

AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI AQUADES, DIKLOROMETANA, DAN N-HEKSANA DAUN MAJAPAHIT (*Crescentia cujete L.*) TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* ATCC 25922 SECARA *IN-VITRO*

ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF MAJAPAHIT (*Crescentia cujete L.*) LEAF FRACTION AQUADEST, DICHLOROMETANA, AND N-HEKSANA AGAINST *Escherichia coli* ATCC 25922 BACTERIA BY *IN-VITRO*

Choirul Huda¹, Rahma Diyan Martha¹, Niken Desi Wulandhari¹

¹ Program Studi Farmasi, STIKes Karya Putra Bangsa

Jl. Raya Tulungagung-Blitar KM 4, Sumbergempol, Kabupaten Tulungagung, Jawa Timur

Article Info:

Received: 2022-08-22

Revised: 2022-09-25

Accepted: 2022-09-27

✉ E-mail Author: hudacoy85@gmail.com

ABSTRACT

Escherichia coli is a gram-negative bacteria which is able to cause infectious diseases in humans, including urinary tract infections, stomach cramps, and diarrhea. The purpose of this study was to determine the antibacterial activity of the Majapahit leaf fraction and the optimum concentration to inhibit *Escherichia coli* bacteria. Majapahit leaves were extracted by the maceration method using 70% ethanol followed by fractionation using aquadest solvent, dichloromethane, and n-Hexane. Phytochemical screening of Majapahit leaf extract for the content of flavonoids, alkaloids, and saponins. Antibacterial activity test using paper disc diffusion method with positive control of chloramphenicol and negative control of 10% DMSO. The results of phytochemical screening of extracts were positive to flavonoid compounds, alkaloids, and saponins. The results of the antibacterial activity test of the Majapahit leaf fraction had an antibacterial activity which was indicated by the presence of a clear zone around the disc. The aqua dest fraction is the most active fraction that can inhibit *Escherichia coli* bacteria. Based on the data analysis that has been carried out, it can be concluded that the use of different types of solvents did not produce significant differences in inhibiting *Escherichia coli* bacteria.

Keywords: antibacterial, majapahit leaf, fractionation, *Escherichia coli*

ABSTRAK

Escherichia coli merupakan bakteri yang dapat menyebabkan penyakit infeksi pada manusia, antara lain infeksi saluran kemih, kram perut, dan diare. *Escherichia coli* merupakan bakteri gram negatif. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri fraksi daun Majapahit dan konsentrasi optimum untuk menghambat bakteri *Escherichia coli*. Daun Majapahit diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan etanol 70% dilanjutkan dengan fraksinasi menggunakan pelarut aquadest, diklorometana, dan n-Heksana. Skrining fitokimia ekstrak daun Majapahit terhadap kandungan flavonoid, alkaloid, dan saponin. Uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi paper disc dengan kontrol positif kloramfenikol dan kontrol negatif DMSO 10%. Hasil skrining fitokimia ekstrak positif adanya senyawa flavonoid, alkaloid, dan saponin. Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi daun Majapahit memiliki aktivitas antibakteri yang ditunjukkan dengan adanya zona bening di sekitar cakram. Fraksi aquadest merupakan fraksi paling aktif yang dapat menghambat bakteri *Escherichia coli*. Berdasarkan analisis data yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa penggunaan jenis pelarut yang berbeda tidak menghasilkan perbedaan yang signifikan dalam menghambat bakteri *Escherichia coli*.

Kata Kunci: antibakteri, daun majapahit, fraksinasi, *Escherichia coli*

1. PENDAHULUAN

Penyakit infeksi merupakan kejadian yang cukup umum di seluruh dunia, namun 10% orang yang terinfeksi di Asia Tenggara berasal dari negara Indonesia¹. Penyakit infeksi dapat menular dari satu orang ke orang lain. Infeksi dapat disebabkan oleh mikroorganisme seperti jamur, virus, parasit dan bakteri.² *Escherichia coli* merupakan bakteri flora normal yang terdapat pada manusia, tetapi dapat menyebabkan infeksi.¹ Infeksi *Escherichia coli* disebabkan oleh makanan dan air minum yang terkontaminasi atau langsung ke pasien.³

Persiapan dan kebersihan penanganan makanan yang aman kunci untuk mencegah penyebaran *Escherichia coli*.³ *Escherichia coli* adalah bakteri Gram negatif yang memiliki bentuk basil yang terdapat pada usus manusia dapat menyebabkan infeksi saluran kemih, kram perut dan diare (Sari, 2017). Resistensi antibiotik merupakan istilah pengobatan antibakteri yang awalnya memiliki reaksi sensitif ketika ada mikroorganisme menjadi tidak sensitif. Resistensi terhadap antibiotik tertentu dapat disebabkan oleh faktor seperti penggunaan antibiotik yang tidak tepat. Pencarian antibiotik alternatif, seperti dari tumbuhan yang berkhasiat obat semakin meningkat seiring dengan banyaknya kasus resisten terhadap antibiotik.²

Tumbuhan memiliki senyawa metabolit sekunder dengan kemampuan antibakteri sehingga dapat digunakan sebagai antibiotik.¹ Tumbuhan yang dapat digunakan sebagai obat tradisional untuk penyakit infeksi adalah tanaman majapahit (*Crescentia cujete* L.), tumbuhan ini berasal dari family *Bignoniaceae*. Tanaman majapahit khususnya pada daun majapahit (*Crescentia cujete* L.) mengandung senyawa metabolit sekunder meliputi alkaloid, saponin dan flavonoid.⁴ Pada penelitian yang dilakukan oleh Ningrum,⁴ belum dilakukan proses fraksinasi, sehingga pada penelitian ini dilakukan proses fraksinasi untuk memisahkan senyawa berdasarkan kepolarannya secara sederhana serta untuk mengetahui aktivitas antibakteri pada pelarut yang digunakan. Meluasnya spektrum aktivitas maserat pada tumbuhan dapat dibantu dengan proses fraksinasi.

Berdasarkan permasalahan yang telah dipaparkan, maka penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antibakteri fraksi daun majapahit (*Crescentia cujete* L.) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*, salah satu bakteri yang dapat menyebabkan gejala infeksi pada manusia. Bagaimana aktivitas antibakteri fraksi daun majapahit (*Crescentia cujete* L.) terhadap bakteri *Escherichia coli* dan berapa konsentrasi optimum fraksi daun majapahit (*Crescentia cujete*) untuk seri konsentrasi 5%, 10%, dan 15% terhadap bakteri *Escherichia coli* adalah rumusan masalah yang dibahas pada penelitian ini. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui aktivitas antibakteri fraksi daun majapahit (*Crescentia cujete*) terhadap bakteri *Escherichia coli* dan mengetahui konsentrasi fraksi daun majapahit (*Crescentia cujete*) yang optimum pada seri konsentrasi terhadap bakteri *Escherichia coli*.

2. METODOLOGI

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan yaitu (*Crescentia cujete* L.) sebanyak 2 kg, asam asetat glasial, etanol 70%, dichloromethane, N-Heksan, *Aqua Destilata*, Asam Klorida (HCl), asam sulfat pekat (H₂SO₄), Natrium Hidroksida (NaOH), Pereaksi Mayer, (NA) *Nutrient Agar*, (NB) *Nutrient Broth Escherichia coli* ATCC 25922, hidrogen peroksida (H₂O₂), Kapsul Antibiotik *Chloramphenicol*, *Dimethylsulfoxide*, Kristal Violet, lugol iodine, etanol, safranin.

Alat yang digunakan yaitu timbangan analitik (Kenko), seperangkat alat gelas (Pyrex), corong pisah (Pyrex), batang pengaduk, kain mori, botol maserasi, aluminium foil, Blender (National), rak tabung reaksi, ayakan mesh 80, magnetic stirrer with heater 79-1, autoclave (Gea model YX2808), *Laminar Air Flow* (ESCO), mikropipet, lemari pendingin (Sharp), jangka sorong, oven, kapas, tali, lampu spiritus, cakram kosong steril, inkubator (model DNP *Electro Thermal Incubator*), ose steril, cawan petri, statif dan klem.

Pembuatan simplisia dan ekstrak

Pembuatan simplisia daun majapahit (*Crescentia cujete L.*) diawali dengan mengumpulkan daun majapahit sebanyak 2 kg yang masih segar dan hijau. Daun majapahit (*Crescentia cujete L.*) yang telah terkumpul dilanjutkan dengan melakukan sortasi basah.⁵ Pencucian dilakukan menggunakan air bersih (Damayanti, 2021). Setelah daun mengalami pencucian, dikeringkan dalam oven suhu 40-50°C. Simplisia kering bentuk serbuk diayak menggunakan mesh 80.

Serbuk kering simplisia daun majapahit (*Crescentia cujete L.*) ditimbang sebanyak 500 gram. Merendam serbuk dengan pelarut etanol 70% sebanyak 500 gram dalam 1500 mL atau sampai terendam.⁶ Proses maserasi dilakukan sampai terjadi kesetimbangan konsentrasi antara larutan di luar dan didalam sel.⁷ Filtrat yang di dapatkan di pekatkan kedalam oven dengan suhu 80°C sampai di peroleh ekstrak daun majapahit.

Uji susut pengeringan

Susut pengeringan adalah pengurangan berat setelah dikeringkan dengan cara yang telah ditetapkan.⁵

$$\text{Rumus \% pengeringan} = \frac{A-B}{B} \times 100\%$$

Ket:

A: Bobot Daun Basah

B: Bobot Daun Kerin

Uji kadar air

Uji kadar air serbuk simplisia dilakukan dengan memasukkan kurang lebih 10 g serbuk dan timbang seksama dalam wadah yang telah ditara. Ekstrak tersebut dikeringkan menggunakan oven pada suhu 105°C selama 5 jam dan kemudian ditimbang.⁸

$$\text{Rumus \% kadar air} = \frac{A-B}{B} \times 100\%$$

Ket:

A: Bobot sebelum dioven

B: Bobot setelah dioven

Uji Bebas Kandungan Etanol

Uji ekstrak bebas etanol dilakukan dengan mencampurkan 5 tetes H₂SO₄ pekat dan 2 mL larutan kalium dikromat, terdapat kandungan etanol menunjukkan perubahan dari warna jingga menjadi hijau kebiruan.⁹

Skrining fitokimia

Skrining yang digunakan yaitu dengan uji tabung dengan cara:

a. Flavonoid

Sebanyak 1mL sampel ditambahkan dengan 3 tetes NaOH 0,1 N kemudian diamati perubahan warna yang terbentuk, hasil positif ditunjukkan dengan perubahan warna kuning hingga jingga.¹⁰

b. Alkaloid

Sebanyak 0,5 g ekstrak sampel + 1 ml 2N HCl. Filtrat ditempatkan dalam tabung dan ditambahkan pereaksi Mayer. Sampel positif ditandai, menghasilkan endapan putih kekuning-kuningan.¹¹

c. Saponin

Menimbang sebanyak 0,5 g ekstrak sampel, di tambahkan dengan 10 ml *aquades* panas, dinginkan, dan ditambahkan HCl 2N kemudian diaduk larutan selama 10 menit. Hasil positif menunjukkan bahwa busaterbentuk dan tetap stabil selama minimal 10 menit. Busa yang dihasilkan menunjukkan adanya glikosida yang dapat membentuk busa dalam air, yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya.¹²

Fraksinasi

Mengukur 75mL *aqua dest* dan ditambahkan ekstrak sebanyak 5 gram, dimasukkan dalam corong pisah ditambah dengan 25 mL n-heksan yang masuk kategori pelarut non-polar.⁹ Kocok sambil di buka kran pada corong pisah, gantung corong pisah pada statif dan lihat batas antara *aquadest* dengan n-heksan. *Aquadest* akan terletak pada bagian bawah karena mempunyai berat jenis yang lebih besar dari n-heksan. Fraksinasi dengan pelarut n-heksan diulang sampai tiga kali. Fraksi *aquadest* ditambahkan kembali ke dalam corong pisah dengan *diklorometana* 25 mL sebagai pelarut semi polar. Lakukan

pengulangan proses fraksinasi sampai tiga kali bertujuan supaya senyawa metabolit sekunder benar-benar terpisah. Hasil masing-masing rendemen dipekatkan menggunakan oven.⁸

Uji Identifikasi bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dengan Pewarnaan Bakteri

Pengamatan morfologi sel bakteri menggunakan pewarnaan gram. *Aqua dest* diteteskan 1-2 tetes di atas kaca objek, koloni bakteri dari media dioleskan ke permukaan *aqua dest* steril, biarkan olesan tersebut kering karena udara. Setelah olesan kering lewatkan kaca objek beberapa kali di atas nyala api. Kemudian ditetesi dengan larutan (Gram A) kristal ungu, diamkan selama satu menit, kemudian cuci menggunakan *aqua dest* pada botol semprot dan tunggu hingga kering. Selanjutnya ditetesi dengan larutan (Gram B) iodium dibiarkan selama 2 menit, dicuci menggunakan *aqua dest* pada botol semprot dan dikeringkan. Kemudian ditetesi dengan larutan (Gram C) etanol 96% selama 30 detik, dicuci menggunakan *aqua dest* pada botol semprot dan dikeringkan. Setelah itu ditetesi dengan larutan (Gram D) safranin atau zat penutup dan didiamkan selama 30 detik, kemudian dicuci menggunakan *aqua dest* pada botol semprot dan dikeringkan. Langkah terakhir diamati menggunakan mikroskop pada pembesaran kuat. Hasil pewarnaan akan berwarna violet untuk bakteri gram positif dan berwarna merah untuk bakteri gram negatif.¹³

Uji Aktivitas Antibakteri Pada Fraksi Daun Majapahit

Aktivitas antibakteri pada fraksi daun majapahit (*Crescentia cujete L.*) dilakukan menggunakan metode difusi cakram. Cakram kertas berdiameter 6 milimeter disiapkan dan disterilkan.¹⁴ Fraksi daun majapahit (*Crescentia cujete L.*) dengan seri konsentrasi 5%, 10%, dan 15% ditambahkan pada masing-masing cakram steril dengan jumlah 20 µL. Kertas cakram steril yang sudah diresapi dengan fraksi daun majapahit (*Crescentia cujete L.*) diletakkan pada permukaan media dengan pinset steril dan ditekan perlahan kebawah untuk memastikan kontak antara kertas cakram dengan permukaan media. Kontrol positif digunakan kloramfenikol diteteskan sejumlah 10 µL, sedangkan pada kontrol negatifnya dengan membasahi kertas cakram menggunakan *dimethylsulfoxide* (DMSO) 10%. Cawan petri diinkubasi dengan waktu 24 jam pada suhu 37°C. Diamati dan diukur diameter zona hambatnya.¹⁵

Pengukuran zona hambat

Pengukuran zona hambat yang terbentuk diukur diameternya menggunakan alat yaitu jangka sorong, dan diperoleh diameter (mm) daerah hambatan pertumbuhan bakteri termasuk pada diameter kertas cakram. Dilakukan pengulangan tiga kali untuk menunjukkan hasil yang akurat pada setiap daerah hambatan dari arah yang berbeda (Octaviani *et al.*, 2019).

Analisis statistika

Data hasil uji aktivitas fraksi daun majapahit (*Crescentia cujete L.*) terhadap pengukuran diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dianalisis secara statistik menggunakan program *Statistical Product Services Solution* (SPSS 25).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji susut pengeringan

Tabel 1. Hasil uji susut pengeringan

Sampel	Bobot Daun Basah	Bobot Daun Kering	% Hasil
Daun Majapahit (<i>Crescentia cujete L.</i>)	2,178 kg	0,753 kg	65 %

Tujuan dilakukan pengeringan adalah untuk mengurangi berat bahan pada daun majapahit (*Crescentia cujete L.*) sehingga bahan dapat disimpan lebih lama, selain itu volume dan berat daun majapahit (*Crescentia cujete L.*) menjadi lebih kecil sehingga mempermudah dan menghemat ruang.¹⁶ Hasil uji susut pengeringan simplisia daun majapahit pada tabel 1. diketahui sebesar 65 % untuk parameter susut pengeringan tidak ada syarat atau rentang nilai yang diperbolehkan.¹⁷ Hasil tersebut dipengaruhi oleh kadar air, suhu dan lama pengeringan pada daun majapahit (*Crescentia cujete L.*), sehingga mengalami penyusutan dari berat awal sebesar 2,178 kg menjadi 0,753 kg daun kering.

Uji kadar air

Tabel 2. Hasil uji kadar air

Sampel	Bobot Awal	Bobot Akhir	% Hasil
Serbuk Simplisia Daun Majapahit (<i>Crescentia cujete L.</i>)	10 gr	9,35 gr	6,5 %

Uji kadar air memiliki syarat yaitu tidak melebihi 10%.¹⁷ Syarat uji kadar air sesuai maka dapat meminimalisir kandungan air dalam simplisia sehingga dapat mencegah pertumbuhan dan aktivitas enzim mikroorganisme pada simplisia. Simplisia daun majapahit (*Crescentia cujete L.*) akan tahan lama serta kandungan zat aktif didalamnya tidak berubah.⁸ Kadar air pada simplisia tergantung pada waktu yang digunakan untuk pengeringan simplisia, semakin kering maka semakin kecil juga kadar airnya, prinsipnya yaitu menguapkan air yang ada pada daun majapahit (*Crescentia cujete L.*) dengan cara pemanasan pada suhu 105°C selama 5 jam.¹⁷

Rendemen Ekstrak

Tabel 3. Hasil rendemen ekstrak

Bobot Ekstrak	Bobot Serbuk Simplisia	% Hasil
55 gr	550 gr	10 %

Nilai rendemen yang tinggi menunjukkan banyaknya komponen bioaktif yang terkandung di dalamnya (Charisma, 2020). Hasil rendemen dari suatu sampel sangat diperlukan untuk mengetahui banyaknya ekstrak yang diperoleh selama proses ekstraksi, semakin tinggi nilai rendemen maka semakin menurun kualitas senyawa yang ada pada ekstrak (Hasnaeni *et al.*, 2019). Hasil uji rendemen ekstrak didapatkan sebesar 10 % menunjukkan rendemen yang dihasilkan kecil. Kecilnya nilai rendemen yang dihasilkan dipengaruhi oleh ukuran partikel, waktu ekstraksi, serta jenis dan jumlah pelarut (Maslukhah *et al.*, 2016).

Uji Bebas Etanol

Tabel 4. Uji bebas etanol

Perlakuan	Perubahan warna	Hasil
H ₂ SO ₄ + kalium dikromat	Tidak terjadi perubahan warna	+

Uji bebas etanol dilakukan untuk memastikan bahwa ekstrak daun majapahit yang diperoleh bebas dari pelarut yang digunakan sehingga tidak mempengaruhi dalam pengujian aktivitas antibakteri, karena etanol 70% memiliki aktivitas antibakteri.^{5,9} Hasil uji pada tabel 4. menunjukkan bahwa daun majapahit terbukti positif bebas pelarut etanol 70%, hal tersebut ditandai dengan tidak terjadinya perubahan warna dari jingga menjadi hijau kebiruan. Uji bebas etanol dilakukan dengan penambahan H₂SO₄ pekat yang bertujuan untuk membuat kondisi asam dengan kalium dikromat yang awalnya berwarna jingga, kemudian setelah bereaksi dengan larutan yang mengandung etanol akan berubah menjadi hijau kebiruan karena ion dikromat yang berwarna jingga telah tereduksi menjadi ion kromium yang berwarna hijau.⁵

Uji Skrining Fitokimia

Tabel 5. Uji skrining fitokimia

Golongan senyawa	Pereaksi	Perubahan Warna	Hasil
Flavonoid	Air panas + NaOH 0,1N	Jingga	+
Alkaloid	HCl 2N + Mayer	Endapan putih Kekuning-kuningan	+
Saponin	HCl 2N + air panas	Busa stabil	+

Hasil uji skrining fitokimia ekstrak daun majapahit (*Crescentia cujete L.*) menunjukkan bahwa ekstrak daun majapahit (*Crescentia cujete L.*) mengandung senyawa flavonoid, alkaloid dan saponin. Hasil skrining fitokimia tersebut sesuai dengan penelitian Ningrum,⁴ yang menyatakan jika daun majapahit (*Crescentia cujete L.*) memiliki senyawa metabolit sekunder yaitu flavonoid, alkaloid dan saponin.

Rendemen Fraksinasi

Tabel 6. Hasil rendemen fraksinasi

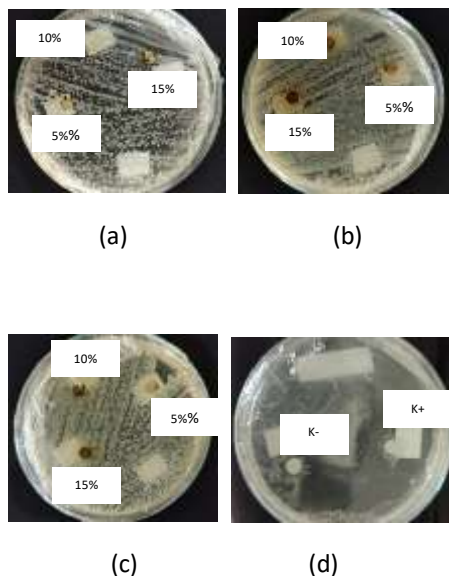
Fraksi	Bobot Fraksi	Bobot Serbuk Simplisia	% Hasil
Aquadest	31 gr		5,63
DCM	1 gr	550 gr	0,18
n-Heksana	3 gr		0,54

Hasil rendemen pada ketiga fraksi mempunyai hasil yang berbeda. Menurut Handayani,¹⁸ semakin besar rendemen yang dihasilkan semakin banyak komponen bioaktif yang terkandung di dalamnya. Fraksi *aquadestilata* lebih banyak mengandung senyawa polar karena rendemen tertinggi terdapat pada pelarut *aquadestilata* yang bersifat polar. Senyawa aktif yang bersifat semipolar dan nonpolar memiliki jumlah lebih rendah, hal ini menyebabkan rendemen yang dihasilkan lebih sedikit.

Berdasarkan penelitian Siregar,¹⁹ pelarut yang bersifat polar dapat menarik senyawa berupa fenolik, saponin, flavonoid dan tannin. Pelarut semi polar mampu menarik senyawa berupa terpenoid, alkaloid, aglikon dan glikosida. Pelarut nonpolar dapat menarik senyawa kimia seperti lilin, lipid dan minyak yang mudah menguap. Perbedaan senyawa yang terkandung dalam masing-masing fraksi dikarenakan oleh perbedaan kemampuan pelarut dalam melarutkan senyawa metabolit yang dikarenakan oleh perbedaan kepolaran pada masing-masing pelarut.²⁰

Uji Aktivitas Antibakteri

Gambar 1. Uji aktivitas antibakteri



Ket: (a) Fraksi Aquadest (b) Fraksi Dichlorometan (c) Fraksi n-heksan (d) Kontrol

Tabel 7. Uji aktivitas antibakteri

Kelompok	Zona Hambat ± SD	Kategori Respon Hambat
Kelompok I	2,3 ± 4,0	Lemah
Kelompok II	4,7 ± 4,2	Lemah
Kelompok III	6,7 ± 5,8	Sedang
Kelompok IV	2,3 ± 4,0	Lemah
Kelompok V	5,0 ± 4,4	Lemah
Kelompok VI	2,8 ± 4,9	Lemah
Kelompok VII	2,3 ± 4,0	Lemah
Kelompok VIII	0	Tidak Menghambat
Kelompok IX	0	Tidak Menghambat
Kelompok X	8,3 ± 2,3	Sedang
Kelompok XI	0	Tidak Menghambat

Ket:

Kelompok I: Aquadest 5%
Kelompok II: Aquadest 10%
Kelompok III: Aquadest 15%
Kelompok IV: DCM 5%
Kelompok V: DCM 10%
Kelompok VI: DCM 15%

Kelompok VII: n-Heksan 5%
Kelompok VIII: n-Heksan 10%
Kelompok IX: n-Heksan 15%
Kelompok X: Kontrol +
Kelompok XI: Kontrol -

Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi daun majapahit (*Crescentia cujete L.*) menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri masuk ke dalam kategori lemah hingga sedang. Besar atau kecilnya zona hambat yang terbentuk dipengaruhi oleh konsentrasi yang diberikan semakin besar konsentrasi yang diberikan menyebabkan semakin besar pula kandungan bahan aktifnya. Kenaikan atau penurunan zona hambat yang tidak sama dapat dikarenakan oleh sifat kelarutan zat aktif serta perbedaan kecepatan difusi pada media agar. Keefektifan dari suatu zat antibakteri dalam penghambatan pertumbuhan bakteri tergantung pada sifat bakteri uji yang digunakan, konsentrasi dan lamanya waktu kontak. Berdasarkan penelitian dari Siregar,¹⁹ faktor yang mempengaruhi ukuran daerah hambatan meliputi sensitivitas organisme, medium kultur, kondisi inkubasi dan kecepatan difusi pada media sedangkan faktor yang mempengaruhi kecepatan difusi pada media yaitu konsentrasi mikroorganisme, komposisi media, suhu inkubasi dan waktu inkubasi. Untuk bisa menghambat atau membunuh bakteri, sampel yang digunakan harus masuk ke dalam sel melalui dinding sel bakteri, sedangkan pada penelitian ini bakteri yang digunakan merupakan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 yang memiliki dinding sel tebal berupa peptidoglikan dan lebih banyak mengandung lipid. Bakteri gram negatif juga mempunyai sistem membran luar berupa bilayer yang terdiri dari fosfolipid (bagian dalam) dan lipopolisakarida (bagian luar) yang bersifat nonpolar. Hal tersebut menjadikan senyawa antibakteri lebih sulit untuk masuk ke dalam sel sehingga aktivitas antibakteri lemah dibandingkan bakteri gram positif.

Respon terhadap pemberian zat antimikroba terhadap bakteri gram negatif disebabkan karena kepekaan bakteri gram negatif yang berbeda dengan bakteri gram positif, bakteri gram negatif mempunyai struktur yang berlapis serta kandungan lemak yang cukup tinggi (11-12%) sehingga menyebabkan lebih tahan terhadap perubahan lingkungan. Penghambatan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 yang menghasilkan kategori respon rendah salah satunya karena penggunaan jenis pelarut polar. Air merupakan salah satu jenis pelarut polar, sehingga mengakibatkan senyawa bioaktif yang tersaring bersifat polar sedangkan senyawa yang bersifat polar sukar untuk melalui dinding sel bakteri gram negatif karena kandungan dinding sel bakteri terdiri dari kandungan lipid yang lebih banyak dari pada dinding sel bakteri gram positif.

Analisis Statistika

Hasil dari masing-masing sampel menunjukkan data yang berbeda, sehingga dilakukan uji normalitas data untuk mengetahui data yang dihasilkan berdistribusi normal. Uji normalitas menggunakan analisa statistika menggunakan SPSS. Nilai uji normalitas data menggunakan *Shapiro Wilk* karena jumlah sampel yang kurang dari 50 untuk mendapatkan hasil yang akurat dan didapatkan hasil nilai $p=0,000$ ($p \geq 0,05$) yang berarti data tidak berdistribusi normal atau H_0 ditolak, ketidaknormalan data tersebut dikarenakan perbedaan variasi data yang jauh kemudian, pengujian ini dilanjutkan pada uji non parametrik yaitu *Kruskal Wallis* untuk menentukan adanya perbedaan signifikan secara statistik antara lebih dari 2 kelompok variabel. Hasil uji *Kruskal Wallis* didapatkan nilai $p=0,194$ ($p \leq 0,05$) yang berarti tidak terdapat perbedaan bermakna pada masing-masing pelarut fraksi terhadap aktivitas antibakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dari kelompok perlakuan fraksi daun majapahit.

4. KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah:

1. Fraksi *aguades*, fraksi dichlorometan dan fraksi n-heksan memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 yang ditunjukkan dengan adanya zona hambat pada uji aktivitas antibakteri
2. Konsentrasi optimum fraksi daun majapahit (*Crescentia cujete L.*) dalam menghambat bakteri *Escherichia coli* belum bisa ditentukan karena berdasarkan analisis statistika belum menunjukkan perbandingan yang signifikan.

DAFTAR PUSTAKA

- ¹ Sari, Y., 2017, Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Dan Senyawa Aktif Daun Kardia (*Bellucia pentamera* Naudin) Terhadap *Escherichia coli* Dan *Staphylococcus aureus*. Universitas Sriwijaya.
- ² Safitri, M.A.C., 2020, Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Batang Pepaya (*Carica papaya* Linn.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 Secara In Vitro. STIKes Karya Putra Bangsa: Tulungagung.
- ³ Sumampouw, O.J., 2018, Uji Sensitivitas Antibiotik Terhadap Bakteri *Escherichia Coli* Penyebab Diare Balita Di Kota Manado, universitas sam ratulangi.
- ⁴ Ningrum, D., 2019, Efektivitas Ekstrak Daun Maja (*Crescentia Cujete* L.) Sebagai Antibakteri Pada Bakteri *E. coli* dan *S. aureus* Effectiveness Maja Leaves (*Crescentia Cujete* L.) As Antibacterial in *E. coli* and *S. aureus* Bacteria. *Proceeding Biology Education Conference*, page.285–287.
- ⁵ Damayanti, M. V., 2021, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) Secara Difusi Terhadap Bakteri *Bacillus Cereus*. STIKes Karya Putra Bangsa: Tulungagung.
- ⁶ Padmasari, P., Astuti, K., and Warditiani, N., 2013, Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 70% Rimpang Bangle (*Zingiber purpureum* Roxb.). *Jurnal Farmasi Udayana*, pg.1–7.
- ⁷ Akti, A.I., 2010, Pengaruh Perlakuan Pendahuluan Dan Variasi Waktu Perendaman Terhadap Rendemen Dan Aktivitas Antioksidan Ekstraksi Pigmen Kulit Buah Manggis (*Gracinia mangostana* L.). Universitas Sebelas Maret.
- ⁸ Charisma, N.Q.S., 2020. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Ekstrak Daun Eceng Gondok (*Eichhornia Crassipes*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus*", Stikes Karya Putra Bangsa: Tulungagung).
- ⁹ Ramadhani, M.A., Hati, A.K. and Lukitasari, N.F., 2020, Skrining Fitokimia Dan Penetapan Kadar Flavonoid Total Serta Fenolik Total Ekstrak Daun Insulin (*Tithonia diversifolia*) Dengan Maserasi Menggunakan Pelarut Etanol 96%. Universitas Ngudi Waluyo.
- ¹⁰ Tohir, D., G, S.A. and Akbar, 2011, Isolasi Dan Identifikasi Golongan Flavonoid Daun Dandang Gendis (*Clinacanthus nutans*) Berpotensi Sebagai Antioksidan. IPB.
- ¹¹ Pradana, F., 2014. Identifikasi Flavonoid Dengan Pereaksi Geser Dan Pengaruh Ekstrak Etanol 70% Umbi Binahong (*Anredara Cordifolia*(Ten) Steenis) Terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Induksi Alokasan. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- ¹² Sulistyarini, I., Sari, D.A. and Wicaksono, T.A., 2020, Skrinning Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Batang Buah Naga (*Hylocereus polyrhizus*), Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi.
- ¹³ Nurhidayati, S., Faturrahman, F. and Ghazali, M., 2015, Deteksi Bakteri Patogen Yang Berasosiasi Dengan *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Bergejala Penyakit Ice-ice. *Jurnal Sains Teknologi & Lingkungan*, No. 1, Vol. 2, pg.24–30.
- ¹⁴ Azizah, D.H., 2018, Uji Aktivitas Antibakteri Gel Fraksi dari Ekstrak Sokhlet *Zibentus folium* terhadap *staphylococcus aureus* secara in vitro. STIKes Karya Putra Bangsa: Tulungagung.
- ¹⁵ Maradona, D., 2013, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Durian (*Durio zibhetinus* L.), Daun Lengkek (*Dinocarpus longan* Lour.), Daun Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.
- ¹⁶ Martunis, 2012, Pengaruh Suhu Dan Lama Pengeringan Terhadap Kuantitas Dan Kualitas Pati Kentang Varietas Granola. Universitas Syiah Kuala.
- ¹⁷ Najib, A. et al., 2016, Standarisasi Ekstrak Air Daun Jati Belanda Dan Teh Hijau. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, Universitas Muslim Indonesia.
- ¹⁸ Handayani, K., 2019, Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Batang Pepaya (*carica papaya* Linn.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, STIKes Karya Putra Bangsa: Tulungagung.
- ¹⁹ Siregar, A.F., Sabdono, A. and Pringgenies, D., 2012, Potensi Antibakteri Ekstrak Rumput Laut Terhadap Bakteri Penyakit Kulit *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Micrococcus luteus*. *journal of marine research*, pg.152–160.
- ²⁰ Nurhasanah, Harlia and Adhitiawarman, 2014, Uji Bioaktivitas Ekstrak Daun Maja (*Crescentia Cujete* Linn) Sebagai Anti Rayap. , No.3 Vol. (3), pg.43–48.