

**PENETAPAN KADAR FLAVONOID TOTAL DAN UJI AKTIVITAS  
ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL 70% DAN FRAKSI ETIL ASETAT  
KULIT BUAH NAGA MERAH (*Hylocereus polyrhizus*) TERHADAP  
BAKTERI *Escherichia coli* DAN *Staphylococcus aureus***

**DETERMINATION OF FLAVONOID LEVELS AND ANTIBACTERIAL  
ACTIVITIES OF ETHANOL EXTRACT 70% AND FRACTION ETHYL  
ACETATE OF RED DRAGON FRUIT PEEL (*Hylocereus polyrhizus*)  
AGAINST *Escherichia coli* AND *Staphylococcus aureus***

**SKRIPSI**



**Oleh :**

**NOVITASARI  
4171046**

**PROGRAM STUDI S1FARMASI  
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL  
SURAKARTA  
2021**

**PENETAPAN KADAR FLAVONOID TOTAL DAN UJI AKTIVITAS  
ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL 70% DAN FRAKSI ETIL ASETAT  
KULIT BUAH NAGA MERAH (*Hylocereus polyrhizus*) TERHADAP  
BAKTERI *Escherichia coli* DAN *Staphylococcus aureus***

**DETERMINATION OF FLAVONOID LEVELS AND ANTIBACTERIAL  
ACTIVITIES OF ETHANOL EXTRACT 70% AND FRACTION ETHYL  
ACETATE OF RED DRAGON FRUIT PEEL (*Hylocereus polyrhizus*)  
AGAINST *Escherichia coli* AND *Staphylococcus aureus***

**SKRIPSI**

**Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai derajat Sarjana  
Farmasi (S.Farm) pada Program Studi S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu  
Kesehatan Nasional di Surakarta**

**Oleh:  
NOVITASARI  
4171046**

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI  
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL  
SURAKARTA  
2021**

**SKRIPSI**

**PENETAPAN KADAR FLAVONOID TOTAL DAN UJI AKTIVITAS  
ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL 70% DAN FRAKSI ETIL ASETAT  
KULIT BUAH NAGA MERAH (*Hylocereus polyrhizus*) TERHADAP  
BAKTERI *Escherichia coli* DAN *Staphylococcus aureus***

**DETERMINATION OF FLAVONOID LEVELS AND ANTIBACTERIAL  
ACTIVITIES OF ETHANOL EXTRACT 70% AND FRACTION ETHYL  
ACETATE OF RED DRAGON FRUIT PEEL (*Hylocereus polyrhizus*)  
AGAINST *Escherichia coli* AND *Staphylococcus aureus***

Oleh :  
**NOVITASARI**  
4171046

Dipertahankan di hadapan Penguji Skripsi Program Studi S1 Farmasi Sekolah  
Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Pada tanggal : 02 September 2021

**Pembimbing utama**

**Pembimbing pendamping**

  
apt. Novena Yety L, S. Farm., M. Sc.

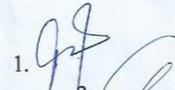
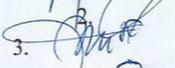
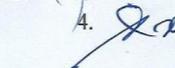
  
Dr. Didik Wahyudi, M. Si.

Mengetahui,  
**Ketua Program Studi S1 Farmasi  
Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan**

  
apt. Lusiana Murtisiwi, S. Farm., M. Sc.

**Tim Penguji**

- |   |                 |
|---|-----------------|
| 1. apt. Diah Pratimasari, M. Farm.      | Ketua penguji   |
| 2. Aulia Nur Rahmawati, M. Si.          | Anggota penguji |
| 3. apt. Novena Yety L, S. Farm., M. Sc. | Anggota penguji |
| 4. Dr. Didik Wahyudi, M. Si.            | Anggota penguji |

-   
1.   
3.   
4. 

## HALAMAN PERSEMBAHAN

*“Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan, maka apabila kamu telah selesai dari suatu urusan, kerjakanlah dengan sungguh-sungguh urusan yang lain, dan hanya kepada Tuhanmulah hendaknya kamu berharap”*

*(QS. Al-Insyirah, 6-8)*

*“The 3 C in life : Choise, Chance, Change. you must make the Choise, to make the Chance, if you want anything in life to Change”*

Ku persembahkan kepada  
Tuhan Yang Maha Esa yang senantiasa memberikan rahmat dan hidayah-Nya  
Kepada kedua orang tua saya Bapak Sumarno dan Ibu Sutinah yang sentiasa  
memberi dukungan untuk menyelesaikan karya penelitian ini  
Kakak saya Titik Sulistyowati, Tia Martina, Dewi Endrawati dan adik saya Andre  
Agil Ferdinal yang selalu memberikan semangat dan dukungan  
Terimakasih juga kepada sahabat saya Novia, Agnes, Novi tri, Lusiana dan  
Mahanani yang selalu memberi doa dan semangat  
Teman-teman angkatan tahun 2017 yang telah berkerja sama dan menemani  
perjuangan selama studi

## HALAMAN PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini 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 ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surakarta, 23 Agustus 2021

Peneliti



(Novitasari)

## PRAKATA

Puji syukur kepada Tuhan yang Maha Pengasih dan Penyayang atas segala karunia dan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dengan judul “Penetapan Kadar Flavonoid Total dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 70% dan Fraksi Etil Asetat Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*” sebagai salah satu syarat menyanggah gelar Sarjana Farmasi di Progran Studi S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional. Dalam penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak. Untuk itu penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. apt. Hartono, M. Si. Selaku Ketua Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional.
2. apt. Lusia Murtisiwi, S. Farm., M. Sc., selaku Ketua Program Studi S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional dan selaku pembimbing utama yang telah memberikan bimbingan, pengarahan, nasehat serta bantuan dalam penyelesaian skripsi.
3. apt. Novena Yety L, S. Farm., M. Sc dan Dr. Didik Wahyudi, M. Si selaku pembimbing yang selalu memberikan motivasi, pengarahan, bimbingan, nasehat dan teladan selama penyelesaian skripsi.
4. apt. Diah Pratimasari, M. Farm dan Aulia Nur Rahmawati, M. Si selaku dosen penguji atas saran dan masukan yang diberikan.
5. Dosen S1 Farmasi yang selalu memberi dukungan motivasi dan semangat.

6. Wibowo, A.Md, Verry, A.Md dan Luluk, A.Md selaku laboran yang telah membantu menyelesaikan skripsi.
7. Bapak, Ibu, Kakak dan Adik yang selalu mendoakan, memberikan nasehat dan memberikan semangat dalam proses penelitian dan penyusunan skripsi.
8. Teman-teman S1 Farmasi angkatan 2017 yang memberikan bantuan dan semangat dalam menyelesaikan penelitian.
9. Staf dan Karyawan Program Studi-S1 Farmasi STIKES Nasional, Bagian Biologi Farmasi STIKES Nasional, Bagian Kimia Farmasi STIKES Nasional.
10. Pihak-pihak yang telah memberikan dukungan dan bantuan, baik moral maupun material.

Akhir kata, penulis berharap skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi pengembangan penelitian, ilmu pengetahuan maupun dunia medis. Penulis menyadari skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan sehingga kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan.

Surakarta, 23 Agustus 2021

PENULIS

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN .....</b>	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN .....</b>	<b>iv</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN .....</b>	<b>v</b>
<b>PRAKATA .....</b>	<b>vi</b>
<b>DAFTAR ISI .....</b>	<b>viii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR .....</b>	<b>xi</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR SINGKATAN.....</b>	<b>xiv</b>
<b>INTISARI.....</b>	<b>xv</b>
<b><i>ABSTRACT</i> .....</b>	<b>xvi</b>
<b>BAB I. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
A. Latar Belakang .....	1
B. Rumusan Masalah .....	3
C. Tujuan .....	3
D. Manfaat .....	4
<b>BAB II. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>5</b>
A. Taksonomi Tanaman buah naga merah .....	5
B. Morfologi Tanaman Buah Naga Merah .....	5
C. Kandungan kulit buah naga .....	7

D. Uraian Flavonoid .....	11
E. Ekstraksi.....	17
F. Spektrofotometri UV-Vis .....	20
G. Antibakteri .....	23
H. Antibiotik .....	25
I. <i>Escherichia coli</i> .....	27
J. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	29
K. Landasan Teori .....	31
L. Hipotesis .....	32
M. Kerangka Konsep Penelitian .....	33
<b>BAB III. METODE PENELITIAN .....</b>	<b>34</b>
A. Desain Penelitian .....	34
B. Alat dan Bahan .....	34
C. Variabel Penelitian .....	35
D. Definisi Operasional .....	36
E. Jalannya Penelitian .....	37
F. Analisis Data .....	50
G. Alur Penelitian .....	54
<b>BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>55</b>
A. Determinasi Tanaman .....	55
B. Persiapan Sampel .....	55
C. Pembuatan Ekstrak dan Fraksi .....	57
D. Identifikasi Flavonoid Dengan KLT .....	63

E. Kadar Flavonoid Total .....	66
F. Karakterisasi Bakteri .....	72
1. Karakterisasi Bakteri <i>Eschericia coli</i> .....	72
2. Karakterisasi Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....	80
G. Uji antibakteri .....	84
<b>BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>91</b>
A. Kesimpulan .....	91
B. Saran .....	91
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>92</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>99</b>

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Tanaman Buah Naga Merah .....	6
Gambar 2. Struktur Flavonoid .....	11
Gambar 3. Struktur Kimia Dan Klasifikasi Flavonoid .....	14
Gambar 4. Reaksi Kompleks Flavonoid Golongan Flavonol dengan $AlCl_3$ .....	23
Gambar 5. Bagan Kerangka Konsep Penelitian .....	33
Gambar 6. Bagan Alur Penelitian .....	54
Gambar 7. Reaksi Flavonoid dengan Logam Mg dan HCl.....	60
Gambar 8. Reaksi Hidrolisis Saponin Dalam Air .....	61
Gambar 9. Reaksi Tanin dengan $FeCl_3$ .....	62
Gambar 10. Profil KLT.....	65
Gambar 11. Reaksi Kompleks Flavonoid Golongan Flavonol dengan $AlCl_3$ .....	66
Gambar 12. Spectrum Panjang Gelombang Maksimal.....	68
Gambar 13. Kurva Baku Quersetin .....	69
Gambar 14. Hasil Uji Statistik Independent Sample T Test .....	71
Gambar 15. Hasil Pengamatan Mikroskop <i>Eschericia coli</i> .....	73
Gambar 16. Hasil Morfologi <i>Eschericia coli</i> Pada Media MC.....	74
Gambar 17. Hasil Uji Biokimia <i>Eschericia coli</i> .....	76
Gambar 18. Hasil Miskroskopis <i>Staphylococcus aureus</i> .....	81
Gambar 19. Morfologi <i>Staphylococcus aureus</i> Pada Media BAP dan MSA .....	82
Gambar 20. Hasil Uji Katalase <i>Staphylococcus aureus</i> .....	83
Gambar 21. Hasil Uji Koagulase <i>Staphylococcus aureus</i> .....	84

## DAFTAR TABEL

Tabel 1. Hasil Skrining Fitokomia .....	59
Tabel 2. Nilai hRf Quersetin .....	65
Tabel 3. Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Dan Fraksi Etil Asetat.....	69
Tabel 4. Mikroskopis Bakteri <i>Eschericia coli</i> .....	73
Tabel 5. Morfologi <i>Eschericia coli</i> Pada Media MC .....	73
Tabel 6. Uji Biokimia Bakteri <i>Eschericia coli</i> .....	75
Tabel 7. Mikroskopis Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....	81
Tabel 8. Morfologi Bakteri <i>Staphylococcus Aureus</i> Pada Media BAP .....	82
Tabel 9. Hasil Pengamatan Uji Antibakteri Bakteri <i>Eschericia coli</i> .....	85
Tabel 10. Hasil Pengamana Uji Antibakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....	85

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Determinasi .....	100
Lampiran 2. Hasil Uji Statistik <i>Independent Samples T-Test</i> .....	103
Lampiran 3. Data One Way ANOVA Antibakteri .....	104
Lampiran 4. Perhitungan .....	110
Lampiran 5. Perhitungan Nilai hRf Ekstrak Etanol dan Fraksi Etil Asetat .....	111
Lampiran 6. Perhitungan Bahan .....	112
Lampiran 7. Kurva Baku Quersetin .....	115
Lampiran 8. Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol Kulit Buah Naga Merah.....	116
Lampiran 9. Kadar Flavonoid Fraksi Etil Asetat Kulit Buah Naga Merah .....	119
Lampiran 10. <i>Operating Time</i> (OT) Quersetin .....	122
Lampiran 11. Panjang Gelombang Maksimal Quersetin.....	123
Lampiran 12. Perhitungan Larutan Sampel Untuk Uji Antibakteri .....	124
Lampiran 13. Pembuatan Simplisia .....	126
Lampiran 14. Pembuatan Ekstrak dan Fraksi Kulit Buah Naga Merah.....	127
Lampiran 15. Skrining Fitokimia dan KLT .....	129
Lampiran 16. Pengecatan Gram dan Uji Biokimia Bakteri <i>Escherichia coli</i> .....	131
Lampiran 17. Pengecatan Gram dan Uji Biokimia <i>Staphylococcus aureus</i> .....	132
Lampiran 18. Uji Antibakteri <i>Escherichia coli</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i> .....	133
Lampiran 19. Alat dan Bahan Penetapan Kadar Flavonoid Total .....	135

## DAFTAR SINGKATAN

- BAP : *Blood Agar Plate*
- KIA : *Kigler Inron Agar*
- KLT : *Kromatografi Lapis Tipis*
- MC : *MacConkey*
- MR : *Methyl Red*
- MSA : *Mannitol Salt Agar*
- NA : *Nutrient Agar*
- PAD : *Phenil Alanin Diaminase*
- Rf : *Reterdation factor*
- SIM : *Sulfide Indol Motility*
- TSIA : *Triple Sugar Iron Agar*
- VP : *Voges Proskauer*

## INTISARI

Kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) memiliki kandungan senyawa flavonoid yang bermanfaat sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan kadar flavonoid total dan aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol dan fraksi etil asetat kulit buah naga merah terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

Kulit buah naga merah diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70% dan difraksinasi dengan pelarut n-heksan dan etil asetat. Penetapan kadar flavonoid total menggunakan metode aluminium klorida dengan Spektrofotometr UV-Vis dan hasil dianalisis menggunakan analisis *Independent Sample T-test*. Aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi disk. Aktivitas antibakteri menggunakan 3 perlakuan konsentrasi yaitu 25%, 50% dan 75%, menggunakan kontrol negatif DMSO 10% dan kontrol positif Ciprofloxacin. Hasil ditunjukkan dari diameter zona hambat. Analisis statistik antibakteri menggunakan *One Way ANOVA*.

Hasil identifikasi senyawa flavonoid menunjukkan ekstrak etanol dan fraksi etil asetat kulit buah naga merah mengandung senyawa flavonoid. Hasil penetapan kadar flavonoid total yang terkandung dalam ekstrak etanol dan fraksi etil asetat kulit buah naga merah sebesar  $8,773 \%QE \pm 0,122$  dan  $11,596 \%QE \pm 0,089$ . Ada perbedaan signifikan rata-rata kadar flavonoid total pada ekstrak etanol 70% dengan fraksi etil asetat kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) ( $p < 0,05$ ). Hasil rata-rata zona hambat antibakteri ekstrak etanol kulit buah naga merah konsentrasi 25%, 50% dan 75% terhadap bakteri *Escherichia coli* yaitu 7,3 mm, 8,3 mm dan 9,5 mm, sedangkan fraksi etil asetat kulit buah naga merah konsentrasi 25%, 50% dan 75% terhadap bakteri *Escherichia coli* didapatkan hasil rata-rata 8 mm, 9,5 mm dan 11,2 mm. Hasil rata-rata yang diperoleh pada ekstrak etanol kulit buah naga merah dengan konsentrasi 25%, 50% dan 75% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* adalah 7,6 mm, 8,6 mm, 9,8 mm, sedangkan untuk hasil rata-rata zona hambat fraksi etil asetat kulit buah naga merah terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* konsentrasi 25%, 50% dan 75% yaitu 8 mm, 9,4 mm dan 11,9 mm. Berdasarkan hasil uji *Post Hoc Test* ekstrak etanol dan fraksi etil asetat kulit buah naga merah memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* karena zona hambat berbeda bermakna ( $p < 0,05$ ) dengan kontrol negatif (DMSO 10%). Hasil zona hambat yang didapatkan ekstrak etanol dan fraksi kulit buah naga merah tidak setara dengan zona hambat yang didapatkan pada kontrol positif Ciprofloxacin terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* yaitu sebesar 36 mm dan 26,66 mm.

**Kata kunci :** Kulit Buah Naga Merah, Flavonoid, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*.

## ABSTRACT

Red dragon fruit peel (*Hylocereus polyrhizus*) of content flavonoid compound that are beneficial as antibacterial. The research determine of total flavonoid content and antibacterial activities of extracts ethanol and fractions ethyl acetate red dragon fruit peel against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*.

Red dragon fruit peel of extracted using 70% ethanol solvent of maceration method and fractionated using n-hexane and ethyl acetate solvent. Determination of flavonoids content using aluminium chloride method with UV-Vis spectrophotometry and the results were analyzed using the *Independent Sample T-Test*. Antibacterial activities using the diffusion disk method with concentrations of 25%, 50% and 75%, using negative control a DMSO 10% and positive control a Ciprofloxacin.

The result of identification flavonoids compounds indicate red dragon fruit peel extracts ethanol and fractions ethyl acetate contain flavonoids compounds. The determination of total flavonoid contained in extracts ethanol and fraction ethyl acetate of 8,773 %QE  $\pm$  0,122 and 11,596 %QE  $\pm$  0,089. There was a significant difference in the average total flavonoid content in 70% ethanol extract with the ethyl acetate fraction of red dragon fruit peel (*Hylocereus polyrhizus*) ( $p < 0.05$ ). The average results of the antibacterial inhibition zones of the ethanol extract of red dragon fruit peel with concentrations of 25%, 50% and 75% against *Escherichia coli* bacteria were 7.3 mm, 8.3 mm and 9.5 mm, while the ethyl acetate fraction of red dragon fruit peel concentrations of 25%, 50% and 75% against *Escherichia coli* bacteria obtained an average of 8 mm, 9.5 mm and 11.2 mm. The average results obtained on the ethanol extract of red dragon fruit peel with concentrations of 25%, 50% and 75% against *Staphylococcus aureus* bacteria were 7.6 mm, 8.6 mm, 9.8 mm, while for the zone average results inhibit the ethyl acetate fraction of red dragon fruit peel against *Staphylococcus aureus* at concentrations of 25%, 50% and 75%, namely 8 mm, 9.4 mm and 11.9 mm. Results Based on the *Post Hoc Test*, the ethanol extract and the ethyl acetate fraction of red dragon fruit peel had antibacterial activity against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* because the zone of inhibition was significantly different ( $p < 0.05$ ) with the negative control (DMSO 10%). The results of the inhibition zone obtained by the ethanol extract and the red dragon fruit peel fraction were not equivalent to the inhibition zone obtained in the positive control of Ciprofloxacin against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* bacteria, namely 36 mm and 26.66 mm.

**Keywords :** Red Dragon Fruit Peel, Levels Of Total Flavonoids, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*.

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **A. Latar Belakang**

Flavonoid merupakan salah satu metabolit sekunder penting pada tumbuhan. Sumber flavonoid terdapat pada sayuran dan buah-buahan, salah satunya adalah buah naga merah. Tanaman buah naga merupakan salah satu buah tropis yang termasuk di dalam suku Cactacea dan mulai banyak dikembangkan di Indonesia. Buah naga (*Dragon Fruit*) bukan buah asli Indonesia namun saat ini sudah banyak dibudidayakan dan banyak digemari oleh masyarakat karena memiliki khasiat dan manfaat serta nilai gizi cukup tinggi. Jenis buah naga yang telah dibudidayakan di Indonesia ada empat, antara lain Buah Naga Daging Putih (*Hylocereus undatus*), Buah Naga Daging Merah (*Hylocereus polyrhizus*), Buah Naga Daging Super Merah (*Hylocereus costaricensis*), dan Buah Naga Kulit Kuning Daging Putih (*Selenicereus megalanthus*) (Wahdaningsih *et al.*, 2017).

Menurut penelitian Handayani dan Rahmawati (2012) salah satu bagian dari buah naga yang dapat dimanfaatkan adalah kulitnya. Bagian dari kulit buah naga adalah 30%-35% dari keseluruhan total bagian buah naga. Kulit buah naga berdaging merah (*Hylocereus polyrhizus*) mengandung kalori 60 kkal, protein 0,53 g, karbohidrat 11,5 g, serat 0,71 g, kalsium 134,5 mg, fosfor 87 mg, zat besi 0,65 mg, vitamin C, antosianin, phenol, flavonoid, protein, lemak, air, alkaloid, abu, serta kandungan airnya sebanyak 90 %.

Hasil penelitian Pujiastuti dan Demby (2020) menyatakan bahwa kadar flavonoid total pada ekstrak etanol 96% kulit buah naga merah sebesar 8,87%, sedangkan untuk fraksi etil asetat kulit buah naga merah memiliki kandungan flavonoid total sebesar 16,53%. Pada penelitian ini dilakukan ekstraksi menggunakan etanol 70%, dikarenakan pada penelitian Anggraini *et al.*, (2017) rendemen yang dihasilkan pelarut etanol 70% lebih banyak dibandingkan dengan pelarut etanol 96%. Etanol 70% juga banyak digunakan sebagai pelarut pada ekstraksi karena memiliki sifat polar sehingga mudah menembus membran sel dan baik digunakan untuk mengekstrak senyawa antibakteri seperti flavonoid. Etanol juga mempunyai titik didih yang rendah dan cenderung aman, tidak beracun dan tidak berbahaya (Astridwiyanti *et al.*, 2019).

Fraksinasi adalah suatu proses pemisahan senyawa-senyawa berdasarkan kepolaran. Berdasarkan penelitian Widada dan Nurhasna (2016) fraksi etil asetat merupakan fraksi yang lebih banyak mengandung senyawa flavonoid. Kandungan flavonoid kulit buah naga merah disusun oleh quercetin, kaempferol, dan isorhamnetin. Anggraini *et al.*, (2017) menyatakan bahwa ekstrak etanol 96% kulit buah naga merah memiliki kandungan flavonoid dan memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar 18 mm dan *Escherichia coli* sebesar 17,55 mm. Senyawa flavonoid memiliki 2 mekanisme dalam membunuh bakteri yaitu merusak membran sel bakteri dan mendenaturasi protein sel bakteri (Sartika *et al.*, 2019).

Pada penelitian ini bagian buah naga yang dipakai sebagai sampel adalah kulitnya dikarenakan ingin memanfaatkan limbah yang tidak terpakai dari buah

naga merah yang memiliki aktivitas antibakteri yaitu senyawa flavonoid. Flavonoid memiliki peran penting sebagai antibakteri alami, maka perlu dilakukan penelitian tentang penetapan kadar flavonoid total dan uji aktivitas antibakteri dari ekstrak dan fraksi etil asetat kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

### **B. Rumusan Masalah**

1. Berapakah kadar flavonoid total ekstrak etanol 70% dan fraksi etil asetat kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) ?
2. Apakah ekstrak etanol 70% dan fraksi etil asetat kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* ?
3. Apakah zona hambat antibakteri ekstrak etanol 70% dan fraksi etil asetat kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* setara dengan zona hambat antibiotik Ciprofloxacin ?

### **C. Tujuan**

1. Untuk mengetahui kadar flavonoid total dalam ekstrak etanol 70% dan fraksi etil asetat kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*).
2. Untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol 70% dan fraksi etil asetat kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

3. Untuk membandingkan kemampuan penghambatan ekstrak etanol 70% dan fraksi etil asetat kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dengan antibiotik Ciprofloxacin terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherchia coli*.

#### **D. Manfaat**

1. Bagi peneliti, menambah ilmu pengetahuan terutama pengetahuan mengenai kadar flavonoid total dan aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol 70% dan fraksi etil asetat kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherchia coli*.
2. Bagi masyarakat, memberikan dasar ilmiah dan menambah ilmu mengenai kadar flavonoid total dan manfaat alternatif obat tradisional sebagai antibakteri dari kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*).

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Desain Penelitian**

Penelitian ini termasuk jenis penelitian eksperimental dengan melakukan analisis data kadar flavonoid total dan aktivitas antibakteri kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

#### **B. Alat dan Bahan**

##### 1. Alat yang digunakan

Toples kaca, Batang pengaduk (Herma), cawan porselin (Herma), oven, blender (Philips), corong pisah (Pyrex), gelas arloji (Pyrex), gelas beker (Pyrex), incubator (Mettler), mikropipet (Pyrex), labu ukur (Pyrex), pipet tetes (Pyrex), pipet volume (Pyrex), *rotary evaporator* (IKA HB 10 basic), sendok besi, tabung reaksi, penjepit tabung, rak tabung reaksi, pipet tetes, lampu UV 254 nm dan 366 nm (Acis BC 500), spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV mini-1240), kuvet, timbangan analitik (Acis BC 500), vial, autoklaf (Mettler), jarum ose, korek api, cawan petri (Pyrex), dan spuit.

##### 2. Bahan yang digunakan

Bahan sampel yang digunakan untuk penelitian ini adalah Kulit buah naga merah (*hylocereus polyrhizus*), bakteri *Staphylococcus aureus*, bakteri *Escherichia coli* dari Laboratorium Mikrobiologi STIKES Nasional Surakarta.

Bahan kimia yang digunakan yaitu pelarut *n*-heksan (E. Merck), etil asetat (E. Merck), etanol 70% (Medika), kuersetin (Alrich Chemist), antibiotik Ciprofloxacin, spiritus, *blank paper disk*, aquadest (Medika), pelarut DMSO 10%, metanol p.a (Medika), asam sulfat pekat, pereaksi mayer, pereaksi dragendof, pereaksi mayer, natrium asetat (Chemist), FeCl<sub>3</sub> (E. Merck), AlCl<sub>3</sub> 10% (E. Merck), serbuk magnesium (E. Merck), HCl pekat (E. Merck), HCl 1 N (E. Merck), HCl 5M (E. Merck), larutan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Merck), asetat anhidrat (E. Merck), cat Gram A, cat Gram B, cat Gram C, cat Gram D, NaCl 0,9%, reagen kovack, KOH 40%, HCl (E. Merck), BHI, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, minyak emersi, alkohol mikroskop. Bahan media yang digunakan *Nutrien Agar* (NA) (Merck), *Sulfide Indol Motilitas* (SIM) (Merck), *TSIA (Triple Sugar Iron Agar)* (Merck), Citrat (Merck), Urea (Merck), PAD (Merck), MSA (Merck), Glukosa (Merck), Manitol (Merck), Maltosa (Merck), Laktosa (Merck), Sukrosa (Merck).

### C. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas pada penelitian ini adalah cara penyarian sampel, metode ekstraksi dan fraksinasi kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*).
2. Variabel terikat pada penelitian ini adalah kadar flavonoid dan uji aktivitas antibakteri kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*).
3. Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah kualitas bahan, temperatur, alat, kemurnian bakteri uji, dan media yang digunakan untuk penelitian.

#### D. Definisi Operasional

1. Buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) diambil dari Desa Pilangkruk, RT 09/RW 01, Keyongan, Nogosari, Boyolali. Buah naga merah yang diambil pada masa panen 35 - 50 hari terhitung sejak bunga mekar, kemudian dibersihkan dan diambil kulitnya (Wahdaningsih *et al.*, 2017). Kulit buah naga merah di cuci dengan air mengalir dan dipotong-potong ( $\pm 2 - 4$  cm) kemudian dikeringkan dengan menggunakan metode pengeringan kombinasi antara sinar matahari langsung dan oven dengan suhu 50°C, kulit buah naga merah yang sudah kering dibuat serbuk.
2. Ekstraksi adalah proses pemisahan senyawa aktif dari campuran dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Ekstrak etanol 70 % kulit buah naga merupakan hasil dari serbuk buah naga merah kering dimaserasi dengan pelarut etanol 70% hingga diperoleh ekstrak kental.
3. Fraksinasi adalah proses pemisahan senyawa berdasarkan tingkat kepolaran. Fraksi etil asetat diperoleh dari ekstrak etanol 70% kental difraksinasi cair-cair dengan pelarut n-heksan, selanjutnya fraksi air difraksinasi dengan pelarut etil asetat.
4. Kadar flavonoid total merupakan kadar flavonoid dalam sampel yang dinyatakan sebagai ekuivalen kuersetin (QE). Kadar flavonoid total didapatkan dari perhitungan menggunakan rumus total flavonoid, dimana kadar flavonoid dalam sampel (x) diketahui dengan memasukkan absorbansi sampel ke dalam sumbu y pada persamaan regresi linear kuersetin (Desmiaty *et al*, 2009)

5. Ekstrak etanol dan fraksi etil asetat kulit buah naga merah dikatakan memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* jika hasil diameter zona hambatnya berbeda bermakna dengan diameter zona hambat dari kontrol negatif yaitu DMSO 10%. Hasil zona hambat ekstrak etanol dan fraksi etil asetat kulit buah naga merah dibandingkan kesetaraan dengan standar zona hambat antibiotik Ciprofloxacin dengan konsentrasi 5µg.

## **E. Jalannya Penelitian**

### **1. Pengambilan sampel**

Buah naga merah diambil dari perkebunan buah naga Desa Pilangkruk, RT 09/RW 01, Keyongan, Nogosari, Boyolali. Buah naga merah yang diambil pada masa panen 35 - 50 hari terhitung sejak bunga mekar. Pemanenan pada buah naga merah dilakukan pada buah naga yang memiliki ciri-ciri warna kulit merah mengkilap dan sisik berubah warna dari merah menjadi kemerahan.

### **2. Determinasi tanaman**

Determinasi dilakukan untuk memastikan kebenaran tanaman buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) berkaitan dengan ciri-ciri morfologi yang ada pada tanaman buah naga. Tanaman buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) akan di determinasi dahulu di Laboratorium Biologi Fakultas MIPA, Universitas Muhamadiyah Surakarta.

### 3. Pengolahan sampel

Buah naga merah dicuci dengan air mengalir, kemudian diambil bagian kulitnya dan dipotong-potong  $\pm$  2-4 mm. Kulit buah naga merah dikeringkan dengan menggunakan metode pengeringan kombinasi antara sinar matahari langsung selama 2 hari dan oven dengan suhu 50°C selama 24 jam. Kulit buah yang sudah kering dibuat serbuk dan disimpan dalam wadah kering.

### 4. Proses ekstraksi

Serbuk kering kulit buah naga merah 800,0 gram dimaserasi selama 3 x 24 jam pada suhu kamar dengan pelarut etanol 70% sebanyak 6 liter (1:7,5) dengan sesekali pengadukan. Hasil maserat disaring dengan kain flanel kemudian residu diremaserasi dengan 2 liter etanol 70% (1:2,5) selama 2 hari dan disaring kembali. Hasil maserat yang diperoleh tahap pertama dan tahap kedua digabungkan dan diuapkan dengan *rotary evaporator* kecepatan 200 ppm dan suhu 50°C sampai diperoleh ekstrak kental (Wahdaningsih *et al.*, 2017).

### 5. Pembuatan fraksi etil asetat kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*)

Ekstrak kental kulit buah naga merah ditimbang 20,0 g dilarutkan kedalam 20 mL air hangat, kemudian difraksinasi dengan 20,0 mL n-heksan. Fraksinasi dilakukan berulang 3 kali. Sari n-heksan kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* kecepatan 200 rpm dengan suhu 50°C hingga diperoleh fraksi yang kental. Residu sisa fraksinasi n-heksan ditambahkan etil

asetat (1:1) difraksinasi menggunakan corong pisah, dilakukan sebanyak 3 kali. Sari etil asetat dikumpulkan dan diuapkan menggunakan *rotary evaporator* kecepatan 200 rpm dengan suhu 50°C hingga diperoleh fraksi etil asetat yang kental (Maravirnadita, 2019).

## 6. Penapisan fitokimia

### 1. Flavonoid

Ekstrak etanol 70% dan fraksi etil asetat kulit buah naga merah sebanyak 1,0 mL diuapkan hingga kering, ditambahkan 1,0 mL etanol 96%, kemudian sedikit serbuk magnesium dan 2,0 mL HCl 5 M. Hasil dibandingkan dengan pembanding ekstrak yang tidak ditambah dengan reagen. Warna merah hingga merah lembayung menunjukkan adanya senyawa flavonol, flavonon, flavonolol, dan dihidroflavonol. (Hanani, 2017).

### 2. Saponin

Ekstrak etanol 70% dan fraksi etil asetat kulit buah naga merah dimasukkan dalam tabung reaksi sebanyak 1 mL, lalu ditambahkan aquades 10 mL, kemudian dikocok selama kurang lebih 30 detik. Terbentuknya busa menunjukkan adanya senyawa saponin (Sari *et al.*, 2015).

### 3. Alkaloid

Ekstrak etanol dan fraksi etil asetat kulit buah naga merah diujikan dengan uji Mayer (+ endapan putih), kemudian uji Wagner (+ endapan

coklat) dan uji Dragendroff (+ endapan merah kecoklatan) kehijauan (Sari *et al.*, 2015).

#### 4. Tanin

Ekstrak dan fraksi etil asetat kulit buah naga merah dimasukkan dalam tabung reaksi sebanyak 1 mL, lalu ditambahkan 1 mL  $\text{FeCl}_3$  1%. Uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna biru tua, biru kehitaman, atau hitam kehijauan (Sari *et al.*, 2015).

#### 5. Steroid

Ekstrak dan fraksi etil asetat kulit buah naga merah dimasukkan dalam tabung reaksi sebanyak 1 mL, lalu ditambahkan 3 tetes pereaksi Lieberman-Burchard. Uji positif ditandai dengan warna hijau atau biru (Sari *et al.*, 2015).

#### 7. Uji kromatografi lapis tipis

Ekstrak etanol kulit buah naga merah, fraksi kulit buah naga merah dan pembanding kuersetin dilarutkan dalam etanol 70%, ditotolkan bersamaan pada lempeng kromatografi lapis tipis (KLT) dengan fase diam silika gel GF 254 nm dan fase gerak etil asetat: metanol (3:1). Bercak kromatogram (noda) yang dihasilkan diamati dengan penampak bercak sinar ultraviolet 254 nm dan 366 nm, kemudian disemprot dengan  $\text{AlCl}_3$  5%. Bercak dengan fluoresensi warna kuning menunjukkan adanya flavonoid (Markham, 1988).

## 8. Penetapan kadar flavonoid total

### a. Pembuatan larutan $\text{AlCl}_3$ 10%

Sebanyak 5,0 gram serbuk  $\text{AlCl}_3$  ditimbang dan dimasukkan ke dalam beker glass, kemudian dilarutkan dengan sebagian akuades hingga larut. Masukkan ke dalam labu ukur 50,0 mL, dan tambahkan akuades hingga tanda batas (Depkes RI, 1995).

### b. Pembuatan natrium asetat 1M

Natrium Asetat ditimbang 1,0 g dimasukkan dalam beaker glass dan larutkan dengan sebagian aquadest. Masukkan dalam labu ukur 10,0 mL, dan tambahkan akuades hingga tanda batas (Depkes RI, 1995).

### c. Pembuatan larutan blangko

Larutan  $\text{AlCl}_3$  10% sebanyak 0,2 mL ditambahkan 3,0 mL metanol p.a, 0,2 mL, natrium asetat 1 M ke dalam labu ukur 10,0 mL ditambah akuades sampai tanda batas.

### d. Pembuatan larutan baku induk quersetin 1000 ppm

Ditimbang 25,0 mg baku standar kuersetin dan dilarutkan dengan sebagian metanol dalam beaker glass kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 25,0 mL dan ditambahkan metanol hingga tanda batas

### e. Preparasi larutan baku quersetin

Larutan baku kerja kuersetin dibuat seri konsentrasi 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm dan 100 ppm yang dibuat dengan memipet secara berturut-turut 0,2 mL, 0,4 mL, 0,6 mL, 0,8 mL, dan 1,0 mL dari larutan

baku induk quersetin. Larutan dimasukkan dalam labu ukur 10,0 mL dan ditambahkan akuades hingga volume 10,0 mL.

f. Penentuan *Operating Time* (OT)

Larutan baku kerja dengan konsentrasi 60 ppm dipipet 1,0 mL ditambahkan 3,0 mL metanol p.a, 0,2 mL  $\text{AlCl}_3$  10%, 0,2 mL natrium asetat 1 M dan ditambahkan akuades dalam labu ukur hingga 10,0 mL diukur pada panjang gelombang maksimum teoritis 440 nm dengan interval 1 menit hingga diperoleh absorbansi yang stabil (Apriyani, 2020).

g. Penentuan panjang gelombang maksimum

Larutan baku kerja dengan konsentrasi 60 ppm dipipet 1,0 mL ditambahkan 3,0 mL metanol p.a, 0,2 mL  $\text{AlCl}_3$  10%, 0,2 mL natrium asetat 1 M dan ditambahkan akuades dalam labu ukur hingga 10,0 mL diukur serapannya pada rentang panjang gelombang 400-500 nm pada waktu tercapainya *Operating time*. Panjang gelombang yang menunjukkan nilai serapan tertinggi merupakan panjang gelombang maksimum (Kusuma, 2012).

h. Pengukuran kurva baku quersetin

Masing-masing seri konsentrasi 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm dan 100 ppm dipipet 1,0 mL ditambahkan 3,0 mL metanol p.a, 0,2 mL  $\text{AlCl}_3$  10%, 0,2 mL natrium asetat 1 M dan ditambahkan akuades dalam labu ukur hingga 10,0 mL. Setelah itu didiamkan selama *Operating time* yang diperoleh pada suhu kamar dan diukur absorbansinya dengan

menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh (Ahmad *et al.*, 2015).

- i. Penetapan kadar flavonoid total ekstrak etanol 70% dan fraksi etil asetat kulit buah naga merah

Ekstrak etanol 70% dan fraksi etil asetat kulit buah naga merah masing-masing ditimbang 100 mg, kemudian dilarutkan dalam 10,0 mL metanol p.a. Larutan sampel dipipet 1,0 mL diencerkan dengan metanol p.a dalam labu ukur 10,0 mL, kemudian diambil 1,0 ml dan tambahkan 3,0 mL metanol, 0,2 mL  $AlCl_3$  10%, dan 0,2 ml natrium asetat 1 M dan encerkan dengan akuades hingga 10,0 mL. Campuran dikocok homogen lalu dibiarkan selama *Operating time* yang didapatkan dan diukur absorbansinya pada spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang maksimum yang diperoleh (Ahmad *et al.*, 2015).

## 9. Sterilisasi alat dan bahan

Semua alat dan bahan yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu  $121^{\circ}C$  tekanan 1 atm selama 15 menit. Alat-alat yang disterilkan menggunakan autoklaf biasanya alat-alat yang terbuat dari kaca seperti tabung reaksi, erlenmeyer dan cawan petri. Alat yang lain dapat disterilisasi dengan dipijarkan pada lampu bunsen atau dicelupkan ke dalam alkohol 70% dan dilewatkan di api bunsen (Kulla, 2016).

## 10. Karakterisasi bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

- a. Karakterisasi bakteri *Escherichia coli*

1. Isolasi bakteri pada media *Mac Conkey Agar*

- a. Biakan bakteri dari Laboratorium STIKES Nasional digoreskan pada media *Mac Conkey Agar*, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.
- b. Diamati pertumbuhan koloni pada media.

## 2. Pengecatan Gram

Dibuat preparat bakteri dari media *Mac Conkey* agar, kemudian diteteis dengan cat Gram A Kristal Violet dan dibiarkan selama 1 menit. Zat warna dibuang dan dicuci menggunakan air mengalir. Kemudian preparat ditetesi dengan cat Gram B Iugol Iodine dan dibiarkan selama 1 menit, lalu zat warna dibuang dan dicuci dengan air mengalir. Preparat ditetesi dengan cat Gram C aklohol dibiarkan selama 30 detik, dan segera dibuang. Setelah itu preparat ditetesi dengan car Gram D Safranin, dibiarkan selama 1 menit dan zat warna dibuang dan dicuci dengan air mengalir. Preparat dikeringkan dan diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 100x.

## 3. Uji biokimia bakteri *Escherichia coli*

- a. Uji *Sulfide Indol Motility* (SIM)
  1. Bakteri diinokulasikan secara aseptis dari media ke tryptophan broth, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.
  2. Indol : ditambah 3-4 tetes reagen kovack melalui dinding tabung reaksi. Uji indol positif ditandai dengan terbentuknya cincin merah.

3. Motil : hasil positif jika terdapat pertumbuhan yang menyebar disekitar tusukan atau pada permukaan media atau media menjadi keruh.
  4. H<sub>2</sub>S : hasil positif ditandai dengan terbentuknya warna hitam pada media.
- b. Uji *Methyl Red* (MR)
1. Bakteri diinokulasikan secara aseptis ke media MR, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.
  2. Ditambah 2-3 tetes reagen MR. Hasil positif, jika terbentuk warna merah pada media.
- c. Uji *Voges Proskauer* (VP)
1. Bakteri diinokulasikan secara aseptis ke media VP, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.
  2. Ditambahkan 10 tetes reagen Barried dan 3-4 tetes KOH 40%.
  3. Uji VP positif, jika terbentuk warna pada media.
- d. Uji *Kigler Inron Agar /Triple Sugar Iron Agar* (KIA/TSIA)
- Bakteri diinokulasikan secara aseptis ke media TSIA, diambil 1 ose dan ditanam dengan cara ditusuk hingga dasar media dan digores pada bidang miring media. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.
- e. Citrat
- Bakteri diinokulasikan secara aseptis ke media dengan cara ditusuk hingga dasar media dan digores pada bidang miring media.

Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya warna biru pada media.

f. Urea

Bakteri diinokulasikan secara aseptis ke media, Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil urease fermentasi ditandai dengan berubahnya warna media menjadi merah.

g. Uji *Phenil Alanin Diaminase* (PAD)

Bakteri diinokulasikan secara aseptis ke media. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil positif ditandai dengan warna hijau pada media setelah ditambahkan HCl 0,1 N sampai media berwarna kuning dan ditambahkan FeCl<sub>3</sub> 10%.

h. Fermentasi karbohidrat

Bakteri diinokulasikan secara aseptis ke media. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Gula-gula positif ditandai dengan media berwarna kuning . adanya indikator Phenol Red akan menyebabkan media menjadi warna kuning. Gas (+) ditandai dengan kosongnya tabung Durham.

b. Karakterisasi bakteri *Staphylococcus aureus*

1. Isolasi bakteri pada media BAP (*Blood Agar Plate*)

a. Biakan bakteri dari Laboratorium STIKES Nasional digoreskan pada media BAP (*Blood Agar Plate*) diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

b. Diamati pertumbuhan koloni pada media.

## 2. Pengecatan Gram

Dibuat preparat bakteri dari media BAP (*Blood Agar Plate*), kemudian diteteis dengan cat Gram A Kristal Violet dan dibiarkan selama 1 menit. Zat warna dibuang dan dicuci menggunakan air mengalir. Kemudian preparat ditetesi dengan cat Gram B Iugol Iodine dan dibiarkan selama 1 menit, lalu zat warna dibuang dan dicuci dengan air mengalir. Preparat ditetesi dengan cat Gram C aklohol dibiarkan selama 30 detik, dan segera dibuang. Setelah itu preparat ditetesi dengan car Gram D Safranin, dibiarkan selama 1 menit dan zat warna dibuang dan dicuci dengan air mengalir. Preparat dikeringkan dan diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 100x.

## 3. Uji katalase

Biakan murni pada media BAP diambil dengan ose, dan dicampur 2-3 tetes hydrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) 3% pada gelas objek. Hasil positif apabila terlihat adanya gelembung-gelembung udara (Todar, 2005).

## 3. Uji koagulase

Uji koagulase merupakan uji yang digunakan untuk mengetahui ada tidaknya enzim koagulase yang dihasilkan oleh *Staphylococcus sp.* Uji ini dilakukan dengan menyiapkan object glass bersih, kering dan bebas lemak, diletakkan 2-3 ose NaCl 0,9% steril dan tambahkan 1-2 ose koloni bakteri dari media NA miring kemudian homogenkan. Tambahkan 1 tetes plasma citrat steril menggunakan

pipet tetes secara aseptis dan homogenkan. Reaksi positif pada uji koagulase ditunjukkan dengan adanya gumpalan seperti gel dalam tabung, dan reaksi negatif apabila tidak terdapat gumpalan menyerupai gel pada tabung (Todar, 2005).

#### 4. Uji *Mannitol Salt Agar* (MSA)

Uji MSA dilakukan dengan mengambil 1 ose bakteri pada media BAP, kemudian inokulasikan ke dalam media MSA, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil pertumbuhan koloni *Staphylococcus aureus* ditandai dengan perubahan warna dari merah menjadi kuning.

### 11. Uji aktivitas antibakteri

#### a. Pembuatan media

Media dasar dibuat dengan cara ditimbang Nutrient Agar (NA) sebanyak 2,8 gram, lalu dilarutkan dalam 100 mL aquades menggunakan Erlenmeyer. Media yang telah homogen disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, kemudian didinginkan sampai suhu  $\pm 45^{\circ}\text{C}$  -  $50^{\circ}\text{C}$  (Ngajow *et al*, 2013).

#### b. Pembuatan suspensi bakteri

##### 1. Suspensi bakteri *Staphylococcus aureus*

Bakteri dari kultur kerja dibuat suspensi dengan menggunakan NaCl fisiologi. Dengan cara koloni bakteri diambil lima ose bakteri *Staphylococcus aureus*, kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi yang berisi 10 mL NaCl 0,9%, lalu dikocok sampai homogen.

Kekeruhan suspensi bakteri dibandingkan dengan standar Mc Farland 0,5 (Ngajow *et al*, 2013).

## 2. Suspensi bakteri *Escherichia coli*

Bakteri dari kultur kerja dibuat suspensi dengan menggunakan NaCl fisiologi. Dengan cara koloni bakteri diambil lima ose bakteri *Escherichia coli*, kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi yang berisi 10 mL NaCl 0,9%, lalu dikocok sampai homogen. Kekeruhan suspensi bakteri dibandingkan dengan standar Mc Farland 0,5 (Ngajow *et al*, 2013).

### c. Pengujian antibakteri secara difusi

Aktivitas antibakteri sampel diuji pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* yang diperoleh dari laboratorium mikrobiologi STIKES Nasional. Uji antibakteri ekstrak kulit buah naga diuji dengan menggunakan metode *disc diffusion* atau Kirby-Bauer. Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* ditumbuhkan pada media nutrisi agar (NA) yang berbeda dengan metode *spread plate* menggunakan kapas lidi steril. Media yang telah berisi bakteri diinkubasi selama 15 menit pada suhu 37°C agar suspensi bakteri terdifusi ke dalam media (Ismail, 2017). Media tersebut terdapat 3 paper disk dengan jarak yang sama. Setiap cawan petri berisi 3 paper disk yang sudah dicelupkan pada ekstrak etanol 70% konsentrasi 25%, 50% dan 75%, fraksi etil asetat dengan konsentrasi 25%, 50% dan 75%, ciprofloxacin 5 µg dan DMSO 10%. Cawan petri pertama berisi 3 disk yang sudah dicelupkan ekstrak

etanol 70% konsentrasi 25%, 50% dan 75%. Cawan petri kedua berisi paper disk yang sudah dicelupkan fraksi etil asetat dengan konsentrasi 25%, 50% dan 75%. Cawan ketiga berisi disk Ciprofloxacin sebagai kontrol positif. Cawan petri ketiga untuk paper disk yang sudah direndam DMSO 10% sebagai kontrol negatif. Setelah itu diinkubasikan pada temperatur 37°C selama 24 jam. Perlakuan tersebut dilakukan pada masing-masing media yang telah berisi bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dan perlakuan dilakukan replikasi sebanyak 3 kali. Diameter zona hambatnya diamati dan diukur. Daerah yang tidak ditumbuhi bakteri atau daerah yang bening disekitar disk menandakan bahwa kandungan kulit buah naga merah memiliki daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* (Ngajow *et al*, 2013).

## F. Analisis Data

### 1. Perhitungan Rendemen Ekstrak Etanol dan Fraksi Etil Asetat

Rendemen ekstrak etanol dan fraksi etil asetat kulit buah naga merah dihitung dengan cara menimbang bobot cawan dan ekstrak yang didapat, dengan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{bobot hasil}}{\text{Bobot sampel awal}} \times 100\%$$

### 2. Analisis kualitatif Flavonoid

Ekstrak etanol 70% dan fraksi etil asetat kulit buah naga merah dianalisis dengan pereaksi warna dan KLT. Uji reagen dengan etanol dan serbuk Mg ditambah dengan HCl jika berwarna merah lembayung makan

positif mengandung flavonoid. Terbentuknya busa menunjukkan adanya senyawa saponin dengan penambahan akuades 10,0 mL dan busa tidak hilang setelah ditambahkan HCl. Alkaloid diujikan dengan uji Mayer (+ endapan putih), uji Wgner (+ endapan coklat), dan uji Dragendorff (+ endapan merah kecoklatan). Terbentuknya warna biru tua, biru kehitaman atau hitam kehijauan menunjukkan adanya senyawa tanin dengan penambahan reagen  $\text{FeCl}_3$  1%. Uji fitokimia steroid dengan ditambahkan pereaksi Lieberman-Burchard ditandai dengan terbentuknya warna hijau atau biru.

Pengujian flavonoid menggunakan KLT, noda diamati dengan penampak noda sinar ultraviolet 254 nm dan 366 nm. Flavonoid dengan KLT diidentifikasi dengan penyemprotan  $\text{AlCl}_3$  yang akan memberikan warna kuning, diukur nilai Rf noda pada masing-masing sample standar kuersetin (Hanani, 2017).

### **3. Penetapan Kadar Flavonoid Total**

Kadar flavonoid total kulit buah naga merah dihitung menggunakan persamaan kurva baku seperti yang digunakan dalam penelitian Sari (2020). Analisa data yang digunakan adalah analisa data presentif. Dari data kurva kalibrasi dapat diperoleh nilai a, b, dan r dengan menggunakan regresi linier. Nilai r harus mendekati  $\pm 1$  agar kurva yang dihasilkan linier r yang baik yaitu 0,999 yang artinya korelasi yang kuat diantara dua variable yaitu variabel X sebagai konsentrasi dan variabel Y sebagai absorbansi. Setelah itu diolah menggunakan rumus :  $Y = bx + a$ , dimana a = konstanta b = koefisien regresi Y = absorbansi sebagai variabel terikat x = konsentrasi sebagai variabel bebas.

Hasil absorbansi dari pengukuran sampel dimasukkan ke dalam regresi linier. Absorbansi sampel sebagai  $y$ , sehingga kadar flavonoid total diperoleh dinyatakan sebagai jumlah mg ekuivalen kuersetin (QE) pada tiap gram ekstrak dan fraksi.

$$\text{Kadar flavonoid total (mg/100g)} = \frac{\text{konsentrasi } \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} \times \text{volume sampel}}{\text{berat sampel}} \times \text{FP}$$

#### 4. Perhitungan koefisien variasi (KV)

Data penetapan kadar tiap replikasi pada masing-masing proses ekstraksi dan fraksinasi dihitung nilai koefisien variasi. Koefisien variasi (KV) digunakan untuk mengetahui hasil kesesuaian analisis satu dengan hasil lain dari suatu seri pengukuran yang diperoleh dari sampling acak secara berulang dari sampel homogenya. Koefisien variasi yang baik adalah kurang dari 2% (Snyder, *et al.*, 2010).

$$\% \text{KV} = \frac{\text{standar deviasi}}{\text{rata-rata kadar sampel}} \times 100\%$$

#### 5. Uji statistik

##### a. Uji statistik kadar flavonoid total

Uji *Independent Sample T-Test* digunakan untuk menguji perbedaan rata-rata antara dua kelompok independen, sehingga uji ini digunakan untuk mengetahui adanya perbedaan kadar flavonoid total yang signifikan antar sampel ekstrak etanol dan fraksi etil asetat kulit buah naga merah.

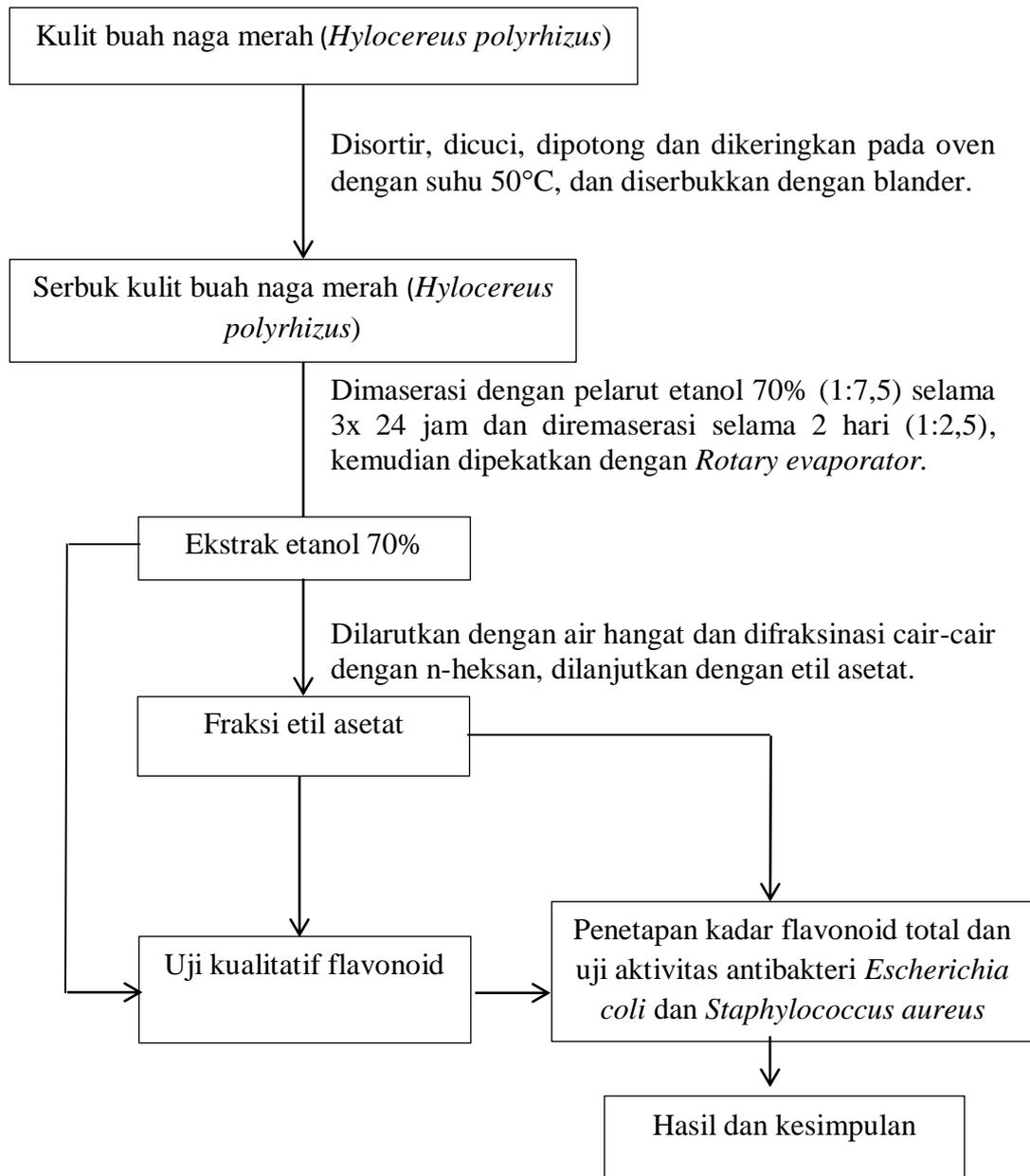
##### b. Uji statistik antibakteri

Pengolahan data zona hambat antibakteri menggunakan analisis statistik menggunakan *software* SPSS. Uji normalitas bertujuan untuk memperlihatkan bahwa data yang dilakukan memiliki distribusi normal atau tidak. Normalitas dipenuhi jika hasil signifikan dengan taraf signifikansi  $p = 0,05$ , apabila nilai signifikansi lebih besar dari  $p = 0,05$ , maka data tersebut terdistribusi normal, sebaliknya apabila nilai signifikansi lebih kecil dari  $p = 0,05$ , maka data tersebut tidak terdistribusi normal. Jika hasil normalitas  $p = >0,05$  maka dilanjutkan analisis statistika One Way ANOVA dan uji *Post Hoc*.

## **6. Pengukuran zona hambat**

Kemampuan daya hambat ekstrak etanol 70% dan fraksi etil asetat kulit buah naga merah terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* diukur zona hambat atau zona bening disekitar disk dengan jangka sorong. Hasil zona hambat yang dihasilkan ekstrak etanol dan fraksi etil asetat kulit buah naga merah dibandingkan kesetaraannya dengan zona hambat kontrol positif Ciprofloxacin.

### G. Alur Penelitian



**Gambar 6. Bagan alur penelitian**

## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### A. Kesimpulan

1. Kadar flavonoid total rata-rata dari ekstrak etanol dan fraksi etil asetat kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) sebesar  $8,773 \%QE \pm 1,1223$  dan  $11,596 \%QE \pm 0,0894$ .
2. Ekstrak etanol 70% dan fraksi etil asetat kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.
3. Berdasarkan hasil zona hambat dari ekstrak etanol dan fraksi etil asetat kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* tidak setara dengan hasil zona hambat kontrol positif Ciprofloxacin.

#### B. Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan mengisolasi dan pemurnian senyawa flavonoid dan senyawa aktif lainnya yang terdapat dalam kulit buah naga merah yang bertanggungjawab sebagai antibakteri.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri gram negatif dan gram positif yang lain.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai analisis hubungan antara hasil kadar flavonoid dengan aktivitas antibakteri secara statistik.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, W., Nurhamidah., Dewi. H., 2017, Skrining Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan Beberapa Fraksi Dari Kulit Batang Jarak (*Ricinus communis L.*), *Jurnal Pendidikan dan Ilmu Kimia*. 2017 :1(2) : 117-122.
- Ahmad, A.R., Juwita, Ratulangi, S.A.D., 2015, Penetapan Kadar Fenolik Dan Flavonoid Total Ekstrak Metanol Buah Patilaka (*Etilingera alati* (Jack) P.M.SM) *Originl Article V(2) No.1*.
- Anggraini, H., Fakhrurrazi., Abdul, H., 2017. Uji Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *JIMVET*. 01(3):416-423.
- Amalia, S., S. Wahdaningsih, and E.K. Untari. 2014. *Antibacterial activity testing of n-Hexane fraction of red dragon (Hylocereus polyrhizus Britton dan Rose) fruit peel on Staphylococcus aureus ATCC 25923. Traditional Medicine Journal*. 19(2):89-94.
- Amra, R.S., 2014, Analisis Antioksidan Ekstrak Etil Asetat Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) Dengan Metode DPPH (1,1 difenil-2-pikrilhidrazil), *Skripsi*, Fakultas Sains dan Teknologi Uin Alauddin Makassar.
- Angkat, N.U., Luthfi, A.M.S., Revandy, I.D.2018. Identifikasi Karakter Morfologi Buah Naga (*Hylocereus sp.*) Di Kecamatan Sitinjo Kabupaten Dairi Sumatera Utara, *Jurnal Agroekoteknologi FP USU*, 6(4), 818-820.
- Apriyani, M, 2020, Penetapan Kadar Flavonoid Total Dan Aktivitas Dari Ekstrak dan Fraksi Daun Salam (*Syzygium Polyznthus* (Wight.) Walp) Dengan Metode ABTS. *Skripsi*. STIKES Nasional.
- Arifin, B., Sanusi, I. 2018. Struktur, Bioaktivitas Dan Antioksidan Flavonoid Structure, Bioactivity And Antioxidan Of Flavonoid, *Jurnal Zarah*. 6(1), 21-29.
- Astridwiyanti, A.A.B., Agung N.M., Ni W.S.D, 2019, Uji efektivitas ekstrak etanol kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara in vitro, *Intisari Sains Medis*, 10(3), 482-486.
- Azis, T., Sendry. F., Aris. D.M. 2014. Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Persen Yield Keloid Dari Daun Salam India (*Murraya koenigri*), *Teknik Kimia*, 20(2), 1-6.
- Azizah,D.N., Endang. K., Fahrauk. F., 2014, Penetapan Kadar Flavonoid Metode  $AlCl_3$  Pada Ekstrak Metanol Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao L.*), *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 2 (2), 45-49.

- Brückler, J., Schwarz, S. and F. Untermann, F. (1994) Staphylokokkeninfektionen und –enterotoxine, band. II/1, In: Blobel, H. und Schlie ? er (Eds.), Handbuch der bakteriellen Infektionen bei Tieren, 2. Auflage. Gustav Fischer Verl ag Jena, Stuttgart.
- Clinical Laboratory Standart Institute. 2019. *Performace Standart for Antimicrobial Susceptibility Testing : Twentieth Information Supplement*. USA.
- Dewangga, V.S., Ardy., P.N, 2019. Uji Daya Hambat Ekstrak Etanoldaun Srikaya (*Annona Squamosal*) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro, *Jurnal Kesehatan Kusuma Husada*, 50-51.
- Dirjen POM. 1995. *Materia Medika Indonesia*. Jilid VI. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Edawati, Z., 2012, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol *Ascidia Didemnum* Sp. Dari Kepulauan Seribu Dengan Metode 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil (DPPH) dan Identifikasi Golongan Senyawa Dari Fraksi Teraktif. *Skripsi*. FMIPA UI. Depok.
- Edhar, A., Rahayu. W., Gunawan. D. 2017. Isolasi Dan Identifikasi Mikroba Tanah Pendegradasi Selulosa Dan Pectin Dari Rhizosfer (*Aquilaria malaccensis*). *Bulletin Tanah dan Lahan*. 1(1):58-64.
- Elfidasari, D., Anita, M.S., Grariani, N., Rugayah, S., Viki, S. 2011. Perbandingan Kualitas Es di Lingkungan Universitas Al Azhar Indonesia dengan Restoran Fast Food di Daerah Senayan dengan Indikator Jumlah *Escherichia coli* Terlarut. *Jurnal Al-Azhar Indonesia Seri Sains Dan Teknologi*, 1(1), 18-19.
- Elisabeth, O. J., Repining. T. S., Agustina. N. Y., 2020, Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Etanol Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*), *Journal of Pharmacy and Natural Product*, 03(01), 45-58.
- Ergina., Nuryati. S., dan Pursitasari, I.D., 2014, Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder Pada Daun Palado (*Agave angustifolia*) yang Diekstraksi Dengan Pelarut Air dan Etanol, *J. Akad Kim*. 3(3): 165-172.
- Estikawati, I dan Lindawati. N. Y., 2019, Penetapan Kadar Flavonoid Total Buah Oyong (*Luffa acutangula* (L.) Roxb.) dengan metode spektrofotometri uv-vis. *Jurnal Farmasi Sains dan Praktis (JFSP)*, 5(2): 96–105.
- Faizal, A., Riezki., A. 2016. Klasifikasi dan Aaktivitas Farmakologi Dari Senyawa Aktif Flavonoid. *Farmaka*. 16(3):1-9.
- Fluit, A.C., dan F.J. Schmitz. 2003. *MRSA Current Perspectives*. Caster Academic Press, England.

- Gandjar, I.G., 2007 dan Rohman. A., 2007, *Kimia Farmasi Analisis*, Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Gillsespie, R.J., Paul.,2001. *Chemical Bonding and Molecular Geometry*, Oxford University Press, London.
- Goodman dan Gilman. 2007. *Dasar Farmakologi Terapi Edisi ke-10 Volume ke-3*. Ahli Bahasa ITB.
- Hanani, E., 2017, *Analisis Fitokimia*, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Handayani, P.A., Rahmawati, A., 2012, Pemanfaatan Kulit Buah Naga (Dragon Fruit) sebagai Bahan Pewarna Alami Makanan Pengganti Pewarna Sintetis, *Jurnal Bahan Alam Terbarukan*, Volume 1, No. 2, 19-24.
- Hernandez, Y.D.O dan Salazar, J.A.C. 2012. Pitahaya (*Hylocereus spp.*): a short review. *Comunicata Scientiae* 3(4): 220-237.
- Ismail, D. 2012. Uji Bakteri *Escherichia coli* Pada Minuman Susu Kedelai Bermerek dan Tanpa merek Di Kota Surakarta. Surakarta : Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Ismail, Y.S., Cut. Z., Putriani. 2017. Isolasi, Karakterisasi dan Uji Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat Dari Fermentasi Biji Kakao (*Theobroma cacao L.*). *Bioleuser*, 1(2):45-53.
- Jawetz, E., Melnick, Adelberg. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi 23*. Jakarta : EGC.
- Jawetz, E., Melnick, Adelberg. 2008. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi 25*. Jakarta : EGC.
- Jawetz, Melnick dan Adelberg, 2013, *Medical Microbiology 26<sup>th</sup>*, Jakarta; EGC.
- Kamboh, *et al.* 2015. Flavonoids: Health Promotion Phytochemicals for Animal Production A-review. *Journal of Animal Health and Production*. January , Volume 3 Issue 1. ISSN 2308-2801.
- Katzung, B. G., 2004. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Edisi XIII. Buku 3. Translation of Basic and Clinical Pharmacology Eight Edition Alih bahasa oleh Bagian Farmakologi Fakultas kedokteran Universitas Airlangga. Jakarta: Salemba Medika.
- Keyser, F., H. 2005. *Medical Microbiology*. New York : Thieme Stuttgart. Halaman 187-295.
- Koirala, N., Pandey, R.P., Parajuli, P., Jung, H.J., Sohng, J.K. (2014). Methylation And Subsequent Glycosylation of 7,8-dihydroxyflavone. *Journal of Biotechnology*. 184, 128–37.

- Kulla, P.D.K., 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Dari Ekstrak Bawang Lanang (*Allium sativum* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus* Dan *Escherichia Coli*. Yogyakarta. Universitas Sanata Dharma.
- Kusuma, P., 2012, Penetapan Kadar Flavonoid Total Dan Daya Antioksidan Ekstrak Etanol Buah Pare (*Momordica charantia* L.), *Skripsi*, Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Aluddin, Makasar.
- Lay, B. W. (1994) Analisis Mikroba di Laboratorium. PT Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Leonita, S., Maria. B., Fachriyan. H. 2019. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Endofit dari Tumbuhan Nyawai Sebagai Senyawa Antibakteri. *Current Biochemistry*.2(3):116-128.
- Lindawati, N.Y., Sabilla, H.M, 2020, Penetapan Kadar Total Flavonoid Ekstrak Etanol Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris*) Dengan Metode Kompleks Kolorimetri Secara Spektrofometri Visible, *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 6 (1) : 83-91.
- Mangkasa, M. Y, Rorong. J. A, Wuntu. A. D, 2018, Uji Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Daun Bawang Kucai (*Allium Tuberosum* Rottl. Ex Spreng) Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. *Jurnal Pharmacon*. 7(4) : 12-22.
- Muhridja, M, Bialangi. N, Musa. W. J. A., 2016, Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Aktif Repellent Nyamuk dari Ekstrak Rimpang Jeringau (*Acorus calamus*). *Jurnal Entropi*. 11(2) : 1376-1384.
- Marcelinda, A., A. Ridhay, Prismawiyanti. 2016. Aktivitas antioksidan ekstrak limbah kulit ari biji kopi (*Coffea* sp.) berdasarkan tingkat kepolaran pelarut. *Jurnal of Natural Science*, 5 (1): 21- 30.
- Maravirnadita, A.H. 2019. *Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi n-Heksan, Etil Asetat dan Air Dari Buah Belimbing Manis (Averrhoa carambola) Dengan Metode DPPH*. Yogyakarta: Universitas Ahmad Dahlan Markham, K.R., 1998, Cara mengidentifikasi flavonoid, diterjemahkan oleh kokasih padmawinata, 15, bandung : penerbit ITB,
- Markham, K.R., 1988, *Cara mengidentifikasi flavonoid*, diterjemahkan oleh kokasih padmawinata, 15, bandung : penerbit ITB.
- Mukhriani, 2014, Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal kesehatan*. 6(2), 361-367.
- Ngajow, M., Jemmy, A., Vanda, S.K. 2103. Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara In vitro, *Jurnal Mipa Unsrat Online*, 2 (2), 128-132.

- Noor, M.I., Evi, Y., Zulfalina.2016. Identifikasi Kandungan Ekstrak Kulit Buah Naga Merah Menggunakan Fourier Transform Infrared (FTIR) dan Fitokimia, *Journal of Aceh Physics Society*, 5(1), 14-16.
- Nugroho, A. W., L., Rendy. dan L., Dwijyanthi. 2012.Farmakologi dasar dan Klinik/Bertam G. Katzung. 10th edn. Edited by W. K. Nirmala, N. Yesdelita, D. Susanto, and F. Dany. Jakarta: EGC.
- Nurmahani, M. M., A. Osman, A. Hamid, M. Ghazali, and M. S. P. Dek. 2012. Short communication antibacterial property of *Hylocereus polyrhizus* and *Hylocereus undatus* peel extracts. *International Food Research J.* 19(1):77-84.
- Paramita, N.L.P.V., *et al*, 2016. Perbandingan Aktivitas Antibakteri Ekstrak kaya antosianin dari Kulit Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas* L.) dan Kulit Buah Anggur Hitam (*Vitis Vinifera* L.) terhadap Isolat Bakteri *Propionibacterium acnes*. *Jurnal Farmasi Udayana*, 5(2):53-57.
- Pelczar, M. J. dan Chan, E. C. S., 1988, Dasar-Dasar Mikrobiologi, diterjemahkan oleh Hadioetomo, R. S., Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta.
- Praveena, Y. S. N. and P. Padmini. 2011. Antibacterial activities of mycotoxins from newly isolated filamentous fungi. *International J. of Plant, Animal, and Enviromental Science*, 1(1), 8-13.
- Praveena, Y. S. N., R. Jasmine, and D. Estherlydia. 2014. Comparative study of phytochemical screening and antioxidant capacities of Vinegar made from peel and fruit of pineapple (*Ananas Comosus* L.). *Food chemistry and food processing, loyola college, chennai. International J. of Pharma and Bio Sciences.* 5(4): 394-403.
- Pujiastuti, E., Demby. E., 2021, Perbandingan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol 70% Dan 96% Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) Dengan Spektrofotometri, *Journal of Pharmacy*, 5(1), E-ISSN 2599 – 2155.
- Purba, R. 2012. 21 Jenis Tabulamplot Populer. Agromedia : Jakarta.
- Radji, M.,M.Bioned. 2009. *Buku Ajar Mikrobiologi. Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran.* Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Rahayu, S., A., Muhammad, H.,G., 2017. Uji Cemarkan Air Minum Masyarakat Sekitar Margahayu Raya Bandung dengan Identifikasi Bakteri *Escherichia coli*, *IJPST*, vol. 4, No.2.
- Riyanto, A., 2011, *Pengolahan dan Analisis Data Kesehatan.* Yogyakarta: Nuha Medika.

- Rostinawati, T. 2008. Skrining dan Identifikasi Bakteri Penghasil Enzim Kitinase Dari Air Laut di Perairan Pantai Pondok Bali. Penelitian Mandiri. Fakultas Farmasi Universitas.
- Salamah, N., Miftahul. R., Muhti. A., 2017, Pengaruh metode penyarian terhadap kadar alkaloid total daun jembirit (*Tabernaemontana sphaerocarpa*. BL) dengan metode spektrofotometri visible, *Jurnal Pharmacia* 7 (1),113-122.
- Salmia, 2016, Analisis Kadar Flavonoid Total Ekstrak Kulit Batang Kedondong Bangkok (*Spondias dulcis*) Dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis, *skripsi*, Universitas Islam Negeri Alauddin, Makassar.
- Sangi,M.,M.R.J.Runtuwene., H.E.I Simbala, V. M. . M., 2008, Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat di kabupaten Minahasa Utara, 1, pp. 47–53.
- Sari A.A., Chairul S., Erwin, 2015, Uji Fitokimia, Toksisitas dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Berbagai Fraksi Daun Mara (*Macaranga tanarius* L) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, *Jurnal Kimia Mulawarman*, 12(2).
- Sari, D.K., Siwi, H. 2020. Analisis Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Seligi (*Phyllanthus Buxifolius* Muell. Arg) Dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis, *Indonesian Journal On Medical Science*, 7(1), 55-62.
- Sartika, D., Sutikno., Net, M., Syarifah, R.M.2019.Identifikasi Senyawa Antimikroba Alami Pangan Pada Ekstrak Kulit Buah Naga Merah Dengan Menggunakan GC-MS. *Jurnal Teknologi & Industri Hasil Pertanian*. 24(2), 67-69.
- Sepahpour, S., Selamat, J., Manap, M. Y., & Razis, A. F. (2018). Comparative Analysis of Chemical Composition,. *Jounal Molecules* Vol. 23 Ed 402 , 2 - 17.
- Septiani., Eko, N.D., Ima, W, 2017, Aktivitas Antibakteri Ekstrak Lamun (*Cymodocea rotundata*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, *Saintek Perikanan*, 13(1), 1-6.
- Sholeha, T.U., 2015. Uji Kepekaan Terhadap Antibiotik. *Juke Unila*. 5(9),119-122.
- Snyder, C.R., Kirkland J.J., and Glajach, J.L, 1997, *Practical HPLC Method Development, Second Edition*. New York: John Wiley and Sons,Lnc.Pp.
- Stahl, E, 1985, *Analisis Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopi*, diterjemahkan oleh Koasih Padmawinata dan Iwang Soediro, ITB, Bandung.

- Suardi, H.N. 2014. *Antibiotik Dalam Dunia Kedokteran Gigi. Cakradonya Dent J*, 6(2):678-744.
- Sudrajad, H.2004. Pengaruh Ketebalan Irisan Dan Lama Perebusan Terhadap Gambaran Mikroskopis Simplisia Dringo. *Media Litbang Kesehatan*. XIV(4).
- Suhartati, R., Dodi, A.R.2017. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) Terhadap Bakteri *Streptococcus pyogenes*. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada*, 17(2), 513-517.
- Sulistyarini, I., Diah.A.S., Tony.A.W., Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Batang Buah Naga (*Hylocereus polyrhizus*), *Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta*, ISSN 2528-5912
- Suri, M.H.T., 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol, Fraksi N-Heksan, Etil Asetat, Serta Air Dari Daun Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas* L.) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *skripsi*, Universitas Setia Budi, Surakarta.
- Suryati., Elizabeth, B., Ilmiawati, 2017.uji aktivitas antibakteri ekstrak aloe vera terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* secara in vitro, *jurnal Kesehatan*, 6(3), 518-522.
- Susi, A. R., Muhamad. H. G., 2017, Uji Cemarkan Air Minum Masyarakat Sekitar Margahayu Raya Bandung Dengan Identifikasi Bakteri *Escherichia coli*, *IJPST*, Volume 4, Nomor 2.
- Tian,Y., Wang., Qing Li., Kai-shun Bi. (2018). Bioactive flavonoids In Medicinal Plants: Structure, Activity And Biological Fateasian. *Journal Of Pharmaceutical Sciences*, 13, 12–23.
- Todar, K. 2005. *Todar's Onlinet Textbook of Bacteriology, Staphylococcus*. University Wincosin-Madison, Departement of Bacteriology.
- Tulus, L. F., Sunarty., Souhoka. F. A., 2019, Pemanfaatan Ekstrak Daun Kelor (*Moringa Oleifera*, Lam) Sebagai Antioksidan Pada Minyak Kelapa, *MJoCE*, 9 (1), Hal. 18-30.
- Widada.H dan Nurhasna.S, 2016, Antioxidant And Photoprotective Potential Of Ethyacetate Fraction From Ethanolic Extract Of Red Dragon Fruit Peel (*Hylocereus polyrhizus*), *Indonesia Japan Scientific Symposium*, 270-278.
- Wahdaningsih, S., Subagus W.,Sugeng R., Retno M, 2017, Penetapan Kadar Fenolik Total Dan Flavonoid Total Ekstrak Methanol Dan Fraksi Etil Asetat Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polurhizus* (F.A.C.WEBER) BRITTON dan ROSE). *Jurnal Ilmiah Farmasi*. 6(3), 295-296.
- Widyaningrum, H, 2011. *Kitab Tanaman Obat Nusantara*. Medpress. Yogyakarta.