menggunakan densitometer dipengaruhi oleh konsentrasi dan volume penotolan analit. Semakin besar konsentrasi dan volume penotolannya, maka semakin besar AUC yang dihasilkan. Hasil AUC, volume penotolan, serta konsentrasi deret baku asam galat dan sampel dapat dilihat pada lampiran 14.

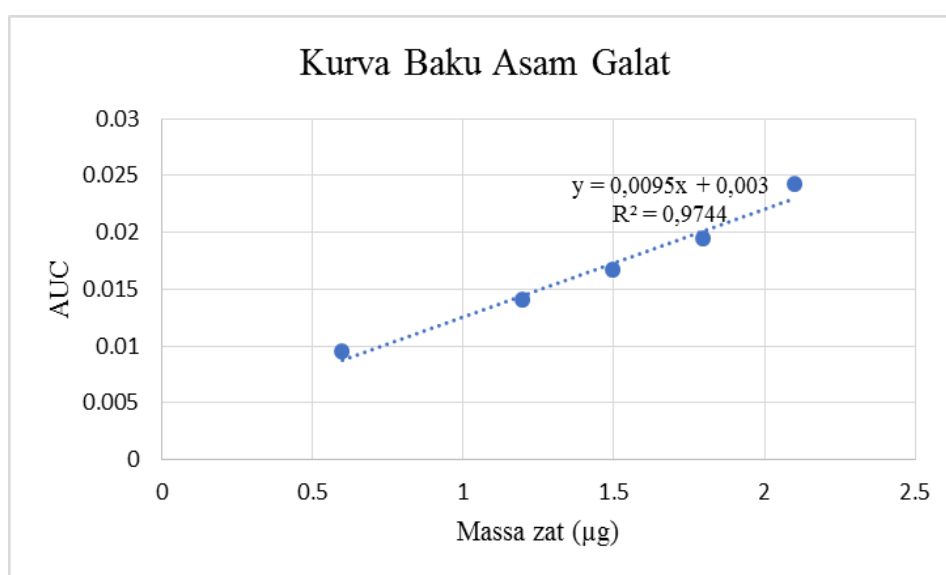
Pembuatan kurva baku asam galat dilakukan pada konsentrasi 200 ppm, 400 ppm, 500 ppm, 600 ppm, dan 700 ppm. Asam galat dengan konsentrasi 100 ppm, 300 ppm, 800 ppm, 900 ppm dan 1000 ppm tidak digunakan. Kelima konsentrasi tersebut menghasilkan nilai AUC yang terlalu menyimpang, sehingga

mempengaruhi koefisien korelasi (r). Hal tersebut dapat terjadi karena pemipetan dan pelarutan yang kurang tepat saat pembuatan deret baku. Hasil nilai AUC baku asam galat dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil Nilai AUC Baku Asam Galat

No	Konsentrasi (ppm)	Volume Penotolan (mL)	Massa zat (μg)	AUC
1	200	0.003	0.6	0.00941
2	400	0.003	1.2	0.01397
3	500	0.003	1.5	0.01662
4	600	0.003	1.8	0.01938
5	700	0.003	2.1	0.02421

Kurva deret baku asam galat yang diukur dengan densitometer digambarkan dengan massa zat dan AUC. Massa zat merupakan hasil perkalian konsentrasi dengan volume penotolan analit. Linearitas kurva baku pada penelitian ini cukup baik ($r = 0,9871$). Suatu kurva baku memiliki linearitas yang baik apabila nilai $r \geq 0,98$ (Fatimah dkk., 2018). Persamaan regresi linear yang digunakan untuk mengukur kadar senyawa fenolik dalam sampel fraksi n-heksan, etil asetat dan air adalah $y = 0,009531x + 0,00293$.



Gambar 13. Kurva Baku Asam Galat pada Panjang Gelombang 280 nm

Masing-masing sampel fraksi dilakukan pengukuran pada lima replikasi dengan konsentrasi 5000 ppm dan volume penotolan untuk fraksi air dan n-heksan (10 μ L) dan fraksi etil asetat (5 μ L). Rerata kadar senyawa fenolik fraksi etil asetat lebih besar (58,9238 mg GAE/g sampel) dibandingkan dengan fraksi n-heksan (19,95158 mg GAE/g sampel) dan fraksi air (18,9623 mg GAE/g sampel).

Tabel 6. Kadar Senyawa Fenolik Fraksi n-Heksan, Etil Asetat dan Air Kulit Buah Rambutan Binjai

Sampel	Kadar Senyawa Fenolik (mg GAE/g sampel)
Fraksi Air 1	18.1862
Fraksi Air 2	18.5878
Fraksi Air 3	19.6184
Fraksi Air 4	18.6029
Fraksi Air 5	18.8165
Rerata	18.76236
SD	0.52998
Fraksi Etil Asetat 1	34.9598
Fraksi Etil Asetat 2	65.012
Fraksi Etil Asetat 3	62.2915
Fraksi Etil Asetat 4	67.3935
Fraksi Etil Asetat 5	64.9622
Rerata	58.9238
SD	13.5173
Fraksi n-Heksan 1	19.3268
Fraksi n-Heksan 2	18.0936
Fraksi n-Heksan 3	23.0876
Fraksi n-Heksan 4	24.3461
Fraksi n-Heksan 5	14.9038
Rerata	19.95158
SD	3.82324

Data kadar senyawa fenolik kemudian diolah dengan *Statistical Product and Service Solution* (SPSS). Dilakukan uji statistik dengan program SPSS untuk mengetahui adanya perbedaan kadar senyawa fenolik masing-masing fraksi apakah hasilnya berbeda signifikan atau tidak berbeda signifikan. Langkah awal analisis SPSS adalah uji normalitas dan homogenitas. Uji normalitas dilakukan

dengan uji Kolmogorov-Smirnov untuk mengetahui data berdistribusi normal atau tidak. Data yang berdistribusi normal dianggap telah mewakili populasi sampel. Uji homogenitas dilakukan untuk menunjukkan bahwa varian antar perlakuan berdistribusi homogen atau tidak. Syarat suatu data berdistribusi normal dan homogen adalah apabila nilai signifikansinya (Sig) lebih dari 0,05. Hasil kadar senyawa pada uji normalitas didapatkan bahwa fraksi etil asetat tidak normal, dan ketiga sampel tidak homogen. Data kadar senyawa fenolik pada fraksi n-heksan, etil asetat, dan air kulit buah rambutan binjai pada uji normalitas dan homogenitas dapat dilihat pada tabel 7 dan tabel 8.

Tabel 7. Hasil Uji Normalitas Kadar Senyawa Fenolik

Kelompok	Signifikan	Keterangan
Fraksi n-Heksan	0,788	Normal
Fraksi Etil Asetat	0,005	Tidak Normal
Fraksi Air	0,425	Normal

Tabel 8. Hasil Uji Homogenitas Kadar Senyawa Fenolik

Signifikan	Keterangan
0.030	Tidak Homogen

Data tersebut dilakukan analisis statistik menggunakan non parametrik (*Kruskal-Wallis*). *Kruskal-Wallis* merupakan uji statistik non parametrik yang digunakan untuk membandingkan sampel lebih dari dua kelompok. Kadar senyawa fenolik pada ketiga fraksi berbeda signifikan karena hasil dari *asympt sig* ($0,009 < 0,05$). Hasil uji statistika non parametrik *Kruskal-Wallis* dapat dilihat pada tabel 9 dan lampiran 31.

Tabel 9. Hasil Uji Non Parametrik Kruskal Wallis

Signifikan	Keterangan
0,009	Berbeda signifikan

Perbedaan tiap kelompok ditentukan dengan *Mann-Whitney*, dimana fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat berbeda signifikan dilihat dari (*asym sig(2-tailed)*) $< 0,025$. Fraksi n-Heksan dan fraksi air berbeda tidak signifikan karena nilai (*asym sig(2-tailed)*) $> 0,025$. Fraksi etil asetat dan fraksi air berbeda signifikan karena nilai (*asym sig (2-tailed)*) $< 0,025$. Kandungan senyawa fenol paling tinggi terdapat pada fraksi etil asetat. Ini membuktikan bahwa fraksinasi menggunakan etil asetat lebih baik dalam menarik senyawa fenolik pada kulit buah rambutan binjai. Hasil uji statistika *Mann-Whitney* untuk mengetahui perbedaan tiap kelompok dapat dilihat pada tabel 10 dan lampiran 31.

Tabel 10. Hasil Uji Man-Whitney

Kelompok	Signifikan	Keterangan
Fraksi n-Heksan vs Fraksi Etil Asetat	0,009	Berbeda signifikan
Fraksi n-Heksan vs Fraksi Air	0,754	Berbeda tidak signifikan
Fraksi Etil Asetat vs Air	0,009	Berbeda signifikan

Uji aktivitas antibakteri dilakukan pada fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan air kulit buah rambutan binjai. Tahap awal sebelum dilakukan pengujian yaitu tahap peremajaan bakteri. Tahap peremajaan bakteri ini adalah proses memindahkan bakteri dari media lama ke media yang baru. Proses peremajaan ini bertujuan untuk mendapatkan biakan bakteri yang baru, yang diharapkan memiliki metabolisme sel bakteri yang optimal. Tahap selanjutnya adalah pembuatan suspensi bakteri uji dari hasil peremajaan bakteri. Suspensi bakteri yang telah dibuat kemudian diukur kekeruhannya. Kekeruhan bakteri yang diperoleh

disetarakan dengan standar $\frac{1}{2}$ Mc Farland yaitu setara dengan jumlah pertumbuhan $1,5 \times 10^8$ CFU/mL. Metode yang digunakan pada uji aktivitas antibakteri adalah difusi sumuran. Prinsip dari metode ini adalah mendifusikan senyawa bakteri ke dalam media melalui lubang sumuran (Cahyani dkk, 2017). Metode ini dipilih karena memiliki beberapa kelebihan yaitu cepat, mudah, dan sumuran dapat menampung volume sampel uji lebih banyak, diharapkan lebih banyak senyawa aktif dalam sampel yang berdifusi ke media sehingga daya antibakteri yang dihasilkan lebih optimal.

Media yang digunakan dalam pengujian antibakteri adalah media MSA (*Manitol Salt Agar*). Media MSA merupakan media selektif untuk pertumbuhan bakteri Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*. Media MSA mengandung *manitol* dan indikator *phenol red*. Adanya bakteri Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* akan memfermentasi manitol menghasilkan asam yang mengubah indikator *phenol red* menjadi warna kuning.

Sebelum media digunakan, dilakukan uji sterilitas yang bertujuan untuk mengetahui bahwa media benar-benar dalam keadaan steril atau bebas dari cemaran mikroba. Uji fertilitas media diperlukan dengan tujuan untuk mengetahui bahwa bakteri Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* dapat tumbuh pada media yang digunakan. Hasilnya adalah bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* tumbuh pada media tersebut. Uji resisten dilakukan untuk mengetahui kepekaan bakteri terhadap antibiotik. Antibiotik yang digunakan pada uji resistensi yaitu tetrasiklin, amoksisilin, kloramfenikol, siprofloksasin, dan DMSO. Hasil uji resistensi menunjukkan bahwa bakteri yang digunakan telah

mengalami resistensi terhadap antibiotik tetrasiklin, amoksisilin, dan kloramfenikol.

Tabel 11. Hasil Uji Resistansi Bakteri MRSA

No	Bahan Uji	Gambar	Keterangan
1.	Tetrasiklin		Mengalami Resistensi
2.	Amoksisilin		Mengalami Resistensi
3.	Kloramfenikol		Mengalami Resistensi
4.	Siprofloksasin		Memberikan zona hambat
5.	DMSO		Tidak memberikan zona hambat

Setelah dilakukan uji resistensi, dilanjutkan dengan uji aktivitas antibakteri fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan air kulit buah rambutan binjai terhadap bakteri Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). Suspensi bakteri Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* diukur absorbansinya dan disetarakan dengan nilai absorbansi standar $\frac{1}{2}$ Mc Farland yaitu $1,5 \times 10^8$ CFU/mL dengan nilai absorbansi sebesar 0,08-0,1 pada panjang gelombang 625 nm (Nuria dkk., 2009). Penanaman suspensi bakteri menggunakan metode *pour plate* sehingga bakteri yang ditambahkan ke dalam media dapat berdifusi merata pada seluruh media.

Pengujian antibakteri fraksi kulit buah rambutan binjai, menggunakan kontrol positif siprofloksasin. Siprofloksasin merupakan antibiotik derivat siklopropil dari kelompok fluorokuinolon. Mekanisme kerja siprofloksasin yakni dengan menghambat DNA girase (topoisomerase II dan IV) yang terdapat dalam bakteri. Penghambatan terhadap enzim yang terlibat dalam replikasi DNA tersebut mengakibatkan penghambatan terhadap pertumbuhan sel bakteri. Selain itu

siprofloksasin memiliki efek antimikroba yang luas dan resistensi mikroba tidak cepat berkembang (Mycek dkk, 2011). Spektrum aktifitas antimikroba siprofloksasin pada bakteri gram positif bersifat moderat, untuk bakteri gram negatif bersifat kuat, sedangkan untuk bakteri anaerob bersifat lemah (Jawetz dkk., 2005). Kontrol positif berfungsi sebagai pembanding untuk mengetahui aktivitas antibakteri fraksi kulit buah rambutan binjai.

Pembuatan konsentrasi fraksi kulit buah rambutan binjai untuk uji antibakteri dilarutkan menggunakan DMSO (*Dimethyl Sulphoxide*), sehingga kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO. DMSO dipilih karena mampu melarutkan senyawa yang bersifat polar maupun nonpolar dan tidak bersifat bakteristatik (Reynolds, 1996). DMSO tidak memberikan efek antibakteri atau tidak bersifat bakteristatik sehingga aktivitas antibakteri yang bekerja bukan pengaruh dari pelarutnya tetapi karena senyawa aktif yang terkandung dalam sampel, selain itu DMSO juga dapat membantu fraksi agar dapat berdifusi dengan baik pada media agar, dengan demikian diharapkan kerja senyawa antibakteri menjadi lebih maksimal. Tujuan digunakan kontrol negatif yaitu untuk membuktikan zona bening yang terbentuk tidak dipengaruhi oleh pelarut melainkan karena aktivitas senyawa tanaman.

Penentuan fraksi yang memiliki zona hambat terbesar dari kulit buah rambutan binjai dengan melakukan orientasi terhadap masing-masing fraksi pada konsentrasi 3%. Fraksi n-heksan, etil asetat dan air diuji daya antibakteri terhadap bakteri Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*, dapat dilihat pada Tabel 12.

Tabel 12. Hasil Orientasi Fraksi n-Heksan, Etil Asetat dan Air Kulit Buah Rambutan Binjai Terhadap Bakteri Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*

Fraksi	Rerata Diameter Zona Hambat (cm)
	3%
n-Heksan	0,7175
Etil Asetat	0,805
Air	0,765

Hasil orientasi didapatkan bahwa fraksi etil asetat memberikan zona hambat paling besar, yaitu 0,805 cm. Fraksi etil asetat menghasilkan aktivitas antibakteri yang paling besar pada bakteri Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*, dimana fraksi tersebut juga memiliki kadar senyawa fenolik yang paling tinggi dibandingkan dengan fraksi n-heksan dan air. Selanjutnya fraksi kulit buah rambutan binjai dilakukan pengujian aktivitas antibakteri terhadap bakteri Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* dengan deret konsentrasi 1%, 3% dan 5%. Hasil dapat dilihat pada Tabel 13.

Tabel 13. Hasil Replikasi Uji Daya Antibakteri Fraksi Etil Asetat Kulit Buah Rambutan Binjai

Replikasi	Rerata Diameter Zona Hambat (cm)				
	1%	3%	5%	k+	k-
1	0,7175	0,765	0,8975	2,7025	0,000
2	0,6575	0,760	0,825	3,19	0,000
3	0,725	0,7175	0,8275	2,6125	0,000
4	0,775	0,78	0,9025	2,865	0,000
5	0,6025	0,8675	0,9000	2,685	0,000
Rata-rata	0,6955	0,778	0,8705	2,811	0,000
SD	0,0664	0,0551	0,0404	0,2310	0,000

Tabel 13 menunjukkan bahwa fraksi etil asetat dengan konsentrasi 5% mempunyai diameter zona bening yang paling besar. Semakin besar konsentrasi

maka semakin besar diameter zona bening yang terbentuk, semakin besar konsentrasi maka semakin kuat efek yang diuji. Besarnya diameter zona bening yang terbentuk dipengaruhi oleh besar kecilnya konsentrasi senyawa atau zat aktif yang terkandung di dalam fraksi tersebut (Purwanto, 2015). Dilihat dari diameter zona bening yang dihasilkan pada tiap fraksi dalam uji aktivitas antibakteri terjadi perbedaan. Perbedaan diameter zona bening ini diduga karena bakteri mengalami mekanisme resistensi non genetik yaitu bakteri dalam keadaan inaktiv. Apabila bakteri berubah menjadi aktif kembali, maka bakteri kembali bersifat sensitif terhadap antibakteri seperti semula. Perbedaan zona bening juga dipengaruhi oleh tingkat sensitifitas dari organisme uji, medium kultur, kondisi inkubasi, kecepatan difusi dari senyawa antibakteri dan konsentrasi senyawa antibakteri (Mukhlasih, 2010).

Fraksi etil asetat kulit buah rambutan binjai mengandung metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antibakteri yaitu flavonoid, saponin, tanin, fenolik, alkaloid, triterpenoid/steroid dibuktikan juga dengan hasil positif pada skrining dan KLT. Fraksi etil asetat memiliki kadar senyawa fenolik tertinggi dibandingkan dengan fraksi n-heksan dan fraksi air serta kemampuannya dalam menghambat bakteri ditunjukkan dengan adanya zona bening. Senyawa fenol ini memiliki mekanisme kerja dengan merusak struktur sel bakteri dan menghambat proses pembentukan dinding sel bakteri (Susanti, 2006). Mekanisme kerja senyawa antibakteri memang bervariasi dan kompleks, selain rusaknya dinding sel bakteri, kemampuan senyawa fenol untuk mendenaturasi protein juga dapat menjadi penyebab matinya sel. Sebagian struktur membran sitoplasma bakteri

mengandung protein dan lemak. Ketidak stabilan pada dinding sel dan membran sitoplasma menyebabkan fungsi permeabilitas selektif, fungsi pengangkutan aktif, pengendalian susunan sel bakteri menjadi terganggu. Gangguan pada sitoplasma bakteri ini berakibat pada lolosnya makromolekul dan ion dari sel. Sel bakteri menjadi kehilangan bentuk dan terjadi lisis (Silva dan Junior, 2010). Hasil penelitian (Vaquero dkk., 2007) menunjukkan bahwa senyawa fenol murni diantaranya *gallic acid*, *cafeic acid* dan *quercetin* yang diuji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* ATCC 29213 menghasilkan diameter hambat sebesar 2-3 mm pada konsentrasi 25 ppm hingga 100 ppm dan membentuk diameter zona hambat sebesar 4-5 mm pada konsentrasi 1000 ppm.

Konsentrasi fraksi etil asetat kulit buah rambutan binjai 1%, 3% dan 5% telah menunjukkan aktivitas antibakteri, karena pada konsentrasi rendah sudah mampu melakukan penetrasi kedalam sel untuk menghambat pertumbuhan bakteri Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*. Kandungan fenol pada konsentrasi rendah mampu membentuk ikatan kompleks protein dan fenol yang diikuti penetrasi fenol ke dalam sel dan menyebabkan presipitasi serta denaturasi protein sehingga menginaktifkan sistem enzim penting dalam sel bakteri. Sedangkan pada konsentrasi tinggi fenol mampu menembus dan mengganggu dinding sel bakteri dan mempresipitasi protein dalam sel bakteri. Selain itu fenol dapat menyebabkan koagulasi protein, menyebabkan koagulasi protein, mengubah permeabilitas membran bakteri dan akhirnya sel membran mengalami lisis (mati) (Oliver dkk., 2001).

Jika dikaitkan dengan ketentuan kriteria aktivitas daya hambat yang dikemukakan oleh David dan Stout (1971) dalam Rita (2010) zona hambat yang terbentuk ≥ 20 mm dianggap memiliki aktivitas daya hambat sangat kuat, 10-20 mm dinyatakan memiliki aktivitas daya hambat kuat, 5-10 mm dinyatakan memiliki aktivitas daya hambat sedang dan ≤ 5 mm dinyatakan memiliki aktivitas daya hambat lemah. Kriteria aktivitas daya hambat dari fraksi etil asetat kulit buah rambutan binjai pada konsentrasi 1%, 3%, dan 5% dianggap memiliki aktivitas daya hambat sedang karena zona hambat yang dihasilkan diantara 5-10 mm.

Mekanisme kerja antibakteri senyawa flavonoid adalah membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan ke luarnya intraseluler. Menurut Gunawan (2008), aktivitas biologis senyawa flavonoid terhadap bakteri dengan merusak dinding sel dari bakteri yang terdiri atas senyawa lipid dan asam amino yang akan bereaksi dengan gugus fenol pada flavonoid sehingga dinding sel akan rusak dan senyawa tersebut dapat masuk ke dalam inti sel bakteri. Selanjutnya akan bereaksi dengan protein melalui ikatan hidrogen dengan gugus fenol pada senyawa flavonoid sehingga akan merusak struktur protein yang mengakibatkan bakteri mengalami lisis.

Mekanisme kerja antibakteri senyawa saponin disebabkan karena saponin mempunyai sifat seperti sabun yang merupakan senyawa aktif permukaan yang kuat, sehingga dapat menurunkan tegangan permukaan dan mengakibatkan naiknya permeabilitas membran atau kebocoran sel, mengakibatkan senyawa

intraseluler dan akan ke luar dan mengakibatkan kematian sel (Cavalieri, 2005). Mekanisme kerja antibakteri senyawa tanin yaitu dengan mengkerutkan dinding sel sehingga mengganggu permeabilitas dinding sel bakteri itu sendiri, akibat terganggunya permeabilitas, sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati (Juliantina dkk., 2009).

Mekanisme kerja antibakteri senyawa triterpenoid adalah bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membrane luar dinding sel bakteri dan membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga merusak protein. Porin tersebut merupakan pintu keluar masuknya senyawa, dan jika rusak maka akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri dan akibatnya sel bakteri kekurangan nutrisi sehingga pertumbuhan bakteri terhambat dan bahkan mati (Rachmawati dkk., 2011).

Data diameter zona bening yang telah diperoleh kemudian diuji statistika menggunakan SPSS (*Statistical Product and Service Solution*). Uji statistika bertujuan untuk mengetahui pengaruh perbedaan antar konsentrasi pada fraksi etil asetat kulit buah rambutan binjai terhadap pertumbuhan bakteri Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*. Berdasarkan hasil uji normalitas diketahui dari hasil *Shapiro-Wilk* $> 0,05$ maka dapat dikatakan bahwa data diameter zona bening pada masing-masing kelompok berdistribusi normal. Hasil uji homogenitas diketahui dari hasil *Base of mean* yang diperoleh $> 0,05$ sehingga dapat disimpulkan bahwa data diameter zona bening pada masing-masing kelompok bersifat homogen. Hasil uji normalitas dan homogenitas dapat dilihat pada lampiran 30.

Data yang telah berdistribusi normal dan homogen selanjutnya diuji dengan *one way anova* untuk mengetahui perbedaan aktivitas antibakteri antar kelompok uji. Langkah selanjutnya untuk mengetahui konsentrasi mana saja yang memiliki perbedaan signifikan, maka perlu dilanjutkan dengan uji pasca anava LSD. Hasil uji pasca anava dapat dilihat pada tabel 14.

Tabel 14. Hasil Uji Pasca Anava Fraksi Etil Asetat Kulit Buah Rambutan Binjai

Konsentrasi	Signifikan	Kesimpulan
1% vs 3%	0,009	Berbeda signifikan
vs 5%	0,000	Berbeda signifikan
vs K+	0,000	Berbeda signifikan
3% vs 5%	0,007	Berbeda signifikan
vs K+	0,000	Berbeda signifikan
5% vs K+	0,000	Berbeda signifikan

Berdasarkan tabel 14 dapat dikatakan bahwa aktivitas antibakteri fraksi etil asetat pada konsentrasi 1%, 3%, dan 5% memiliki perbedaan yang signifikan antar konsentrasi dilihat dari nilai signifikan $< 0,05$. Masing-masing kelompok uji dan kontrol positif memberikan aktivitas antibakteri yang berbeda. Semakin tinggi konsentrasi fraksi etil asetat kulit buah rambutan binjai maka akan semakin besar zona hambatnya. Namun aktivitas antibakteri pada fraksi etil asetat kulit buah rambutan binjai konsentrasi 1%, 3%, dan 5% belum dapat memberikan aktivitas antibakteri yang sama dengan kontrol positif.

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

1. Kadar senyawa fenolik pada fraksi n-heksan, etil asetat, dan air kulit buah rambutan binjai (*Nephelium lappaceum* L.) berturut-turut sebesar 19, 95158 mg GAE/g sampel, 58,9238 mg GAE/g sampel, dan 18,76236 mg GAE/g sampel.
2. Fraksi yang memiliki kadar senyawa fenolik tertinggi pada fraksi etil asetat dengan kadar 58,9238 mg GAE/g sampel.
3. Ada perbedaan aktivitas antibakteri fraksi etil asetat kulit buah rambutan binjai (*Nephelium lappaceum* L.) terhadap pertumbuhan bakteri Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*, aktivitas ditunjukkan dengan diameter zona bening konsentrasi 1% sebesar 0,6955 cm, konsentrasi 3% sebesar 0,778 dan konsentrasi 5% sebesar 0,8705 cm.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan pengukuran kadar senyawa golongan lain seperti flavonoid yang terkandung dalam fraksi n-heksan, etil asetat dan air kulit buah rambutan binjai dengan KLT-Densitometer.
2. Perlu dilakukan penelitian aktivitas antibakteri terhadap bakteri lainnya dan antijamur fraksi aktif kulit buah rambutan binjai.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdul, R., 2009. *Kromatografi Untuk Analisis Obat*. I ed. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Agatonovic-Kustrin, S., Kustrin, E., Gegechkori, V., dan Morton, D.W. 2019. High-performance thin-layer chromatography hyphenated with microchemical and biochemical derivatizations in bioactivity profiling of marine species. *Marine Drugs*, **17**: 1–14.
- Agustina W, Nurhamidah, dan D.H. 2017. Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Beberapa Fraksi dari Kulit Banteng Jarak (*Ricinus communis* L.). *Jurnal Pendidikan dan Ilmu Kimia*, **1**: 117–122.
- Ahmad, A., Juwita, Ratulangi, S.A., dan Malik, A. 2015. Penetapan Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Ekstrak Metanol Buah dan Daun Patikala (*Etlintera elatior* (Jack) R.M.SM). *Pharmaceutical Sciences and Research*, **2**: 1–10.
- AL Zahrani, N.A., El-Shishtawy, R.M., dan Asiri, A.M. 2020. Recent developments of gallic acid derivatives and their hybrids in medicinal chemistry: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, .
- Andarwulan, Nuri dan Faradilla, R.F. 2012. *Senyawa Fenolik Pada Beberapa Sayuran Indigenous Dari Indonesia*, Seafast Center.
- Ardhany, S.D., Anugrah, R.O., dan Harum, Y. 2016. Tingkat Pengetahuan Masyarakat Desa Basawang Antibiotik Sebagai Pengobatan Infeksi. *Rakernas dan Pertemuan Ilmiah Tahunan Ikatan Apoteker Indonesia 2016*, 162–167.
- Atlas, R. 2004. *Handbook of Microbiological Media Jilid 4*. CRC Press.
- Badhani, B., Sharma, N., dan Kakkar, R. 2015. Gallic acid: A versatile antioxidant with promising therapeutic and industrial applications. *Royal Society of Chemistry Advances*, **5**: 27540–27557.
- Cappucino, J.. dan Sherman, N. 2013. *Manual Laboratorium Mikrobiologi*. Buku Kedokteran EGC.
- Chen, C. dan Huang, Y. 2014. New epidemiology of *Staphylococcus aureus* infection in Asia. *European Society of Clinical Infectious Diseases*, **20**: 605–623.

- Daud Fajar Mohammad, Sadiyah R. Esti, R.E. 2011. PENGARUH PERBEDAAN METODE EKSTRAKSI TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava* L .) BERDAGING BUAH PUTIH. *prosiding SNaPP2011 Sains, Teknologi, dan Kesehatan*, 2: 55–62.
- Day, R.A. dan Underwood, A.L. 1986. *Analisa Kimia Kuantitatif*. Erlangga.
- Departemen Kesehatan, R. 1995. *Farmakope Indonesia Edisi IV 1995*. Depkes RI.
- Departemen Kesehatan RI. 1979. *Farmakope Indonesia Edisi 3 1979*. Depkes RI.
- Departemen Kesehatan RI. 1986. *Sediaan Galenik*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan RI. 2014. *Farmakope Indonesia Edisi V 2014 Buku 1*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Dwidjoseputro, D. 1998. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Djambatan.
- Fatimah, S.F., Aisyah, V., dan Nurani, L.H. 2018. Validasi Metode Analisis β -Karoten Dalam Ekstrak Etanol 96% *Spirulina maxima* Dengan Spektrofotometri Visibel. *Media Farmasi: Jurnal Ilmu Farmasi*, 15: 1–13.
- Fernandes, F.H.A. dan Salgado, H.R.N. 2016. Gallic Acid: Review of the Methods of Determination and Quantification. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 46: 257–265.
- Gandjar, I. dan Rohman, A. 2008. *Kimia Farmasi Analisis*. Pustaka Pelajar.
- Hanani, E. 2015a. *Analisis Fitokimia*, Egc.
- Hanani, E. 2015b. *Analisis Fitokimia*. Buku Kedokteran EGC.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. ITB Bandung.
- Hardman, J. dan Limbird, L.. 2007. *Goodman & Gilman : Dasar Farmakologi Terapi Vol.1*. Buku Kedokteran EGC.
- Hastowo, S. dan Lay, B.. 1992. *Mikrobiologi*. Rajawali Pers.
- Ibrahim. 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Dari Penjangan Pangi Pada Bakteri Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Skripsi*, .

- Ibrahim, R.S., Khairy, A., Zaatout, H.H., Hammada, H.M., dan Metwally, A.M. 2018. Digitally-optimized HPTLC Coupled with Image Analysis for Pursuing Polyphenolic and Antioxidant Profile during Alfalfa Sprouting. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, **1099**: 92–96.
- Iwansyah, A.C., Yusoff, M., Batista, A.N. d. L., Colombo, R., de Pascoli, I.C., Teles, H.L., dkk. 2013. Identifikasi dan Kuantifikasi Asam Galat sebagai Sumber Antioksidan pada Ekstrak Daun Kacip Fatimah E (Labisia pumila var. alata) Larut Air. *International Journal of ChemTech Research*, **2**: 1486–1493.
- Juliantina, F., Citra, D., Nirwani, B., Nurmasitoh, T., dan Bowo, E. 2009. Manfaat Sirih Merah (Piper Crocatum) sebagai Agen Anti Bakterial Terhadap Bakteri Gram Positif Dan Bakteri Gram Negatif. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*, **1**: 12–20.
- Kar, A. 2013. *Farmakognosi & Farmakobioteknologi Volume 3*. Buku Kedokteran EGC.
- Khoddami, A., Wilkes, M., dan Roberts, T.. 2013. Techniques for analysis of plant phenolic compounds. *Molecules*, **18**: 2328–2375.
- Kristanti;, A.N. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Airlangga University Press.
- Kurniawati, E. 2015. Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Tunas Bambu Apus Terhadap Bakteri Escherichia Coli dan Staphylococcus Aureus Secara In Vitro. *Jurnal Wiyata*, .
- Kusumaningrum, Y.N. 2012. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Rambutan (Nephelium lappaceum) TERHADAP Staphylococcus aureus & Escherichia coli. *Jurnal Skripsi*, 1–40.
- Lattanzio, V. 2013. *Phenolic Compounds : Introduction*, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.
- Luis Aleixandre-Tudo, J. dan du Toit, W. 2019. The Role of UV-Visible Spectroscopy for Phenolic Compounds Quantification in Winemaking. *Frontiers and New Trends in the Science of Fermented Food and Beverages*, 1–21.
- Lydia, Widjanarko, S., dan Susanto, T. 2001. Ekstraksi dan karakterisasi pigmen (lappaceum) var. binjai. *Teknologi Pangan dan Gizi*, **2**: 1–16.
- Marjoni, R. 2016. Dasar-Dasar Fitokimia. *Trans Info Media*, .
- Markham;, K.R.M.K.R.M.K.R.M.K.R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. ITB Bandung.

- Marliana, S.D., Suryanti, V., dan Suyono. 2005. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq . Swartz .) dalam Ekstrak Etanol The phytochemical screenings and thin layer chromatography analysis of. *Biofarmasi*, 3: 26–31.
- Muhtadi, Hidayati, A.L., Suhendi, A., dan Sudjono, T.A. 2014. Kulit Buah Asli Indonesia Dengan Metode Ftc K-50 K-51. *Simposium Nasional RAPI XIII - 2014 FT UMS*, 50–58.
- Nurani, L.W., Soleha, T.U., dan Ramadhian, M.R. 2018. Potensi 7-O-Butylnaringenin sebagai Antibakteri pada Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Antibacterial Potential of 7-O-Butylnaringenin AgainstMethicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Majority*, 7: 182–186.
- Nuria, M.C., Faizatun, A., dan Sumantri. 2009. UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN JARAK PAGAR (*Jatropha curcas* L) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, Dan *Salmonella typhi* ATCC 1408. *Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian*, 5: 26–37.
- Nurwidyawati, A. 2018. UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL, FRAKSI n-HEKSAN, ETIL ASETAT DAN AIR KULIT BUAH RAMBUTAN (*Nephelium lappaceum* L.) TERHADAP PERTUMBUHAN *Streptococcus mutans*. *Jurnal Skripsi*, 1–10.
- Oliver, S.P., Gillespie, B.E., Lewis, M.J., Ivey, S.J., Almeida, R.A., Luther, D.A., dkk. 2001. Efficacy of a new premilking teat disinfectant containing a phenolic combination for the prevention of mastitis. *Journal of Dairy Science*, 84: 1545–1549.
- Orsini, F., Vovk, I., Glavnik, V., Jug, U., dan Corradini, D. 2019. HPTLC, HPTLC-MS/MS and HPTLC-DPPH Methods for Analyses of Flavonoids and their Antioxidant Activity in *Cyclanthera pedata* Leaves, Fruits and Dietary Supplement. *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies*, 42: 290–301.
- Pambudi, I.. 2016. Pengaruh Masker Biji Rambutan Terhadap Tingkat. *Skripsi*, .
- Prasetio, Barliana, dan I, M. 2016. Farmaka Farmaka. *Farmaka*, 14: 53–61.
- Prasetyo, Y.E., Sangi, M.S., dan Wuntu, A.D. 2016. PENENTUAN TOTAL FENOLIK DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI ETIL ASETAT DARI TEPUNG PELEPAH AREN (*Arenga pinnata*). *Jurnal Ilmiah Sains*, 16: 68.
- Pratiwi, S.. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Erlangga Medical Series.

- Purwantiningsih, T.I., Suranindyah, Y.Y., dan (Widodo), W. 2014. AKTIVITAS SENYAWA FENOL DALAM BUAH MENKUDU (*Morinda citrifolia*) SEBAGAI ANTIBAKTERI ALAMI UNTUK PENGHAMBATAN BAKTERI PENYEBAB MASTITIS. *Buletin Peternakan*, **38**: 59.
- Purwanto, S. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Aktif Ekstrak Daun Senggani (*Melastoma Malabathricum* L) terhadap *Escherichia Coli*. *Jurnal Keperawatan Sriwijaya*, **2**: 84–92.
- Rachmawati, F., Nuria, M.C., dan Sumantri. 2011. UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI KLOOROFORM EKSTRAK ETANOL PEGAGAN (*Centella asiatica* (L) Urb) SERTA IDENTIFIKASI SENYAWA AKTIFNYA. *e-Publikasi Fakultas Farmasi*, 7–13.
- Rahmadeni, Y., Febria, F.A., dan Bakhtiar, A. 2019. Potensi Pakih Sipasan (*Blechnum orientale*) sebagai Antibakteri Terhadap *Staphylococcus aureus* dan Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*. *Metamorfosa: Journal of Biological Sciences*, **6**: 224.
- Ramadhani, M.A., Hati, A.K., Lukitasari, N.F., dan Jusman, A.H. 2020. Skrining Fitokimia dan Penetapan Kadar Flavonoid Total serta Fenolik Total Ekstrak Daun Insulin (*Tithonia diversifolia*) dengan Maserasi Menggunakan Pelarut Etanol 96%. *Indonesian Journal of Pharmacy and Natural Product*, .
- Reynolds, J.E.. 1996. *Martindale The Extra Pharmacopoeia Twenty-Eight Edition*. Royal Pharmaceutical Society.
- Robinson, T. 1991. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. ITB Bandung.
- Rochmasari, Y. 2013. Studi Isolasi Dan Penentuan Struktur Molekul Senyawa Kimia Dalam Fraksi Netral Daun Jambu Biji Australia (*Psidium guajava* L.). *Jurnal skripsi*, **02**: 15–20.
- Rollando dan Monica, E. 2018. Penetapan Kandungan Fenolik Total Dan Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Air Ekstrak Metanol Kulit Batang Faloak (*Sterculia Quadrifida* R.Br). *Scientia : Jurnal Farmasi dan Kesehatan*, **8**: 30.
- Rostinawati, T., Tjitraresmi, A., dan Wisnuputri, M.V. 2018a. In vitro Activity of Rambutan Binjai (*Nephelium lappaceum*) Peel Extract from Indonesia to Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) 197–203.
- Rostinawati, T., Tjitraresmi, A., dan Wisnuputri, M.V. 2018b. In vitro activity of Rambutan Binjai (*Nephelium lappaceum*) peel extract from Indonesia to methicillin-resistant *staphylococcus aureus* (MRSA). *Dhaka University Journal of Pharmaceutical Sciences*, **17**: 197–203.

- Sani, R.N., Nisa, F.C., Andriani, R.D., dan Maligan, J.M. 2014. ANALISIS RENDEMEN DAN SKRINING FITOKIMIA EKSTRAK ETANOL MIKROALGA LAUT *Tetraselmis chuii* Yield Analysis and Phytochemical Screening Ethanol Extract of Marine Microalgae *Tetraselmis chuii*. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, **2**: 121–126.
- Sarker, S.D., Latif, Z., dan Gray, A. 2005. *Natural Product Isolation 2nd Edition*, Humana press.
- Savitri, A. dan Megantara, S. 2019. METODE KLT-DENSITOMETRI SEBAGAI PENETAPAN KADAR BAHAN AKTIF SEDIAAN FARMASI. *Farmaka*, **17**: 455–463.
- Selvia, W.R., Mulyanti, D., dan Fitriyaningsih, S.P. 2015. Formulasi Sediaan Gel Handsanitizer Ekstrak Kulit Buah Rambutan (*Nephelium lappaceum* L .) serta Uji Aktivitasnya terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Prosiding KNMSA*, .
- Siswandono. 2016. *Kimia Medisinal*. Airlangga University Press.
- Stanek, N. dan Jasicka-Misiak, I. 2018. HPTLC Phenolic Profiles as Useful Tools for the Authentication of Honey. *Food Analytical Methods*, **11**: 2979–2989.
- Sudjadi. 1986. *Metode Pemisahan*. Kanisius.
- Sudjadi dan Rohman, A. 2004. *Analisis Obat Dan Makanan*. Pustaka Pelajar.
- Sukandar, E.Y. 2013. *ISO Farmakoterapi Buku 1*. PT. ISFI Penerbitan.
- Suputri, Y.D., Ananto, A.D., dan Andayani, Y. 2021. Analisis Kualitatif Kandungan Fenolik dalam Fraksi Etil Asetat dan Fraksi Metanol dari Ekstrak Kulit Jagung (*Zea mays* L.). *Lambung Farmasi: Jurnal Ilmu Kefarmasian*, **2**: 109.
- Swantara, I.M.D., Rachman, R.F., dan Puspawati, N.M. 2017. AKTIVITAS ANTIPIRETIK EKSTRAK ETANOL KULIT BUAH RAMBUTAN (*Nephelium lappaceum* L) SECARA IN VIVO DAN KANDUNGAN FENOLIK TOTALNYA. *Jurnal Kimia*, 107.
- Sweetman, S.. 2009. *Martindale The Complete Drug Reference*. Pharmaceutical Press.
- Syamsuni. 2005. *Farmasetika Dasar Dan Hitungan Farmasi*. Buku Kedokteran EGC.

- Syarif, R.A., Sari, F., dan Ahmad, A.R. 2010. RIMPANG KECOMBRANG (*Etlingera elatior* Jack.) SEBAGAI SUMBER FENOLIK. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, **2**: 102–106.
- Vaquero, M.J.R., Alberto, M.R., dan de Nadra, M.C.M. 2007. Antibacterial effect of phenolic compounds from different wines. *Food Control*, **18**: 93–101.
- Verma, S.C., Nigam, S., Jain, C.L., Pant, P., Padhi, M.M., Delhi, N., dkk. 2011. Microwave-assisted extraction of gallic acid in leaves of *Eucalyptus x hybrida* Maiden and its quantitative determination by HPTLC. *Der Chemica Sinica*, **2**: 268–277.
- Waluyo, L. 2008. *Teknik Dan Metode Dasar Dalam Mikrobiologi*. UMM Press.
- Wulandari, L. 2011a. *Kromatografi Lapis Tipis*, Taman Kampus Presindo.
- Wulandari, L. 2011b. *Kromatografi Lapis Tipis*, Taman Kampus Presindo.

Lampiran 1. Surat Determinasi



SEKOLAH TINGGI ILMU FARMASI "YAYASAN PHARMASI" PUSAT LABORATORIUM

Jalan Letnan Jendral Sarwo Edie Wibowo Km. 1 Plamongsari - Pucanggading - Semarang - 50193

Telepon : 024 - 6706147 ; 6725272 ; Faksimile : 024 - 6706148

Email : stifar_yaphar@yahoo.com

stifar_yaphar@hotmail.com

SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI

No : 1856/IS-LBF/ Stifar/S. Ket-Det/IX/ 2021

Bersama surat ini kami sampaikan hasil identifikasi dan determinasi tanaman yang digunakan untuk penelitian Sdr/ Sdri:

Nama : Intan Dwianing Pratiwi
NIM : 1041921010
Prodi : S1 Farmasi

Identifikasi umbuhan adalah sebagai berikut :

Divisio : Spermatophyta
Sub Divisio : Angiospermae
Classis : Dicotyledoneae
Ordo : Sapindales
Familia : Sapindaceae
Genus : Nephelium
Spesies : *Nephelium lappaceum* L.
Nama Indonesia : Rambutan

Kunci Determinasi : 1b, 2b, 3b, 4b, 12b, 13b, 14a, 15a (137) Sapindaceae, 1b, 2b, 4a, 5b, 7b, 8b, 9a, 10a, 11a, 12b, 19b, 20a (15) Nephelium L, 1a, 2b
Nephelium lappaceum L.

Literatur : Backer, C. A., Van Den Brink Jr, R. C. 1965. *Flora of Java* (Spermatophytes only). Vol 1. N. V. P. Noordhoff. Groningen – Netherlands

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Mengetahui,
Kepala Pusat Laboratorium



Apt. Erna Prasetyaningrum S. Farm., M. Sc.

Semarang, 17 September 2021

Pelaksana Determinasi

Indah Sulistyarni, M. Si

Lampiran 2. Surat Biakan Bakteri



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
FAKULTAS KEDOKTERAN
BAGIAN MIKROBIOLOGI

Jalan Prof. Sudarto, S.H.,
Tembalang, Semarang 50275
Tel. (024) 76928010/Faks (024) 76928011
www.fk.undip.ac.id | email: dean@fk.undip.ac.id

SERTIFIKAT

Nomor : /UN.7.5.4/Mikrobiologi/dok/3/2021
BIAKAN MURNI

Dengan ini kami menerangkan bahwa :

Nama : Arifah Alimatunnisa
NIM : 1041711017
Instansi : S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi "Yayasan Pharmasi Semarang

Telah menggunakan strain bakteri Methicillin Resisten *Staphylococcus aureus*, untuk keperluan penelitian, dengan judul "Uji Aktivitas Antibakteri dan Total Fenol Ekstrak Ethanol, Fraksinheskan, Fraksi Etil Asetat, dan Fraksi Air Daun Kari (*Murraya koenigii*) Terhadap Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*."

Bentuk : Biakan murni
Media inokulasi : Blood Agar (BA)
Pemeliharaan : Biakan dari BA dipindahkan seminggu sekali ke Blood Agar dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam
Penyimpanan : Biakan di BA disimpan pada suhu $\pm 4^{\circ}\text{C}$
Keterangan :

No.	Antibiotik	Kode	Diameter zona	Interpretasi
			(mm)	
1	Tetracycline	TE-30	0	R
2	Chloramphenicol	C-30	9	R
3	Erythromycin	E-15	25	S
4	Gentamicin	CN-10	0	R
5	Cefoxitin	FOX-30	0	R
6	Trimethoprim sulfamethoxazole	SXT-25	23	S

Semarang, 30 April 2021

Ketua Bagian Mikrobiologi

FK UNDIP

dr. Endang Sri Lestari, PhD

NIP. 19661016 199702 2 001

Lampiran 3. Surat *Ethical Approval*



SEKOLAH TINGGI ILMU FARMASI YAYASAN PHARMASI SEMARANG KOMITE ETIK PENELITIAN KESEHATAN (KEPK)

Jalan Letnan Jendral Sarwo Edie Wibowo Km. 1 Plamongsari - Pucanggading - Semarang - 50193
Telepon : 024 - 6706147 ; 6725272 ; Faksimile : 024 - 6706148
Email : kepkstifaryaphar@gmail.com
Website : www.stifar.ac.id

PERSETUJUAN ETIK ETHICAL APPROVAL

NOMOR : 276/AHW-SW/KEPK/STIFAR/EC/VII/2021

Yang bertanda tangan di bawah ini, Ketua Komite Etik Penelitian Kesehatan Stifar Yayasan Pharmasi Semarang, setelah dilaksanakan telaah, pembahasan dan penilaian, dengan ini memutuskan protokol penelitian yang berjudul :

The undersigned, Chairperson of the Stifar Yayasan Pharmasi Semarang Health Research Ethics Committee, after a thorough review, discussion, and assessment, hereby decides on a research protocol entitled :

PENETAPAN KADAR TOTAL FENOLIK FRAKSI KULIT BUAH RAMBUTAN BINJAI (*Nephelium lappaceum* L.) SECARA KLT DENSITOMETRI DAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI TERHADAP *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)

Ketua Peneliti : Intan Dwianing Pratiwi
Chief Researcher

Anggota : -
Member

Telah menyetujui protokol tersebut dan disetujui pelaksanaannya
Have agreed to the protocol and approved the implementer

Pada Akhir penelitian, laporan pelaksanaan penelitian harus diserahkan kepada KEPK Stifar Yayasan Pharmasi Semarang. Persetujuan ini berlaku selama 1 (satu) tahun setelah *Ethical Approval* dikeluarkan. Jika ada perubahan protokol dan /atau perpanjangan penelitian, harus mengajukan kembali permohonan kajian etik penelitian (amandemen protokol).

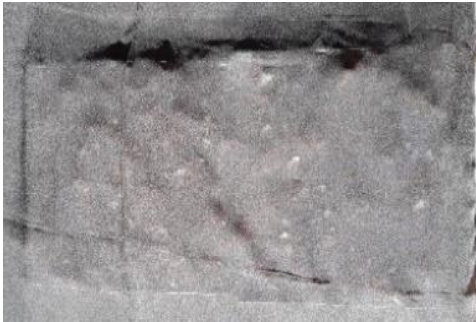
At the end of the study, a report on the implementation of the study must be submitted to KEPK Stifar Yayasan Pharmasi Semarang. This approval is valid for 1 (one) year after the Ethical Approval is issued. If there is a change in protocol and / or extension of research, you must re-submit a request for a study of research ethics (protocol amendment).

Semarang, 28 Juli 2021
Ketua Komite Etik Penelitian Kesehatan
Stifar Yayasan Pharmasi Semarang




Apt. A. Ariani Hesti Wulan S., M.Si.Med.

Lampiran 4. Tahapan Pembuatan Simplisia Kulit Buah Rambutan Binjai (*Nephelium lappaceum* L.)

No.	Tahapan	Gambar
1.	Pengumpulan bahan baku dan sortasi basah	
2.	Pencucian kulit buah dengan air yang mengalir	
3.	Perajangan kulit buah	
4.	Pengeringan kulit buah	

5.	Sortasi kering	
6.	Serbuk Kulit Buah Rambutan	

Lampiran 5. Proses Remaserasi dan Ekstrak Kental Kulit Buah Rambutan Binjai



Proses Perendaman Serbuk Kulit Buah Rambutan Binjai



Ekstrak Kental Kulit Buah Rambutan Binjai

Lampiran 6. Hasil Uji Bebas Etanol Ekstrak Kulit Buah Rambutan

Hasil Teoritis	Pereaksi	Hasil Penelitian	Hasil
Tercium bau ester	Asam sulfat + asam asetat glasial dipanaskan (Kurniawati, 2015)		Sampel tidak tercium bau ester (-)
Mengandung etanol bila berwarna jingga hingga hijau kebiruan	Asam sulfat + kalium dikromat 2% (Ramadhani dkk., 2020)		Sampel berwarna hitam (-)

Keterangan :

+ : Mengandung etanol

- : Bebas etanol

**Lampiran 7. Perhitungan Rendemen Ekstrak Kulit Buah Rambutan Binjai
(*Nephelium lappaceum* L.)**

B. plastik +Simplisia Basah (g)	Berat Plastik (g)	Berat Simplisia Basah (g)	Berat Simplisia Kering (g)	Berat Serbuk Simplisia (g)	Rendemen (%)
2035	35	2000	600	500	63,65%

Kadar Air yang Hilang:

$$\frac{\text{Berat simplisia basah} - \text{Berat simplisia kering}}{\text{Berat simplisia basah}} \times 100\%$$

$$= \frac{2000 \text{ g} - 600 \text{ g}}{2000 \text{ g}} \times 100\%$$

$$= 70\%$$

Kadar Air yang Tersisa :

$$\% = 100\% - \text{kadar air yang hilang}$$

$$= 100\% - 70\%$$

$$= 30\%$$

$$\text{Berat cawan + ekstrak kental} = 199,4800 \text{ g}$$

$$\text{Berat cawan kosong} = 72,1800 \text{ g} -$$

$$\text{Berat ekstrak kental} = 127,30 \text{ g}$$

Hasil Rendemen :

$$\frac{\text{Berat ekstrak kental}}{\text{Berat serbuk kering}} \times 100\%$$

$$= \frac{127,30 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 100\%$$

$$= 63,65\%$$

Lampiran 8. Proses Fraksinasi Kulit Buah Rambutan Binjai

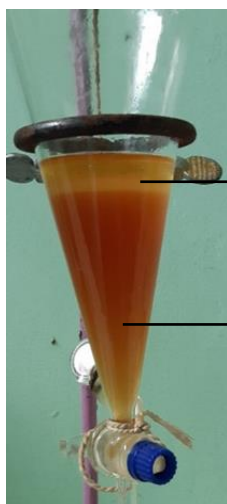


Fraksi n-heksan

Fraksi Air



Fraksi n-Heksan



Fraksi Etil Asetat

Fraksi Air



Fraksi Etil Asetat



Fraksi Air

Lampiran 9. Rendemen Hasil Fraksinasi

Berat cawan + fraksi *n*-heksan kental = 95,6301 g

Berat cawan kosong = $\frac{95,4081 \text{ g}}{\quad}$ –

Berat fraksi *n*-heksan kental = 0,2220 g

% Rendemen fraksi *n*-heksan = $\frac{\text{Berat fraksi } n\text{-heksan}}{\text{Berat ekstrak}} \times 100\%$

$$= \frac{0,2220 \text{ g}}{3 \text{ g}} \times 100\%$$

$$= 7,4\%$$

Berat cawan + fraksi etil asetat kental = 88,5381 g

Berat cawan kosong = $\frac{88,2553 \text{ g}}{\quad}$ –

Berat fraksi etil asetat kental = 0,2828 g

% Rendemen fraksi etil asetat = $\frac{\text{Berat fraksi etil asetat}}{\text{Berat ekstrak}} \times 100\%$

$$= \frac{0,2828 \text{ g}}{3 \text{ g}} \times 100\%$$

$$= 9,43\%$$

Berat cawan + fraksi air kental = 91,9485 g

Berat cawan kosong = $\frac{90,8823 \text{ g}}{\quad}$ –

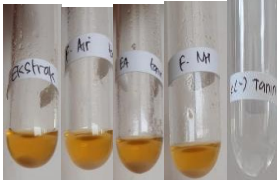
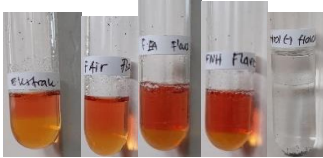
Berat fraksi air kental = 1,0665 g

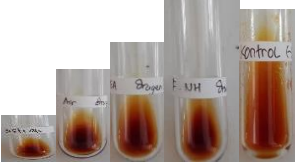
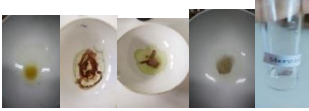
% Rendemen fraksi air = $\frac{\text{Berat fraksi air}}{\text{Berat ekstrak}} \times 100\%$

$$= \frac{1,0665 \text{ g}}{3 \text{ g}} \times 100\%$$

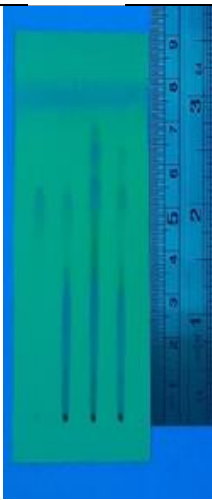
$$= 35,55\%$$

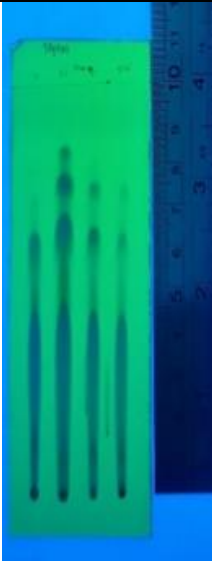
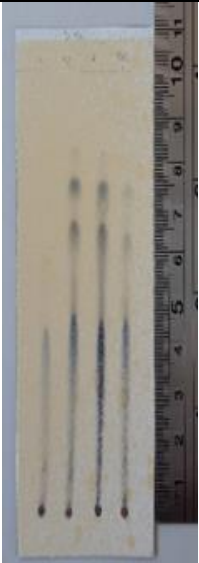
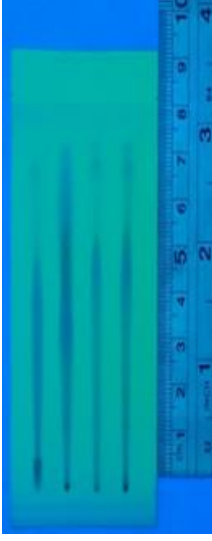
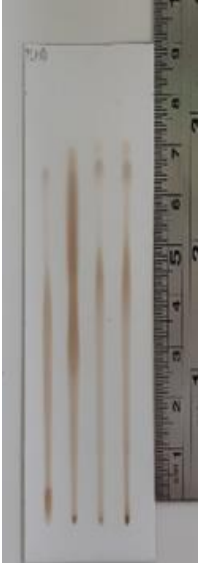
Lampiran 10. Hasil Screening Ekstrak Etanol, Fraksi n-Heksan, Etil Asetat dan Air Kulit Buah Rambutan Binjai

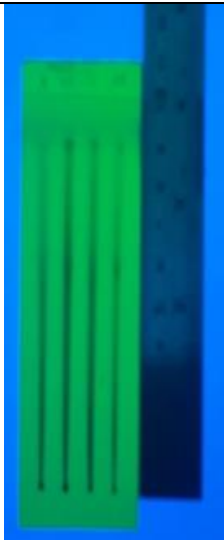
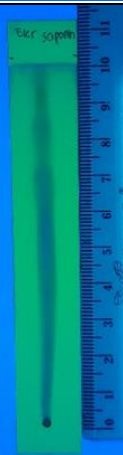
Uji Fitokimia	Hasil Teoritis	Pereaksi	Hasil	Keterangan
Fenolik	Terbentuk warna hijau, ungu, biru atau hitam (Agustina W, Nurhamidah, 2017)	FeCl ₃ 1%	 A B C D E	A. Ekstrak : warna hitam B. F. Air : biru kehitaman C. F. Etil Asetat : hijau kehitaman D. F. n-heksan : biru kehitaman E. Kontrol (-) : kuning
Kesimpulan				+
Tanin 1	Terbentuk warna biru tua atau hitam (Robinson, 1991)	FeCl ₃ 10%	 A B C D E	A. Ekstrak : warna hitam B. F. Air : hitam C. F. Etil Asetat : hitam D. F. n-heksan : hitam E. Kontrol (-) : kuning
Kesimpulan				+
Tanin 2	Terbentuk endapan putih (Robinson, 1991)	Sampel + NaCl 10% + Gelatin 0,5 %	 A B C D E	A. Ekstrak : endapan putih B. F. Air : endapan putih C. F. Etil Asetat : endapan putih D. F. n-heksan : endapan putih E. Kontrol (-) : tidak ada endapan
Kesimpulan				+
Flavonoid	Terbentuk warna merah, jingga pada lapisan amil alkohol (Marjoni, 2016)	Sampel + Serbuk Mg + HCl p + Amyl alkohol	 A B C D E	A. Ekstrak : warna jingga B. F. Air : warna jingga C. F. Etil Asetat : warna jingga D. F. n-heksan : warna jingga E. Kontrol (-) : bening
Kesimpulan				+

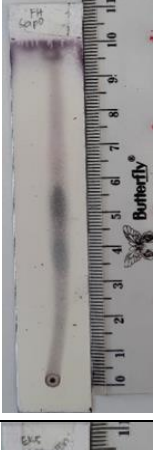
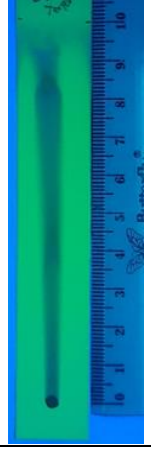
Alkaloid	Terbentuk endapan putih (Marjoni, 2016)	Sampel + HCl 2N + Rg. Mayer	 A B C D E	A. Ekstrak : tidak ada endapan B. F. Air : tidak ada endapan C. F. Etil Asetat : tidak ada endapan D. F. n-heksan : tidak ada endapan E. Kontrol (-) : bening
	Terbentuk endapan merah bata (Marjoni, 2016)	Sampel + HCl 2N + Rg. Dragendorff	 A B C D E	A. Ekstrak : endapan merah bata B. F. Air : endapan merah bata C. F. Etil Asetat : endapan merah bata D. F. n-heksan : endapan merah bata E. Kontrol (-) : tidak ada endapan
	Terbentuk endapan coklat hitam (Marjoni, 2016)	Sampel + HCl 2N + Rg. Bouchardat	 A B C D E	A. Ekstrak : endapan coklat B. F. Air : endapan coklat C. F. Etil Asetat : endapan coklat D. F. n-heksan : endapan coklat E. Kontrol (-) : tidak ada endapan
Kesimpulan				+
Terpenoid	Terbentuk warna ungu atau merah kemudian berubah menjadi hijau biru (Marjoni, 2016)	Sampel + n-heksan + asam asetat anhidrat + asam sulfat pekat	 A B C D E	A. Ekstrak : warna ungu, hijau B. F. Air : warna ungu, hijau C. F. Etil Asetat : warna ungu hijau D. F. n-heksan : warna ungu, hijau E. Kontrol (-) : bening
Kesimpulan				+
Saponin	Terbentuk busa yang stabil (Marjoni, 2016)	Sampel dikocok + HCl 2N	 A B C D E	A. Ekstrak : busa stabil B. F. Air : busa stabil C. F. Etil Asetat : busa stabil D. F. n-heksan : busa stabil E. Kontrol (-) : bening
Kesimpulan				+

Lampiran 11. Hasil KLT Ekstrak, Fraksi n-Heksan, Etil Asetat, dan Air Kulit Buah Rambutan Binjai (*Nephelium lappaceum* L.)

Senyawa	Eluen	Penampak bercak	Sinar UV 254 nm	Warna	Penampak Bercak	Warna	Rf
Fenolik	n-butanol: asam asetat: air (4: 1: 5) (Ahmad, 2015)	FeCl ₃		Ungu		Hitam	1.Asam Galt : 0,61 2.Ekstrak : 0,25 0,59 0,72
				Ungu		Hitam	1.Asam Galat: 0,68 2.Fraksi Air: 0,31 3.Fraksi Etil Asetat: 0,31 0,62 0,75 4.Fraksi n-Heksan: 0,31 0,62 0,75

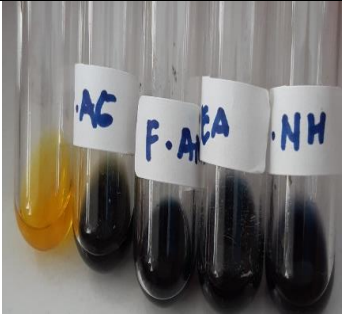
Tanin	Etil asetat: metanol: air (100: 13,5: 10) (Hanani, 2015)	FeCl_3		Ungu		Hitam biru	1.Ekstrak: 0,35 0,60 2.Fraksi Air: 0,40 0,65 0,75 0,82 3.Fraksi Etil Asetat: 0,38 0,62 0,73 4.Fraksi n- Heksan: 0,40 0,60 0,73
Flavonoid	n-butanol: asam asetat: air (4: 1: 5) (Harbone, 1987)	Uap Amoniak		Ungu		Coklat kekuningan	1.Ekstrak: 0,35 0,81 2.Fraksi Air: 0,37 0,80 0,87 3.Fraksi Etil Asetat: 0,56 0,82 0,87 4.Fraksi n-Heksan: 0,68 0,81 0,87

Alkaloid	Metanol: NH ₄ OH (200 : 3) (Harbone, 1987)	Dragendorff f		Ungu		Kuning kecoklat an	1.Ekstrak: 0,60 2.Fraksi Air: 0,55 0,90 3.Fraksi Etil Asetat: 0,50 0,90 4.Fraksi n- Heksan: 0,55 0,90
Saponin	Kloroform: metanol: air (13:7:2) (Harbone, 1987)	Anisaldehid-H ₂ SO ₄		Ungu		Ungu kebirua n	Ekstrak: 0,45 0,95
				Ungu		Ungu kebirua n	Fraksi Air: 0,45 0,60

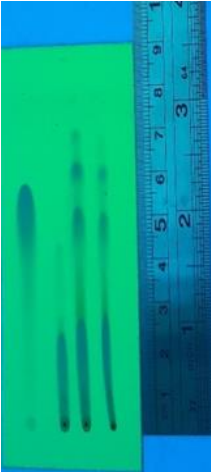
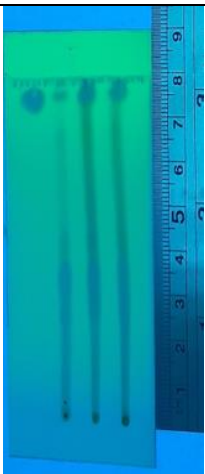
				Ungu		Ungu kebiruan	Fraksi Etil Asetat: 0,40 0,55
				Ungu		Ungu kebiruan	Fraksi n- Heksan : 0,40 0,60
Triterpen pid	n-heksan: etil asetat (4:6) (Halimah dkk, 2010)	Anisaldehid d asam sulfat		Ungu		Coklat keunguan	Ekstrak: 0,30 0,50 0,70 0,85

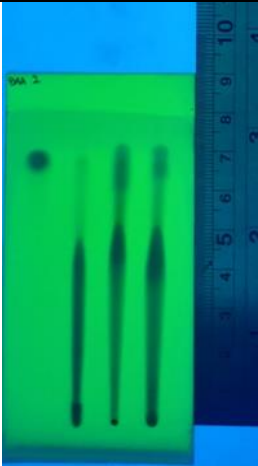
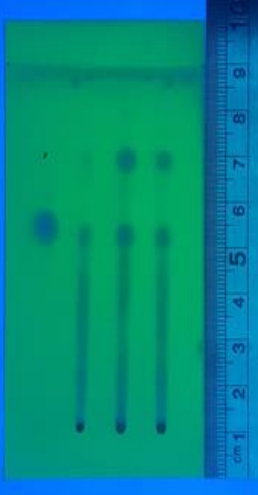
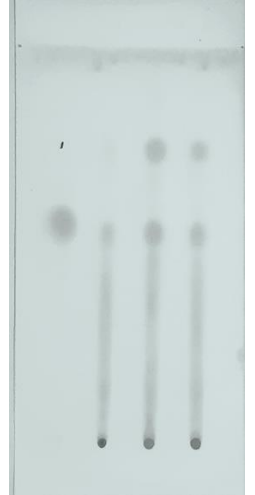
				Ungu		Coklat keungua n	Fraksi Air: 0,25 0,55 0,75
				Ungu		Coklat keungua n	Fraksi Etil Asetat: 0,25 0,55 0,75
				Ungu		Coklat keungua n	Fraksi n- heksan: 0,20 0,70 0,90

Lampiran 12. Hasil Identifikasi Senyawa Fenolik pada Sampel

Gambar	Reagen yang Ditambahkan	Simpulan
 A B C D E	FeCl_3 1% satu tetes	a. Kontrol negatif: berwarna kuning, pelarut netral atau (-) senyawa fenolik b. Asam galat: (+) senyawa fenolik c. Fraksi Air: (+) senyawa fenolik d. Fraksi Etil Asetat: (+) senyawa fenolik e. Fraksi n-Heksan: (+) senyawa fenolik
 A B C D E	2,0 mL Folin Ciocalteu kemudian ddiamkan 10 menit, selanjutnya ditambahkan 7,0mL Na_2CO_3 1 M	a. Fraksi Air : (+) senyawa fenolik b. Fraksi Etil Asetat: (+) senyawa fenolik c. Fraksi n-Heksan : (+) senyawa fenolik d. Asam Galat : (+) senyawa fenolik e. Kontrol negative : berwarna putih, pelarut netral atau (-) senyawa fenolik

Lampiran 13. Hasil Orientasi Eluen

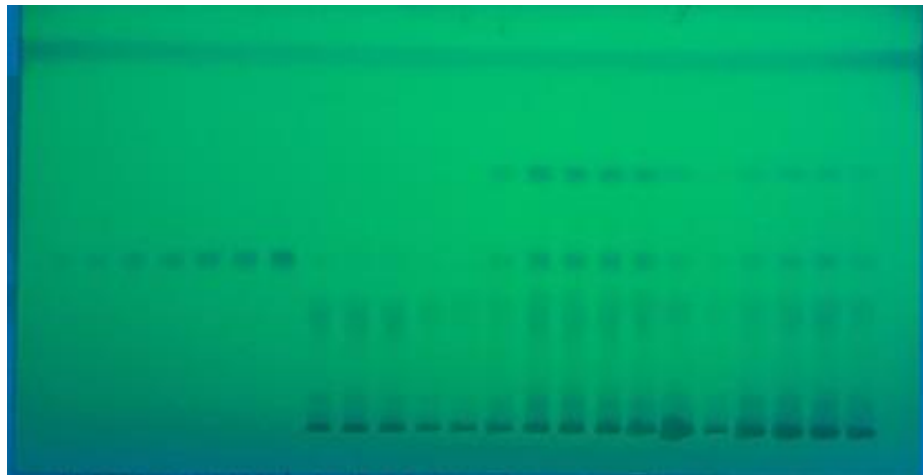
Eluen	Sampel	Hasil elusi di UV 254	Rf UV 254	Hasil elusi di sinar tampak	Rf Sinar Tampak
n-heksan: etil asetat: asam asetat glasial (20: 9: 1)	a. Baku asam galat		0		0
	b. Fraksi etil asetat		0		0
	c. Fraksi etil asetat		0,12		0,12
	d. Fraksi n-heksan		0,12		0,12
Etil asetat: metanol: air (120:5:4)	a. Baku asam galat		0,69		0,69
	b. Fraksi air		0,25		0,25
	c. Fraksi etil asetat		0,25 0,62 0,70 0,75		0,25 0,62 0,70 0,75
	d. Fraksi n-heksan		0,25 0,62 0,75		0,25 0,62 0,75
Etil asetat: air: asam format (17:3:2)	a. Baku asam galat		0,94		0,94
	b. Fraksi air		0,94		0,94
	c. Fraksi etil asetat		0,94		0,94
	d. Fraksi n-heksan		0,94		0,94

Eluen	Sampel	Hasil elusi di UV 254	Rf UV 254	Hasil elusi di sinar tampak	Rf Sinar Tampak
n-butanol: asam asetat: air (4: 1: 5)	a. Baku asam galat		0,87		0,87
	b. Fraksi etil asetat		0,50		0,50
	c. Fraksi etil asetat		0,62		0,62
	d. Fraksi n-heksan		0,81		0,81
Kloroform: etil asetat: n-butanol: asam format (15: 2: 2: 1)	a. Baku asam galat		0,56		0,56
	b. Fraksi air		0,53 0,75		0,53 0,75
	c. Fraksi etil asetat		0,53 0,75		0,53 0,75
	d. Fraksi n-heksan		0,53 0,75		0,53 0,75

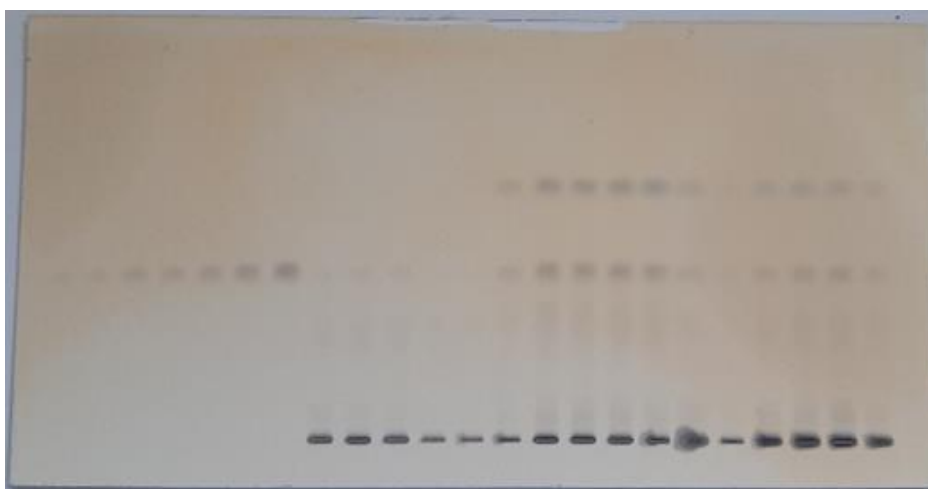
Lampiran 14. Deret Baku Asam Galat dan Sampel



Lampiran 15. Hasil Penotolan Baku Asam Galat dan Sampel



Sinar UV 254



Sinar tampak

Lampiran 16. Penimbangan dan Pembuatan Deret Baku Asam Galat

Berat kertas+asam galat = 0,4156 gram

Berat kertas+sisa = 0,3656 gram -

Berat asam galat = 0,050 gram ~ mg ad 0,05 L metanol (p.a)

Konsentrasi baku asam galat = $\frac{\text{mg}}{0,05 \text{ L}} = 1000 \text{ ppm}$

Kadar yang akan dibuat	Volume pemipetan	Koreksi kadar
100 ppm	$V1.C1=V2.C2$ $V1.1000 \text{ ppm} = 100 \text{ ppm. } 5,0 \text{ mL}$ $V1 = 0,5 \text{ mL}$	$V1.C1=V2.C2$ $0,5 \text{ mL. } 1000 \text{ ppm} = 5,0 \text{ mL.C2}$ $C2 = 100,0000 \text{ ppm}$
200 ppm	$V1.C1=V2.C2$ $V1.1000 \text{ ppm} = 200 \text{ ppm. } 5,0 \text{ mL}$ $V1 = 1 \text{ mL}$	$V1.C1=V2.C2$ $1 \text{ mL. } 1000 \text{ ppm} = 5,0 \text{ mL.C2}$ $C2 = 200,0000 \text{ ppm}$
300 ppm	$V1.C1=V2.C2$ $V1. 1000 \text{ ppm} = 300 \text{ ppm. } 5,0 \text{ mL}$ $V1 = 1,5 \text{ mL}$	$V1.C1=V2.C2$ $1,5 \text{ mL. } 1000 \text{ ppm} = 5,0 \text{ mL.C2}$ $C2 = 300,0000 \text{ ppm}$
400 ppm	$V1.C1=V2.C2$ $V1. 1000 \text{ ppm} = 400 \text{ ppm. } 5,0 \text{ mL}$ $V1=2,0 \text{ mL}$	$V1.C1=V2.C2$ $2,0 \text{ mL. } 1000 \text{ ppm} = 5,0 \text{ mL.C2}$ $C2 = 400,0000 \text{ ppm}$
500 ppm	$V1.C1=V2.C2$ $V1.1000 \text{ ppm} = 500 \text{ ppm. } 5,0 \text{ mL}$ $V1=2,5 \text{ mL}$	$V1.C1=V2.C2$ $2,5 \text{ mL. } 1000 \text{ ppm} = 5,0 \text{ mL.C2}$ $C2 = 500,0000 \text{ ppm}$
600 ppm	$V1.C1=V2.C2$ $V1. 1000 \text{ ppm} = 600 \text{ ppm. } 5,0 \text{ mL}$ $V1 = 3,0 \text{ mL}$	$V1.C1=V2.C2$ $3,0 \text{ mL. } 1000 \text{ ppm} = 5,0 \text{ mL.C2}$ $C2 = 600,0000 \text{ ppm}$
700 ppm	$V1.C1=V2.C2$ $V1. 1000 \text{ ppm} = 700 \text{ ppm. } 5,0 \text{ mL}$ $V1 = 3,5 \text{ mL}$	$V1.C1=V2.C2$ $3,5 \text{ mL. } 1000 \text{ ppm} = 5,0 \text{ mL.C2}$ $C2 = 700,0000 \text{ ppm}$
800 ppm	$V1.C1=V2.C2$ $V1. 1000 \text{ ppm} = 800 \text{ ppm. } 5,0 \text{ mL}$ $V1 = 4,0 \text{ mL}$	$V1.C1=V2.C2$ $4,0 \text{ mL. } 1000 \text{ ppm} = 5,0 \text{ mL.C2}$ $C2 = 800,0000 \text{ ppm}$
900 ppm	$V1.C1=V2.C2$ $V1.1000 \text{ ppm} = 900 \text{ ppm. } 5,0 \text{ mL}$ $V1 = 4,5 \text{ mL}$	$V1.C1=V2.C2$ $4,5 \text{ mL. } 1000 \text{ ppm} = 5,0 \text{ mL.C2}$ $C2 = 900,0000 \text{ ppm}$
1000 ppm	$V1.C1=V2.C2$ $V1. 1000 \text{ ppm} = 1000 \text{ ppm. } 5,0 \text{ mL}$ $V1 = 5 \text{ mL}$	$V1.C1=V2.C2$ $5,0 \text{ mL. } 1000 \text{ ppm} = 5,0 \text{ mL.C2}$ $C2 = 1000,0000 \text{ ppm}$

Lampiran 17. Penimbangan Sampel

Sampel	Berat kaca+sampel	Berat kaca+sisa	Berat sampel
Fraksi Air 1	31,3977 gram	31,3737 gram	0,0240 gram
Fraksi Air 2	31,3976 gram	31, 3733 gram	0,0243 gram
Fraksi Air 3	31,3989 gram	31, 3747 gram	0,0242 gram
Fraksi Air 4	31,3995 gram	31,3752 gram	0,0243 gram
Fraksi Air 5	31,4003 gram	31,3753 gram	0,0250 gram
Fraksi Etil Asetat 1	27,2682 gram	27,2423 gram	0,0259 gram
Fraksi Etil Asetat 2	27,2690 gram	27,2420 gram	0,0270 gram
Fraksi Etil Asetat 3	27,2683 gram	27,2412 gram	0,0271 gam
Fraksi Etil Asetat 4	27,2717 gram	27,2472 gram	0,0245gram
Fraksi Etil Asetat 5	27,2721 gram	27,2472 gram	0,0249gram
Fraksi n-Heksan 1	27,2657 gram	27,2387 gram	0,0270 gram
Fraksi n-Heksan 2	27,2639 gram	27,2382 gram	0,0257 gram
Fraksi n-Heksan 3	27,2633 gram	27,2382 gram	0,0251 gram
Fraksi n-Heksan 4	27,2670 gram	27,2419 gram	0,0251 gram
Fraksi n-Heksan 5	27,2697gram	27,2437 gram	0,0260 gram

Lampiran 18. Hasil Pembacaan Deret Baku dan Sampel pada Densitometer

Kadar ($\mu\text{g/mL}$)	Volume penotolan (mL)	Masa zat (μg)	Rf	AUC
200	0,003	$200 \times 0,003 = 0,6000$	0,427	0,00941
400	0,003	$400 \times 0,003 = 1,2000$	0,432	0,01397
500	0,003	$500 \times 0,003 = 1,5000$	0,438	0,01662
600	0,003	$600 \times 0,003 = 1,8000$	0,438	0,01938
700	0,003	$700 \times 0,003 = 2,1000$	0,443	0,02421

Sampel	Volume penotolan (mL)	Penimbangan sampel (gram)	Volume ad (mL)	Rf	AUC
Fraksi Air 1	0,01	0,0240	5	0,395	0,01125
Fraksi Air 2	0,01	0,0243	5	0,395	0,01154
Fraksi Air 3	0,01	0,0242	5	0,398	0,01198
Fraksi Air 4	0,01	0,0243	5	0,403	0,01161
Fraksi Air 5	0,01	0,0250	5	0,410	0,01196
Fraksi Etil Asetat 1	0,005	0,0259	5	0,443	0,01156
Fraksi Etil Asetat 2	0,005	0,0270	5	0,448	0,01966
Fraksi Etil Asetat 3	0,005	0,0271	5	0,448	0,01902
Fraksi Etil Asetat 4	0,005	0,0245	5	0,448	0,01873
Fraksi Etil Asetat 5	0,005	0,0249	5	0,445	0,01841
Fraksi n-Heksan 1	0,01	0,0270	5	0,445	0,01294
Fraksi n-Heksan 2	0,01	0,0251	5	0,445	0,01165
Fraksi n-Heksan 3	0,01	0,0251	5	0,445	0,01404
Fraksi n-Heksan 4	0,01	0,0260	5	0,445	0,01506
Fraksi n-Heksan 5	0,01	0,0269	5	0,445	0,01038

Lampiran 19. Perhitungan Kadar Senyawa Femolik pada Sampel

Sampel	Masa senyawa dalam sampel (µg)	Kadar senyawa dalam totolan (µg/mL)	Kadar senyawa fenolik dalam sampel (mg GAE/g sampel)
Fraksi Air 1	$y = bx + a$ $0,01125 = 0,009531x + 0,00293$ $y = 0,872940$	0,872940 µg/0,01 mL = 87,294	$\frac{87,294 \text{ µg/ml}}{1000} \times \frac{5 \text{ ml}}{0,024 \text{ g}} = 18,18625$
Fraksi Air 2	$y = bx + a$ $0,01154 = 0,009531x + 0,00293$ $y = 0,903368$	0,903368 µg/0,01 mL = 90,3368	$\frac{90,3368 \text{ µg/ml}}{1000} \times \frac{5 \text{ ml}}{0,0243 \text{ g}} = 18,5878$
Fraksi Air 3	$y = bx + a$ $0,01198 = 0,009531x + 0,00293$ $y = 0,949533$	0,949533 µg/0,01 mL = 94,9533	$\frac{94,6533 \text{ µg/ml}}{1000} \times \frac{5 \text{ ml}}{0,0242 \text{ g}} = 19,6184$
Fraksi Air 4	$y = bx + a$ $0,01161 = 0,009531x + 0,00293$ $y = 0,904102$	0,904102 µg/0,01 mL = 90,4102	$\frac{90,4102 \text{ µg/ml}}{1000} \times \frac{5 \text{ ml}}{0,0243 \text{ g}} = 18,60292$
Fraksi Air 5	$y = bx + a$ $0,01196 = 0,009531x + 0,00293$ $y = 0,940825$	0,940825 µg/0,01 mL = 94,0825	$\frac{94,0825 \text{ µg/ml}}{1000} \times \frac{5 \text{ ml}}{0,0250 \text{ g}} = 18,8165$

Sampel	Masa senyawa dalam sampel (μg)	Kadar senyawa dalam totolan (μg/mL)	Kadar senyawa fenolik dalam sampel (mg GAE/g sampel)
Fraksi Etil Asetat 1	$y = bx + a$ $0,01156 = 0,009531x + 0,00293$ $y = 0,90546$	0,90546 μg/0,005 mL = 181,092	$\frac{181,092 \mu\text{g/ml}}{1000} \times \frac{5 \text{ ml}}{0,0259 \text{ g}} = 34,9598$
Fraksi Etil Asetat 2	$y = bx + a$ $0,01966 = 0,009531x + 0,00293$ $y = 1,7553$	1,7553 μg/0,005 mL = 351,065	$\frac{351,065 \mu\text{g/ml}}{1000} \times \frac{5 \text{ ml}}{0,0270 \text{ g}} = 65,0102$
Fraksi Etil Asetat 3	$y = bx + a$ $0,01902 = 0,009531x + 0,00293$ $y = 1,6881$	1,6881 μg/0,005 mL = 337,62	$\frac{337,62 \mu\text{g/ml}}{1000} \times \frac{5 \text{ ml}}{0,0271 \text{ g}} = 62,2915$
Fraksi Etil Asetat 4	$y = bx + a$ $0,01873 = 0,009531x + 0,00293$ $y = 1,65114$	1,65114 μg/0,005 mL = 330,228	$\frac{330,228 \mu\text{g/ml}}{1000} \times \frac{5 \text{ ml}}{0,0245 \text{ g}} = 67,3935$
Fraksi Etil Asetat 5	$y = bx + a$ $0,01841 = 0,009531x + 0,00293$ $y = 1,61756$	0,940825 μg/0,005 mL = 323,512	$\frac{323,512 \mu\text{g/ml}}{1000} \times \frac{5 \text{ ml}}{0,0249 \text{ g}} = 64,9622$

Sampel	Masa senyawa dalam sampel (μg)	Kadar senyawa dalam totolan (μg/mL)	Kadar senyawa fenolik dalam sampel (mg GAE/g sampel)
Fraksi n-Heksan 1	$y = bx + a$ $0,01294 = 0,009531x + 0,00293$ $y = 1,04365$	$1,04365 \mu\text{g} / 0,01 \text{ mL} = 104,365$	$\frac{104,365 \mu\text{g/ml}}{1000} \times \frac{5 \text{ ml}}{0,0270 \text{ g}} = 19,3268$
Fraksi n-Heksan 2	$y = bx + a$ $0,01165 = 0,009531x + 0,00293$ $y = 0,9083$	$0,9083 \mu\text{g} / 0,01 \text{ mL} = 90,8300$	$\frac{90,8300 \mu\text{g/ml}}{1000} \times \frac{5 \text{ ml}}{0,0251 \text{ g}} = 18,0936$
Fraksi n-Heksan 3	$y = bx + a$ $0,01404 = 0,009531x + 0,00293$ $y = 1,1590$	$1,1590 \mu\text{g} / 0,01 \text{ mL} = 115,900$	$\frac{115,900 \mu\text{g/ml}}{1000} \times \frac{5 \text{ ml}}{0,0251 \text{ g}} = 23,0876$
Fraksi n-Heksan 4	$y = bx + a$ $0,01506 = 0,009531x + 0,00293$ $y = 1,2660$	$1,2660 \mu\text{g} / 0,01 \text{ mL} = 126,600$	$\frac{126,600 \mu\text{g/ml}}{1000} \times \frac{5 \text{ ml}}{0,0226 \text{ g}} = 24,3461$
Fraksi n-Heksan 5	$y = bx + a$ $0,01038 = 0,009531x + 0,00293$ $y = 0,7750$	$0,7750 \mu\text{g} / 0,01 \text{ mL} = 77,500$	$\frac{77,500 \mu\text{g/ml}}{1000} \times \frac{5 \text{ ml}}{0,026 \text{ g}} = 14,9038$

Lampiran 20. Hasil Output KLT-Densitometer pada Uji Kadar Senyawa Fenolik

Scan applied plate 1a - Scanner 4 (S/N: 261198):

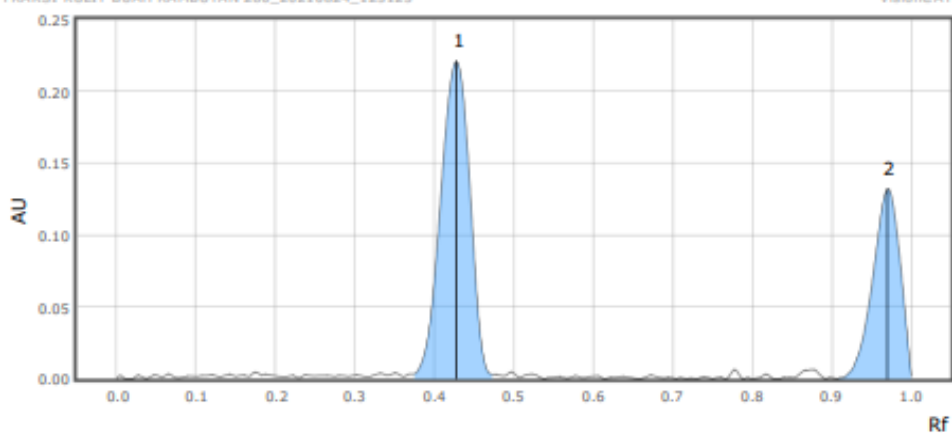
Scanner type	Single λ
Optimization for	Resolution
Measurement mode	Absorption
Filter	n/a
Detector mode	Automatic
Scanning speed	40 mm/s
Data resolution	200 $\mu\text{m}/\text{step}$
Slit	8 x 0.2 mm, macro
Partial scan	No
Lamp	Deuterium
Wavelength(s)	280 nm
Instrument diagnostics	Valid diagnostics
Documentation step label	
Notes	

Track 2:

Type	Reference
Vial ID	2
Description	BAG 200
Volume	3.0 μl

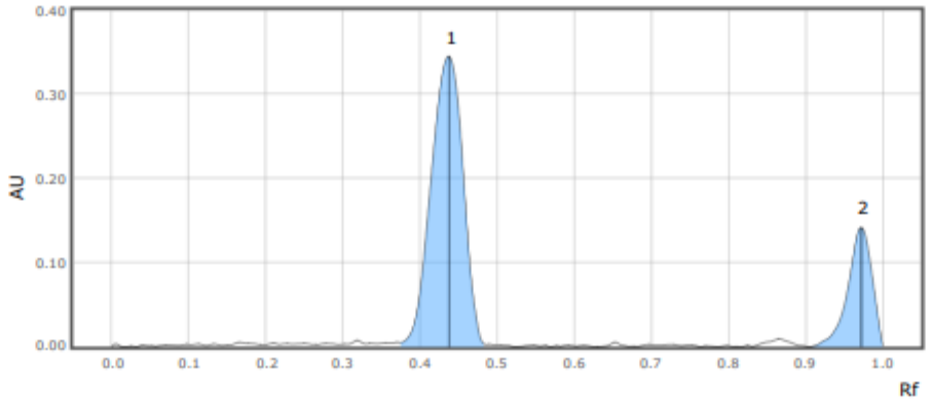
FRAKSI KULIT BUAH RAMBUTAN 280_20210824_123125

visionCATS



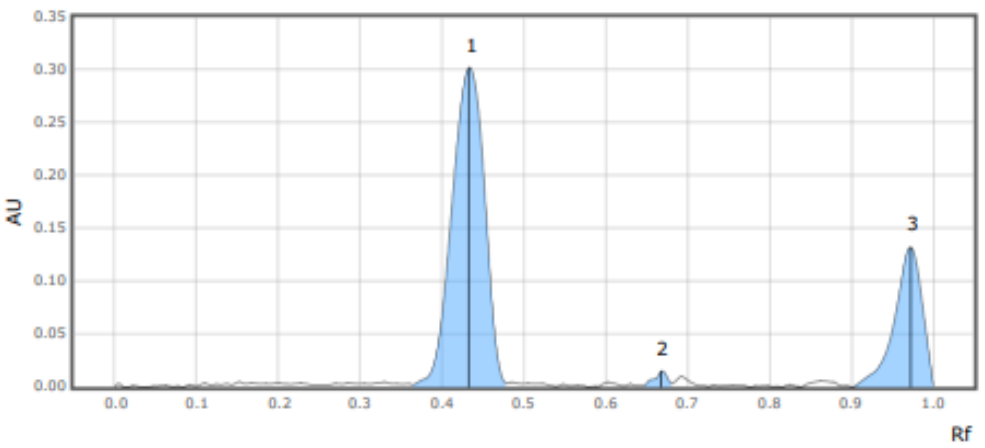
Peak #	Start		Max			End		Area		Manual peak	Substance Name
	Rf	H	Rf	H	%	Rf	H	A	%		
1	0.372	0.0032	0.427	0.2211	62.60	0.472	0.0029	0.00941	64.43	No	GALIC ACID 3
2	0.907	0.0000	0.970	0.1321	37.40	1.000	0.0019	0.00519	35.57	No	

Type	Reference
Vial ID	5
Description	BAG 500
Volume	3.0 µl



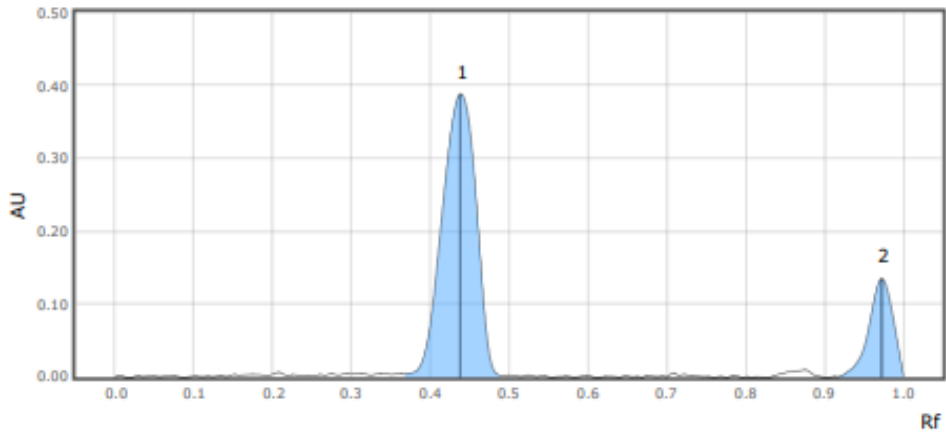
Peak #	Start		Max			End		Area		Manual peak	Substance Name
	Rf	H	Rf	H	%	Rf	H	A	%		
1	0.375	0.0047	0.438	0.3454	70.88	0.485	0.0025	0.01662	76.60	No	GALIC ACID 3
2	0.907	0.0000	0.973	0.1419	29.12	1.000	0.0015	0.00508	23.40	No	

Track 4:											
Type	Reference										
Vial ID	4										
Description	BAG 400										
Volume	3.0 µl										



Peak #	Start		Max			End		Area		Manual peak	Substance Name
	Rf	H	Rf	H	%	Rf	H	A	%		
1	0.365	0.0022	0.432	0.3023	67.18	0.480	0.0037	0.01397	71.96	No	GALIC ACID 3
2	0.637	0.0014	0.667	0.0152	3.37	0.680	0.0037	0.00029	1.52	No	
3	0.902	0.0000	0.973	0.1325	29.45	1.000	0.0014	0.00515	26.53	No	

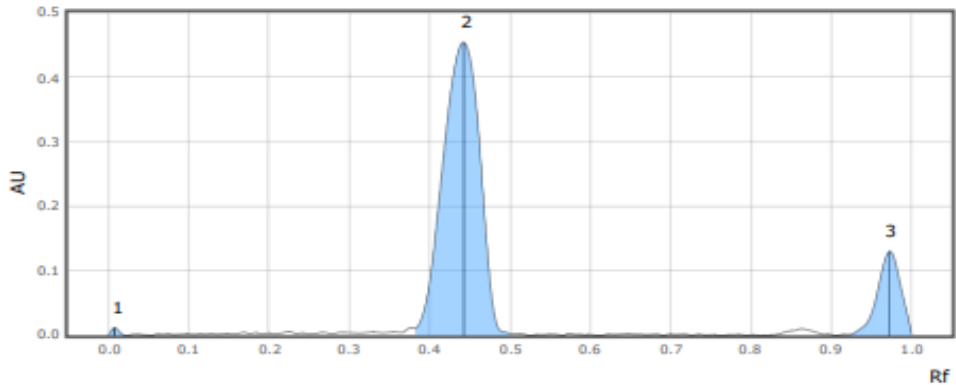
Track 6:	
Type	Reference
Vial ID	6
Description	BAG 600
Volume	3.0 µl



Peak #	Start		Max			End		Area		Manual peak	Substance Name
	Rf	H	Rf	H	%	Rf	H	A	%		
1	0.367	0.0043	0.438	0.3878	74.14	0.490	0.0025	0.01938	80.32	No	GALIC ACID 3
2	0.917	0.0006	0.973	0.1353	25.86	1.000	0.0016	0.00475	19.68	No	

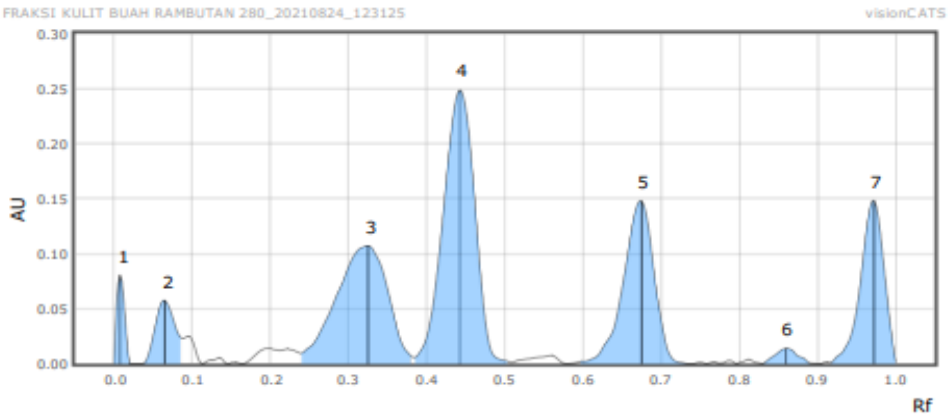
FRAKSI KULIT BUAH RAMBUTAN 280_20210824_123125 visionCATS

Track 7:	
Type	Reference
Vial ID	7
Description	BAG 700
Volume	3.0 µl

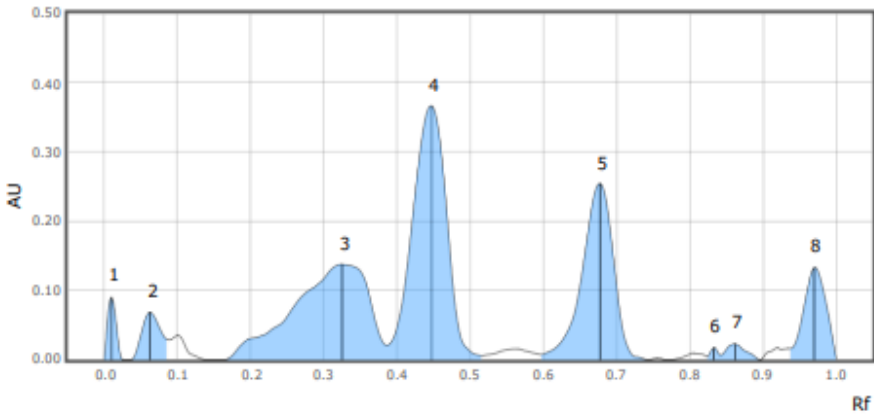


Peak #	Start		Max			End		Area		Manual peak	Substance Name
	Rf	H	Rf	H	%	Rf	H	A	%		
1	0.000	0.0000	0.007	0.0117	1.96	0.020	0.0000	0.00013	0.44	No	
2	0.383	0.0104	0.443	0.4536	76.17	0.502	0.0024	0.02421	84.45	No	GALIC ACID 3
3	0.920	0.0009	0.973	0.1302	21.86	1.000	0.0018	0.00433	15.11	No	

Track 13:	
Type	Sample
Vial ID	13
Description	FEA 1
Volume	5.0 µl



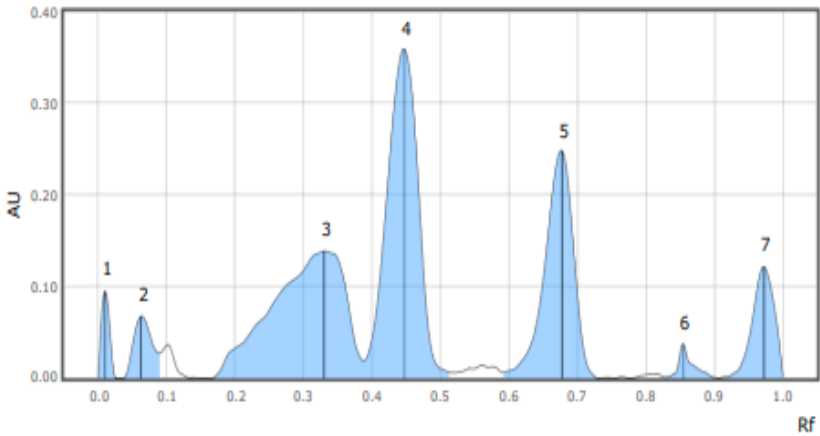
Track 14:	
Type	Sample
Vial ID	14
Description	FEA 2
Volume	5.0 µl



FRAKSI KULIT BUAH RAMBUTAN 280_20210824_123125 visionCATS

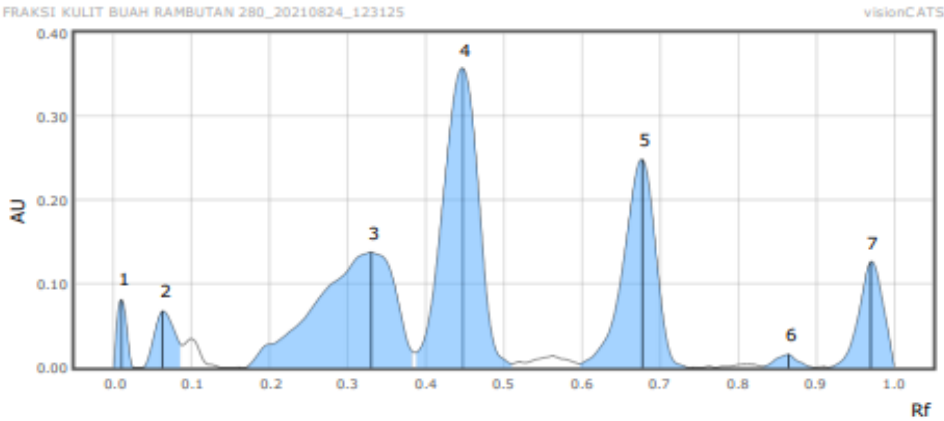
Peak #	Start		Max			End		Area		Manual peak	Substance Name
	Rf	H	Rf	H	%	Rf	H	A	%		
1	0.000	0.0000	0.010	0.0904	8.29	0.025	0.0000	0.00120	2.09	No	
2	0.037	0.0000	0.063	0.0685	6.29	0.087	0.0282	0.00207	3.60	No	
3	0.165	0.0000	0.325	0.1378	12.64	0.385	0.0207	0.01639	28.57	No	
4	0.385	0.0207	0.448	0.3665	33.62	0.515	0.0059	0.01966	34.26	No	GALIC ACID 3
5	0.598	0.0074	0.677	0.2543	23.33	0.743	0.0000	0.01253	21.83	No	
6	0.825	0.0045	0.833	0.0172	1.58	0.843	0.0060	0.00020	0.36	No	
7	0.843	0.0060	0.863	0.0226	2.07	0.895	0.0000	0.00069	1.21	No	
8	0.938	0.0161	0.970	0.1329	12.19	1.000	0.0014	0.00464	8.09	No	

Track 15:	
Type	Sample
Vial ID	15
Description	FEA 3
Volume	5.0 µl



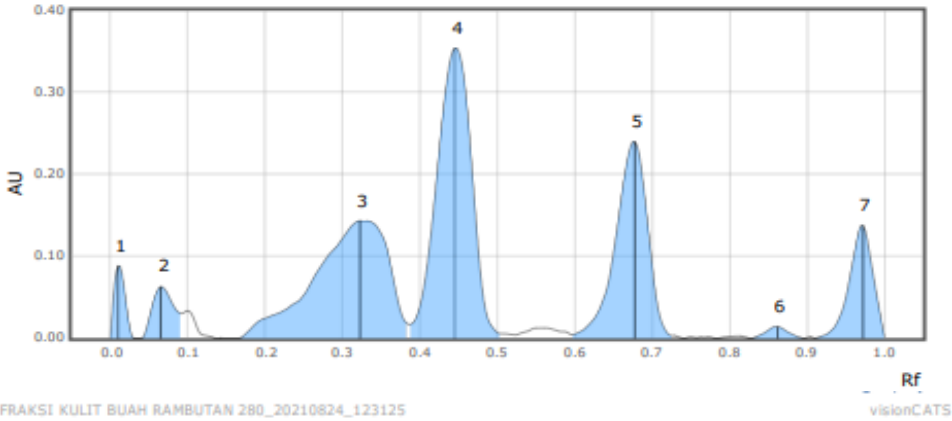
Peak #	Start		Max			End		Area		Manual peak	Substance Name
	Rf	H	Rf	H	%	Rf	H	A	%		
1	0.000	0.0000	0.010	0.0954	8.93	0.025	0.0000	0.00133	2.33	No	
2	0.037	0.0000	0.063	0.0676	6.33	0.090	0.0270	0.00213	3.72	No	
3	0.168	0.0000	0.330	0.1388	12.99	0.388	0.0189	0.01730	30.28	No	
4	0.388	0.0189	0.448	0.3590	33.61	0.517	0.0060	0.01902	33.30	No	GALIC ACID 3
5	0.593	0.0060	0.677	0.2480	23.22	0.730	0.0000	0.01202	21.04	No	
6	0.830	0.0010	0.855	0.0376	3.52	0.905	0.0000	0.00082	1.43	No	
7	0.915	0.0014	0.973	0.1218	11.40	1.000	0.0018	0.00450	7.88	No	

Track 16:	
Type	Sample
Vial ID	16
Description	FEA 4
Volume	5.0 µl



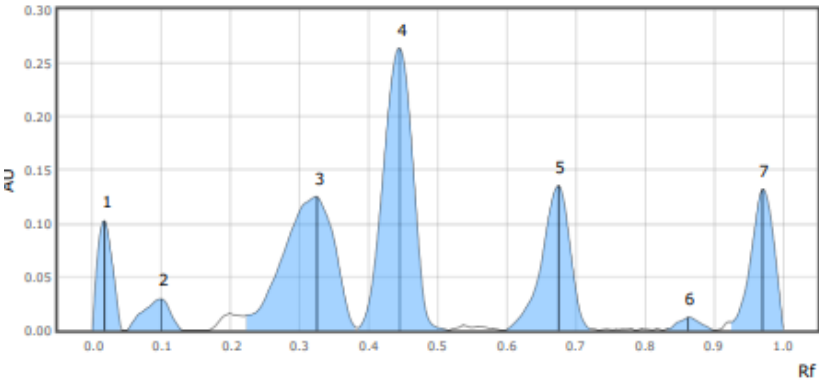
Peak #	Start		Max			End		Area		Manual peak	Substance Name
	Rf	H	Rf	H	%	Rf	H	A	%		
1	0.000	0.0000	0.010	0.0815	7.88	0.025	0.0000	0.00114	2.07	No	
2	0.037	0.0000	0.063	0.0675	6.52	0.087	0.0264	0.00203	3.68	No	
3	0.168	0.0000	0.330	0.1377	13.30	0.385	0.0179	0.01626	29.54	No	
4	0.388	0.0178	0.448	0.3579	34.58	0.510	0.0043	0.01873	34.02	No	GALIC ACID 3
5	0.598	0.0045	0.677	0.2486	24.02	0.735	0.0000	0.01192	21.65	No	
6	0.833	0.0013	0.865	0.0156	1.51	0.897	0.0000	0.00049	0.90	No	
7	0.915	0.0000	0.970	0.1264	12.21	1.000	0.0016	0.00449	8.15	No	

Track 17:	
Type	Sample
Vial ID	17
Description	FEA 5
Volume	5.0 µl



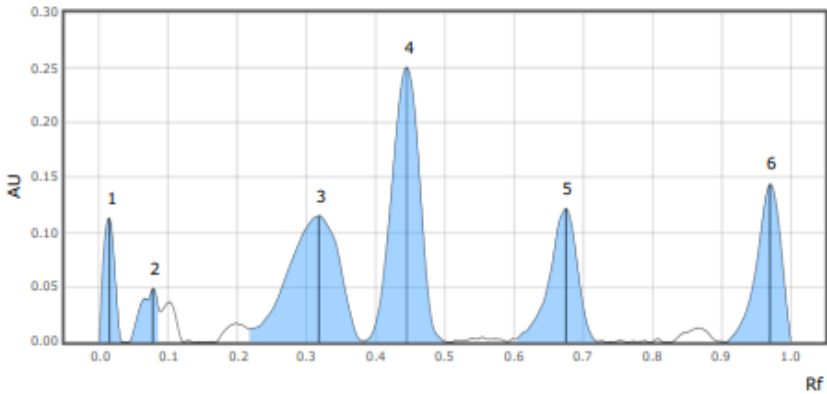
Peak #	Start		Max			End		Area		Manual peak	Substance Name
	Rf	H	Rf	H	%	Rf	H	A	%		
1	0.000	0.0000	0.010	0.0886	8.51	0.030	0.0000	0.00144	2.65	No	
2	0.040	0.0000	0.065	0.0627	6.02	0.092	0.0302	0.00205	3.76	No	
3	0.165	0.0000	0.323	0.1433	13.77	0.385	0.0169	0.01591	29.17	No	
4	0.388	0.0168	0.445	0.3544	34.05	0.505	0.0053	0.01841	33.76	No	GALIC ACID 3
5	0.598	0.0041	0.677	0.2400	23.06	0.728	0.0028	0.01149	21.06	No	
6	0.828	0.0000	0.863	0.0141	1.35	0.895	0.0000	0.00045	0.82	No	
7	0.910	0.0000	0.973	0.1377	13.23	1.000	0.0015	0.00479	8.78	No	

Track 18:	
Type	Sample
Vial ID	18
Description	FNH 1
Volume	10.0 µl



Peak #	Start		Max			End		Area		Manual peak	Substance Name
	Rf	H	Rf	H	%	Rf	H	A	%		
1	0.000	0.0000	0.018	0.1031	12.89	0.043	0.0000	0.00257	6.50	No	
2	0.050	0.0000	0.100	0.0291	3.64	0.130	0.0000	0.00132	3.34	No	
3	0.223	0.0139	0.325	0.1248	15.60	0.383	0.0022	0.01079	27.34	No	
4	0.385	0.0021	0.445	0.2637	32.96	0.515	0.0000	0.01294	32.81	No	GALIC ACID 3
5	0.595	0.0000	0.675	0.1353	16.92	0.720	0.0016	0.00639	16.20	No	
6	0.830	0.0000	0.863	0.0121	1.51	0.900	0.0000	0.00044	1.11	No	
7	0.925	0.0075	0.970	0.1319	16.48	1.000	0.0013	0.00501	12.70	No	

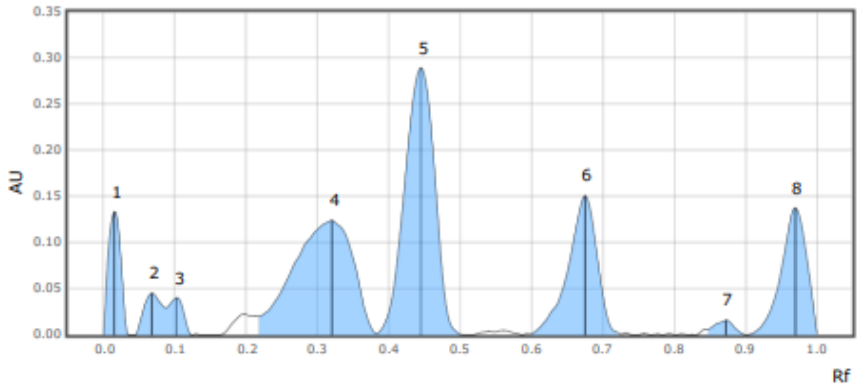
Track 20:	
Type	Sample
Vial ID	20
Description	FNH 3
Volume	10.0 µl



FRAKSI KULIT BUAH RAMBUTAN 280_20210824_123125 visionCATS

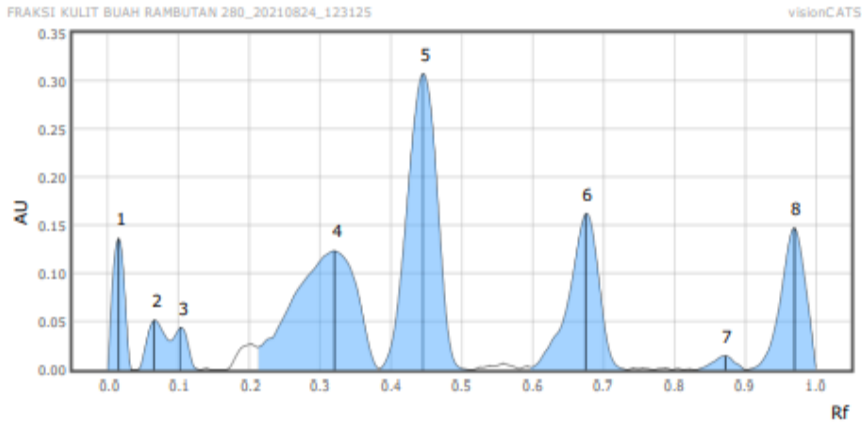
Peak #	Start		Max			End		Area		Manual peak	Substance Name
	Rf	H	Rf	H	%	Rf	H	A	%		
1	0.000	0.0000	0.015	0.1129	14.25	0.033	0.0000	0.00212	5.82	No	
2	0.043	0.0000	0.077	0.0488	6.16	0.087	0.0278	0.00136	3.74	No	
3	0.217	0.0118	0.318	0.1150	14.51	0.380	0.0009	0.00986	27.03	No	
4	0.383	0.0007	0.445	0.2504	31.59	0.505	0.0000	0.01165	31.96	No	GALIC ACID 3
5	0.603	0.0025	0.675	0.1216	15.34	0.720	0.0004	0.00569	15.61	No	
6	0.905	0.0000	0.970	0.1438	18.14	1.000	0.0011	0.00578	15.85	No	

Track 21:	
Type	Sample
Vial ID	21
Description	FNH 4
Volume	10.0 µl



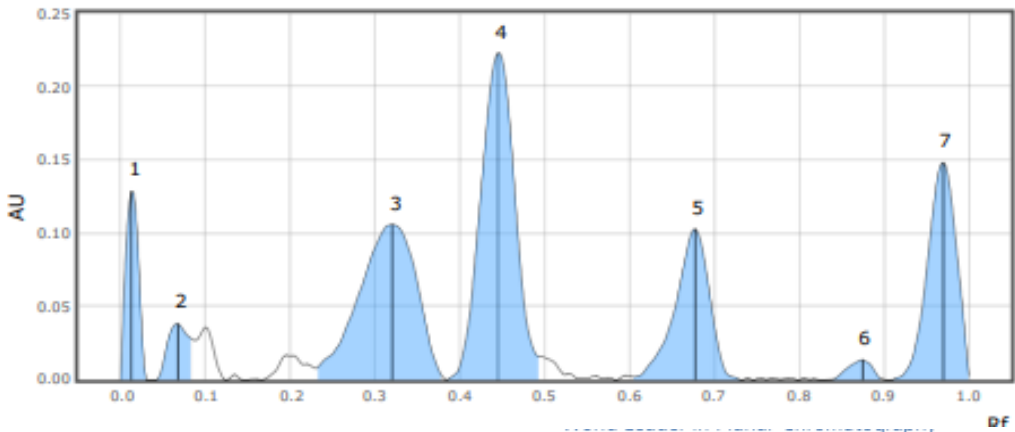
Peak #	Start		Max			End		Area		Manual peak	Substance Name
	Rf	H	Rf	H	%	Rf	H	A	%		
1	0.000	0.0000	0.015	0.1337	14.25	0.035	0.0000	0.00271	6.12	No	
2	0.045	0.0000	0.068	0.0454	4.84	0.087	0.0291	0.00133	3.00	No	
3	0.087	0.0291	0.102	0.0404	4.31	0.125	0.0000	0.00097	2.18	No	
4	0.217	0.0202	0.320	0.1242	13.24	0.383	0.0015	0.01207	27.24	No	
5	0.383	0.0015	0.445	0.2897	30.88	0.507	0.0000	0.01404	31.71	No	GALIC ACID 3
6	0.598	0.0010	0.675	0.1511	16.11	0.725	0.0007	0.00705	15.92	No	
7	0.848	0.0057	0.873	0.0158	1.69	0.900	0.0000	0.00049	1.11	No	
8	0.902	0.0000	0.970	0.1377	14.68	1.000	0.0014	0.00563	12.71	No	

Track 22:	
Type	Sample
Vial ID	22
Description	FNH 5
Volume	10.0 µl



Peak #	Start		Max			End		Area		Manual peak	Substance Name
	Rf	H	Rf	H	%	Rf	H	A	%		
1	0.000	0.0000	0.015	0.1368	13.84	0.033	0.0000	0.00264	5.57	No	
2	0.043	0.0000	0.065	0.0515	5.21	0.087	0.0300	0.00152	3.20	No	
3	0.087	0.0300	0.102	0.0438	4.43	0.130	0.0000	0.00107	2.25	No	
4	0.212	0.0233	0.320	0.1236	12.51	0.383	0.0014	0.01277	26.97	No	
5	0.385	0.0013	0.445	0.3080	31.18	0.512	0.0000	0.01506	31.81	No	GALIC ACID 3
6	0.598	0.0024	0.675	0.1623	16.43	0.733	0.0000	0.00792	16.74	No	
7	0.833	0.0000	0.873	0.0144	1.46	0.900	0.0000	0.00049	1.04	No	
8	0.902	0.0000	0.970	0.1477	14.95	1.000	0.0016	0.00587	12.41	No	

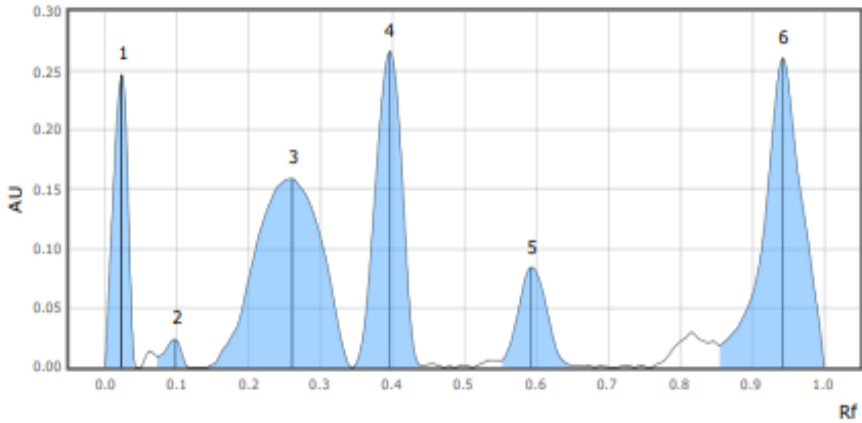
Track 23:	
Type	Sample
Vial ID	23
Description	FNH 5
Volume	10.0 µl



FRAKSI KULIT BUAH RAMBUTAN 280_20210824_123125

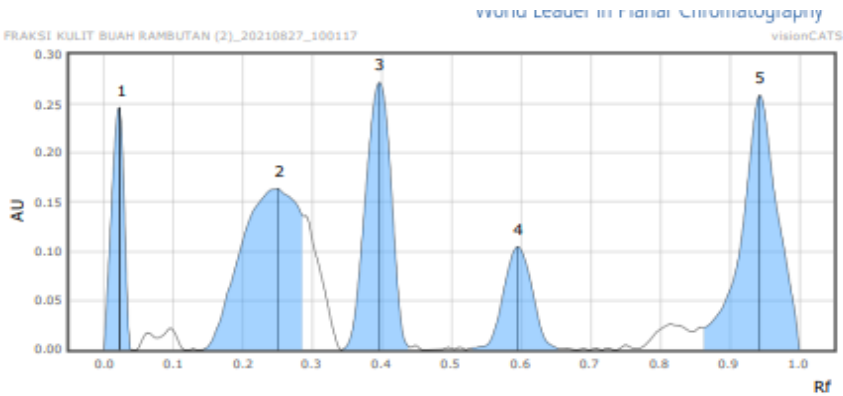
Peak #	Start		Max			End		Area		Manual peak	Substance Name
	Rf	H	Rf	H	%	Rf	H	A	%		
1	0.000	0.0000	0.013	0.1284	16.91	0.030	0.0000	0.00225	6.79	No	GALIC ACID 3
2	0.043	0.0000	0.068	0.0382	5.03	0.087	0.0266	0.00118	3.56	No	
3	0.230	0.0079	0.320	0.1057	13.92	0.383	0.0002	0.00839	25.32	No	
4	0.385	0.0000	0.445	0.2227	29.33	0.495	0.0156	0.01038	31.31	No	
5	0.605	0.0018	0.677	0.1027	13.53	0.730	0.0001	0.00475	14.32	No	
6	0.835	0.0000	0.875	0.0135	1.78	0.902	0.0000	0.00044	1.33	No	
7	0.910	0.0000	0.970	0.1480	19.50	1.000	0.0025	0.00576	17.38	No	

Track 8:	
Type	Sample
Vial ID	8
Description	FAIR 1
Volume	10.0 µl



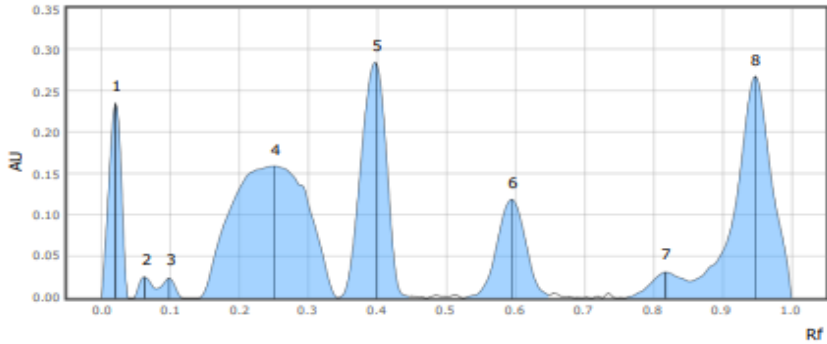
Peak #	Start		Max			End		Area		Manual peak	Substance Name
	Rf	H	Rf	H	%	Rf	H	A	%		
1	0.000	0.0000	0.022	0.2465	23.71	0.043	0.0000	0.00573	10.54	No	GALIC ACID 3
2	0.072	0.0092	0.098	0.0234	2.25	0.115	0.0000	0.00061	1.12	No	
3	0.140	0.0000	0.260	0.1588	15.28	0.343	0.0000	0.01705	31.36	No	
4	0.345	0.0000	0.395	0.2660	25.59	0.440	0.0010	0.01125	20.69	No	
5	0.550	0.0051	0.593	0.0842	8.10	0.650	0.0017	0.00387	7.11	No	
6	0.855	0.0182	0.943	0.2607	25.08	1.000	0.0003	0.01587	29.19	No	

Track 9:	
Type	Sample
Vial ID	9
Description	FAIR 2
Volume	10.0 µl



Peak #	Start		Max			End		Area		Manual peak	Substance Name
	Rf	H	Rf	H	%	Rf	H	A	%		
1	0.000	0.0000	0.022	0.2458	23.55	0.040	0.0000	0.00509	9.65	No	GALIC ACID 3
2	0.140	0.0000	0.250	0.1635	15.67	0.287	0.1356	0.01567	29.73	No	
3	0.343	0.0000	0.395	0.2712	25.98	0.440	0.0023	0.01154	21.89	No	
4	0.527	0.0015	0.595	0.1046	10.03	0.655	0.0010	0.00498	9.45	No	
5	0.863	0.0224	0.943	0.2585	24.77	1.000	0.0004	0.01543	29.27	No	

Track 10:	
Type	Sample
Vial ID	10
Description	FAIR 3
Volume	10.0 µl



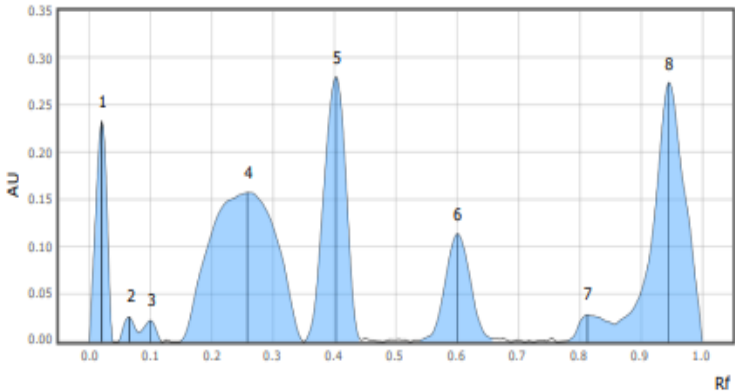
FRAKSI KULIT BUAH RAMBUTAN (2)_20210827_100117

WORLD LEADER IN FLUORIMETROGRAPHY

visionCATS

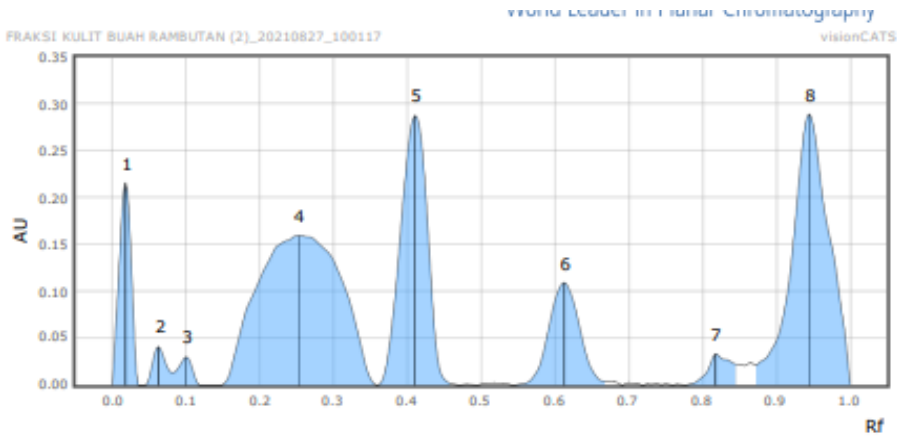
Peak #	Start		Max			End		Area		Manual peak	Substance Name
	Rf	H	Rf	H	%	Rf	H	A	%		
1	0.000	0.0000	0.020	0.2352	20.53	0.040	0.0000	0.00483	7.77	No	GALIC ACID 3
2	0.045	0.0000	0.063	0.0251	2.19	0.077	0.0110	0.00051	0.82	No	
3	0.077	0.0110	0.098	0.0237	2.07	0.117	0.0000	0.00055	0.88	No	
4	0.140	0.0000	0.250	0.1592	13.90	0.343	0.0000	0.02091	33.60	No	
5	0.343	0.0000	0.398	0.2844	24.83	0.448	0.0020	0.01198	19.26	No	
6	0.525	0.0000	0.595	0.1191	10.40	0.647	0.0034	0.00569	9.15	No	
7	0.757	0.0000	0.818	0.0310	2.71	0.853	0.0197	0.00169	2.71	No	
8	0.853	0.0197	0.948	0.2678	23.38	1.000	0.0005	0.01606	25.81	No	

Track 11:	
Type	Sample
Vial ID	11
Description	FAIR 4
Volume	10.0 µl



Peak #	Start		Max			End		Area		Manual peak	Substance Name
	Rf	H	Rf	H	%	Rf	H	A	%		
1	0.000	0.0000	0.020	0.2330	20.53	0.040	0.0000	0.00487	7.98	No	
2	0.048	0.0000	0.065	0.0257	2.27	0.080	0.0095	0.00053	0.87	No	
3	0.080	0.0095	0.100	0.0223	1.97	0.117	0.0000	0.00053	0.86	No	
4	0.147	0.0000	0.258	0.1575	13.88	0.347	0.0008	0.02020	33.10	No	
5	0.350	0.0000	0.403	0.2803	24.69	0.443	0.0021	0.01161	19.02	No	GALIC ACID 3
6	0.540	0.0015	0.600	0.1141	10.05	0.657	0.0034	0.00541	8.86	No	
7	0.772	0.0006	0.813	0.0283	2.49	0.858	0.0182	0.00154	2.52	No	
8	0.858	0.0182	0.945	0.2737	24.12	1.000	0.0006	0.01635	26.78	No	

Track 12:	
Type	Sample
Vial ID	12
Description	FAIR 5
Volume	10.0 µl

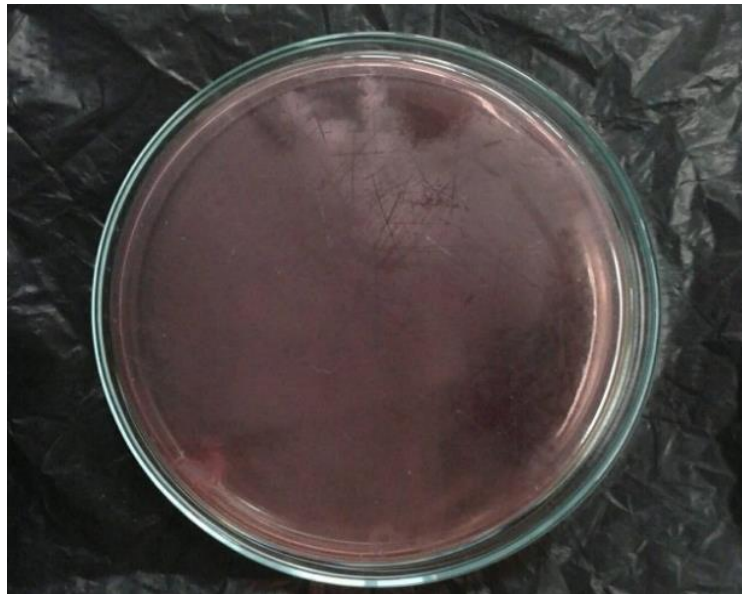


Peak #	Start		Max			End		Area		Manual peak	Substance Name
	Rf	H	Rf	H	%	Rf	H	A	%		
1	0.000	0.0000	0.018	0.2156	18.51	0.035	0.0000	0.00404	6.54	No	
2	0.045	0.0000	0.063	0.0408	3.50	0.080	0.0128	0.00082	1.32	No	
3	0.083	0.0128	0.100	0.0300	2.57	0.120	0.0000	0.00064	1.04	No	
4	0.147	0.0000	0.253	0.1593	13.67	0.357	0.0000	0.02135	34.51	No	
5	0.360	0.0000	0.410	0.2876	24.69	0.470	0.0000	0.01196	19.33	No	GALIC ACID 3
6	0.545	0.0000	0.613	0.1094	9.39	0.667	0.0039	0.00519	8.39	No	
7	0.777	0.0000	0.818	0.0331	2.84	0.848	0.0220	0.00121	1.96	No	
8	0.873	0.0207	0.945	0.2890	24.81	1.000	0.0009	0.01666	26.93	No	

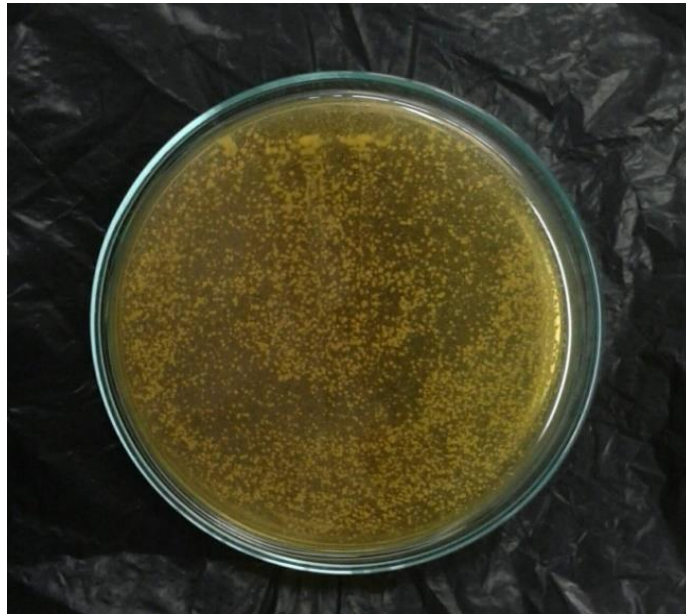
Lampiran 21. Peremajaan Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*



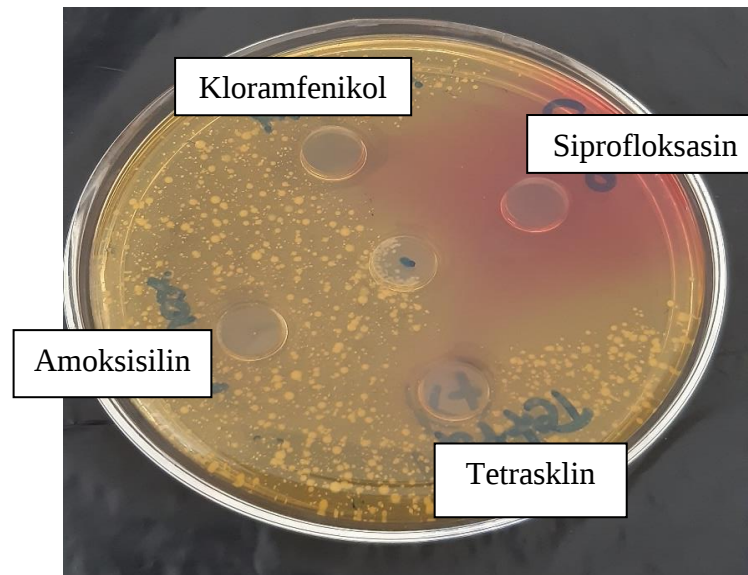
Lampiran 22. Uji Sterilitas Media



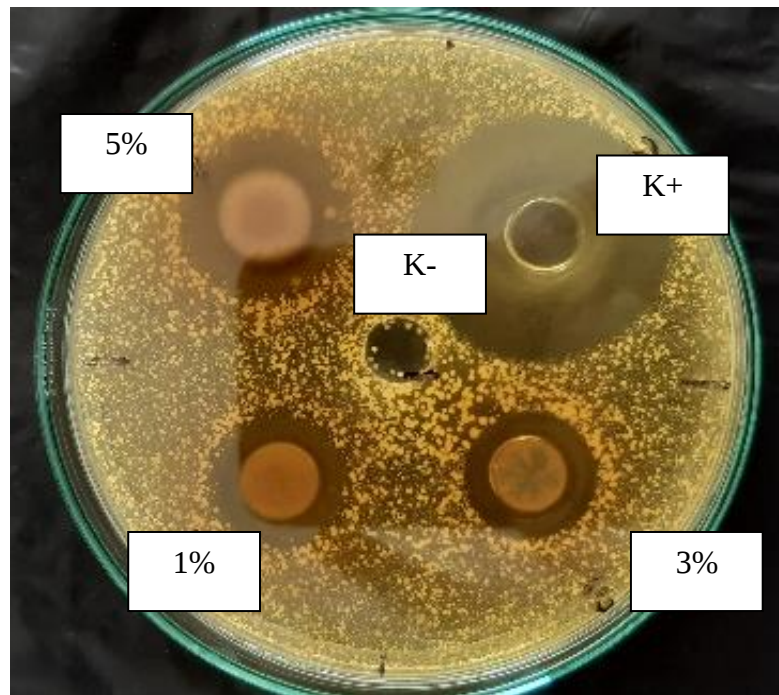
Lampiran 23. Uji Fertilitas Media



Lampiran 24. Uji Resistensi



Lampiran 25. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat Terhadap Bakteri Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*



Lampiran 26. Kontrol Positif Sipprofloksasin



Lampiran 27. Alat-alat Uji Antibakteri dan Penetapan Kadar Senyawa Fenolik



Autoklaf



Inkubator



Jangka sorong



Mikropipet



Spektrofotometri



Timbangan Analitik



Lampu UV 254



Enkas



Densitometer

Lampiran 28. Pembuatan Media

1. Media MSA (*Monitol Salt Agar*), Etiket : 111 gram / 1 liter

Tiap cawan petri berisi 20 ml media MSA, maka untuk 6 cawan petri dibutuhkan media : $6 \times 20\text{ml} = 120\text{ ml}$ media MSA.

$$\text{Media MSA yang dibutuhkan} = \frac{111\text{ gram}}{1000\text{ ml}} \times 120\text{ ml} = 13,32\text{ gram}$$

Cara pembuatan :

Serbuk MSA ditimbang sebanyak 13,32 gram lalu dimasukan kedalam *beaker glass*. Aquadest ditambahkan sebanyak 120 ml, dipanaskan sambil diaduk hingga mendidih, kemudian disterilkan dengan otoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 15 Psi.

2. Media NB (*Nutrient Broth*), Etiket : 13 gram/ 1 liter

$$\text{Media NB yang dibutuhkan} = \frac{13\text{ gram}}{1000\text{ ml}} \times 100\text{ ml} = 1,3\text{ gram}$$

Cara pembuatan :

Serbuk NB ditimbang sebanyak 1,3 g lalu dimasukkan kedalam *beaker glass*. Aquadest ditambahkan sebanyak 100 ml, diaduk sampai homogen, kemudian disterilkan dengan otoklaf pada suhu 121° C selama 15 menit dengan tekanan 15 Psi.

Lampiran 29. Pembuatan Larutan Mc. Farland

BaCl ₂ . 2H ₂ O	1% ^b / _v	0,1 ml
H ₂ SO ₄	1% ^v / _v	9,9 ml

1. Pembuatan Larutan BaCl₂ . 2H₂O 1% ^b/_v dibuat 10 ml

$$\frac{1 \times 10 \text{ ml}}{100} \times 1 \frac{\text{gram}}{\text{ml}} = 0,1 \text{ g} \sim 100 \text{ mg}$$

Cara pembuatan :

- Ditimbang serbuk BaCl₂ sebanyak 100 mg, dimasukkan dalam labu takar 10,0 ml.
- Dilarutkan dengan aquadest dan ditambah hingga 10 ml kemudian dihomogenkan.

2. Pembuatan Larutan H₂SO₄ 1% ^v/_v dibuat 100 ml

$$\begin{aligned} V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\ 100 \times 1\% &= V_2 \times 98\% \\ &= \frac{100\% \times 1}{98\%} \\ &= 1,02 \text{ ml} \sim 1 \text{ ml} \end{aligned}$$

Cara pembuatan :

- Dipipet seksama 1,0 ml H₂SO₄ pekat, dimasukkan dalam labu takar 100,0 ml dan kemudian ditambah aquadest hingga 100,0 ml lalu dihomogenkan.
- Dipipet H₂SO₄ 1% ^v/_v 9,9 ml dimasukkan dalam labu takar 10,0 ml
- Dipipet BaCl₂.2H₂O 1% ^b/_v 0,1 ml dimasukkan dalam labu takar tadi lalu dihomogenkan
- Dari campuran no 3 dan 4 dipipet 5,0 ml lalu ditambah 5,0 ml NB lalu dimasukkan ke dalam labu takar 10,0 ml. Ditentukan serapannya menggunakan spektrofotometer UV dengan panjang gelombang λ 625 nm.

Lampiran 30. Uji Normalitas dan Homogenitas Antibakteri

Tests of Normality^a

Kelompok		Kolmogorov-Smirnov ^b			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Aktivitas Antibakteri	Kontrol positif	.208	5	.200 [*]	.961	5	.814
	Konsentrasi 1%	.229	5	.200 [*]	.965	5	.842
	Konsentrasi 3%	.286	5	.200 [*]	.898	5	.398
	Konsentrasi 5%	.307	5	.138	.812	5	.101

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Aktivitas Antibakteri is constant when Kelompok = Kontrol negatif. It has been omitted.

b. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variance^a

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Aktivitas Antibakteri	Based on Mean	1.133	3	16	.365
	Based on Median	.476	3	16	.704
	Based on Median and with adjusted df	.476	3	13.056	.705
	Based on trimmed mean	1.100	3	16	.378

a. Aktivitas Antibakteri is constant when Kelompok = Kontrol negatif. It has been omitted.

ANOVA

Aktivitas Antibakteri

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	11.633	4	2.908	1442.505	.000
Within Groups	.040	20	.002		
Total	11.673	24			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Aktivitas Antibakteri

LSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol negatif	Kontrol positif	-2.1079200 [*]	.0283974	.000	-2.167156	-2.048684
	Konsentrasi 1%	-.6955000 [*]	.0283974	.000	-.754736	-.636264
	Konsentrasi 3%	-.7780000 [*]	.0283974	.000	-.837236	-.718764
	Konsentrasi 5%	-.8634600 [*]	.0283974	.000	-.922696	-.804224
Kontrol positif	Kontrol negatif	2.1079200 [*]	.0283974	.000	2.048684	2.167156
	Konsentrasi 1%	1.4124200 [*]	.0283974	.000	1.353184	1.471656
	Konsentrasi 3%	1.3299200 [*]	.0283974	.000	1.270684	1.389156
	Konsentrasi 5%	1.2444600 [*]	.0283974	.000	1.185224	1.303696
Konsentrasi 1%	Kontrol negatif	.6955000 [*]	.0283974	.000	.636264	.754736
	Kontrol positif	-1.4124200 [*]	.0283974	.000	-1.471656	-1.353184
	Konsentrasi 3%	-.0825000 [*]	.0283974	.009	-.141736	-.023264
	Konsentrasi 5%	-.1679600 [*]	.0283974	.000	-.227196	-.108724
Konsentrasi 3%	Kontrol negatif	.7780000 [*]	.0283974	.000	.718764	.837236
	Kontrol positif	-1.3299200 [*]	.0283974	.000	-1.389156	-1.270684
	Konsentrasi 1%	.0825000 [*]	.0283974	.009	.023264	.141736
	Konsentrasi 5%	-.0854600 [*]	.0283974	.007	-.144696	-.026224
Konsentrasi 5%	Kontrol negatif	.8634600 [*]	.0283974	.000	.804224	.922696
	Kontrol positif	-1.2444600 [*]	.0283974	.000	-1.303696	-1.185224
	Konsentrasi 1%	.1679600 [*]	.0283974	.000	.108724	.227196
	Konsentrasi 3%	.0854600 [*]	.0283974	.007	.026224	.144696

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

Lampiran 31. Uji Normalitas dan Homogenitas Kadar Senyawa Fenolik

Tests of Normality

Kelompok		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kadar Senyawa Fenolik	Fraksi N Heksan	.194	5	.200 [*]	.957	5	.788
	Fraksi Etil Asetat	.398	5	.009	.675	5	.005
	Fraksi Air	.259	5	.200 [*]	.903	5	.425

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variance

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Kadar Senyawa Fenolik	Based on Mean	4.746	2	12	.030
	Based on Median	1.000	2	12	.396
	Based on Median and with adjusted df	1.000	2	4.234	.441
	Based on trimmed mean	3.549	2	12	.062

Kruskal-Wallis Test

Ranks

Kelompok		N	Mean Rank
Kadar Senyawa Fenolik	Fraksi N Heksan	5	5.80
	Fraksi Etil Asetat	5	13.00
	Fraksi Air	5	5.20
	Total	15	

Test Statistics^{a,b}

	Kadar Senyawa Fenolik
Chi-Square	9.420
df	2
Asymp. Sig.	.009

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:
Kelompok

Mann-Whitney Test

Ranks

Kelompok		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kadar Senyawa Fenolik	Fraksi N Heksan	5	3.00	15.00
	Fraksi Etil Asetat	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^a

	Kadar Senyawa Fenolik
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

Ranks

Kelompok		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kadar Senyawa Fenolik	Fraksi N Heksan	5	5.80	29.00
	Fraksi Air	5	5.20	26.00
	Total	10		

Test Statistics^a

	Kadar Senyawa Fenolik
Mann-Whitney U	11.000
Wilcoxon W	26.000
Z	-.313
Asymp. Sig. (2-tailed)	.754
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.841 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

Ranks

Kelompok		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kadar Senyawa Fenolik	Fraksi Etil Asetat	5	8.00	40.00
	Fraksi Air	5	3.00	15.00
	Total	10		

Test Statistics^a

	Kadar Senyawa Fenolik
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.