

## UJI DAYA HAMBAT EKSTRAK DAN FRAKSI N-HEKASAN, FRAKSI ETIL ASETAT, FRAKSI AIR DAUN KERSEN (*Muntingia calabura* L) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Ponco Harum Anggraini<sup>1\*)</sup>, Anita Dwi Septiarini<sup>1)</sup>, Tatiana Siska W<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Duta Bangsa, Surakarta

\* Koresponden Penulis : [poncoharum418@gmail.com](mailto:poncoharum418@gmail.com)

### ABSTRAK

Daun kersen (*Muntingia calabura* L.) mengandung banyak flavonoid yaitu flavon, flavanon, dan flavan sehingga dapat menjadi antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan daya hambat ekstrak dan fraksi N-Heksan, fraksi Etil Asetat, fraksi Air Daun Kersen (*Muntingia calabura* L) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 serta untuk mengetahui fraksi teraktif untuk menghambat bakteri. Pengujian ekstrak dan fraksi dilakukan dengan menggunakan metode difusi dan dilusi pada sampel ekstrak yang dimaserasi dengan etanol 96% kemudian dilanjutkan proses fraksinasi. Pengujian dengan metode difusi menggunakan konsentrasi 1%,5%,10%,15%,20% menggunakan kontrol positif ciprofloxacin 0.5% dan metode dilusi konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,12%, 1,56%, 0,78%, 0,39%, 0,195% dan 0,098%. Hasil pengujian aktifitas antibakteri menunjukkan ekstrak, fraksi N-Heksan, Etil Asetat, dan Air memiliki daya hambat terhadap bakteri. Fraksi teraktif pada penelitian ini adalah fraksi Etil Asetat dengan daya hambat fraksi etil asetat pada konsentrasi 20% dengan rata-rata zona hambat sebesar 11,6 mm. Hasil uji dilusi Fraksi Etil Asetat dengan KBM pada konsentrasi 12.5%.

**Kata kunci:** Fraksi Etil Asetat, Fraksi Air Daun Kersen (*Muntingia calabura* L), *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, difusi, dilusi.

### ABSTRACT

Cherry leaves (*Muntingia calabura* L.) contain many flavonoids, namely flavones, flavanones, and flavans so that they can be antibacterial. This study aims to determine the inhibitory ability of extracts and fractions of N-Hexane, Ethyl Acetate fraction, Kersen Leaf Water fraction (*Muntingia calabura* L) against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and to determine the most active fraction to inhibit bacteria. Extract and fraction tests were carried out using the diffusion and dilution method on the extract sample macerated with 96% ethanol and then continued with the fractionation process. Tests using the diffusion method using a concentration of 1%,5%,10%,15%,20% using a positive control ciprofloxacin 0.5% and the dilution method with concentrations of 50%, 25%, 12.5%, 6.25%, 3.12% , 1.56%, 0.78%, 0.39%, 0.195% and 0.098%.The results of the antibacterial activity test showed that the extract, N-Hexane, Ethyl Acetate, and Water fractions had inhibitory power against bacteria. The most active fraction in this study was the ethyl acetate fraction with the inhibitory power of the ethyl acetate fraction at a concentration of 20% with an average inhibition zone of 11.6 mm. The results of the dilution test of the Ethyl Acetate Fraction with KBM at a concentration of 12.5%.

**Keywords:** Ethyl Acetate Fraction, Water Fraction of Kersen Leaf (*Muntingia calabura* L), *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, diffusion, dilution.

## Pendahuluan

Indonesia memiliki beragam tumbuhan yang digunakan untuk pengobatan dikarenakan mengandung bahan kimia yang berperan sebagai obat. Antibakteri yang sering digunakan adalah antibakteri berbahan kimia. Antibakteri merupakan zat yang dapat mengganggu pertumbuhan atau bahkan mematikan bakteri dengan cara mengganggu metabolisme mikroba yang merugikan. Mekanisme kerja dari senyawa antibakteri diantaranya yaitu menghambat sintesis dinding sel, menghambat keutuhan permeabilitas dinding sel bakteri, menghambat kerja enzim dan menghambat sintesis asam nukleat dan protein. (Puspitasari & Wulandari, 2017)

Tanaman kersen (*Muntingia calabura* L.) adalah tanaman asli Amerika Selatan yang telah tersebar di wilayah Asia, termasuk Indonesia. Tanaman ini dapat mencapai ketinggian 5 meter dan tersusun dari daun yang rindang, sehingga sering dijumpai ditepi jalan sebagai pohon peneduh. Berdasarkan hasil penelitian daun kersen mengandung berbagai senyawa bioaktif yaitu senyawa flavonoid, saponin, triterpen, steroid, dan tanin. Dimana senyawa bioaktif ini merupakan senyawa yang berpotensi sebagai antibakteri (Zulham, 2019)

Ekstrak daun *Muntingia calabura* L. memiliki aktivitas antiinflamasi, antipiretik, antibakteri. Daun kersen ini mengandung banyak flavonoid yaitu flavon, flavanon, dan flavan sehingga dapat menjadi antibakteri dengan aktivitas antibakteri yang paling besar dari ekstrak dan fraksi daun kersen (*Muntingia calabura*) terhadap *Staphylococcus aureus* adalah fraksi etil asetat dengan Kadar Bunuh Minimum (KBM) sebesar 0,312 mg/mL. (Air et al., n.d.)

## METODE PENELITIAN

### Jenis Penelitian

Jenis Penelitian yang dilakukan secara eksperimental yaitu untuk mengetahui kemampuan daya hambat ekstrak dan fraksi N-Heksan, fraksi Etil Asetat, fraksi Air Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 serta untuk mengetahui fraksi teraktif untuk menghambat bakteri.

### Waktu dan Tempat Penelitian

Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan Oktober 2020 – Desember 2020 bertempat di Laboratorium Politeknik Indonusa Surakarta

### Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian yaitu timbangan analitik, blender, gelas ukur, gelas, *moisture balance*, piala, batang pengaduk, kertas saring, cawan petri, *rotary evaporator*, lemari pendingin, botol kaca, beker gelas, pipet, erlenmeyer, autoklaf, aluminium foil, jangka sorong, *laminar air flow (LAF)*, inkubator, sentrifugasi, kawat ose, *water bath*, ayakan, lampu spiritus, corong pisah, tabung reaksi.

### Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah serbuk daun kersen (*Muntingia calabura* L.), etanol 96%, CH<sub>3</sub>COOH, Asam Sulfat Pekat, bakteri *Staphylococcus aureus*, FeCl<sub>3</sub>, Logam Na dan HCL, Etil Asetat, Air, N-Heksana, Media *Mueller Hinton*, media Na, Media NB, DMSO 1%, Ciprofloxacin tab 500 mg (Hexpharm Jaya), piper disk, spiritus, hidrogen peroksida 3, larutan fuschine, gentian violet, silika gel GF254.

### Metode

1. Determinasi Tanaman

Determinasi bertujuan untuk mengetahui kebenaran dan kesesuaian identitas tanaman yang diinginkan dalam penelitian. Determinasi tanaman dilakukan di Balai Besar Tanaman .

## 2. Pemilihan Daun Kersen

Daun Kersen diambil di Desa Gagaksipat, daun yang diambil daun yang berwarna hijau, segar, dan terbebas dari hama dipisahkan dari batangnya dan dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan. Daun yang telah dibersihkan diletakkan dalam wadah datar kemudian ditutup kain hitam dan dikeringkan dibawah sinar matahari.

## 3. Pembuatan serbuk simplisia

Daun yang telah kering dihaluskan kemudian diayak dengan pengayak Mesh No 40.

## 4. Pembuatan ekstrak

Serbuk simplisia 200 gr yang telah terbentuk dilakukan proses maserasi dengan melakukan perendaman menggunakan etanol 96 % sebanyak 2000 mL selama 5 hari dengan perbandingan 1:10. Filtrat ekstrak daun kersen di pekatkan dengan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental yang bebas dari pelarut. Ekstrak daun kersen yang dihasilkan akan digunakan untuk pengujian selanjutnya dengan pembuatan berbagai konsentrasi ekstrak (1%; 5%;10%;15%;20%).

## 5. Pemeriksaan Karakteristik Serbuk Simplisia

Uji bebas etanol dilakukan dengan esterifikasi yaitu ekstrak ditambahkan asam asetat dan asam

sulfat pekat kemudian dipanaskan. Uji positif bebas etanol jika tidak terbentuk bau ester yang khas dari etanol (Legifani, 2018)

Pada uji susut pengeringan metode yang digunakan adalah gravimetri. Dengan alat yang bernama *Moisture Balance*. Dua gram serbuk kemudian dimasukkan kedalam alat dan alat akan berbunyi kemudian catat susut pengeringan

## 6. Identifikasi senyawa kimia ekstrak

### 1. Uji flavonoid

Sampel ekstrak ditambah dengan logam Mg dan HCl akan terbentuk garam flavilium berwarna merah atau jingga.(Agustin et al., 2018)

### 2. Uji tanin

Sampel ekstrak ditambah dengan beberapa tetes  $FeCl_3$  dan perubahan warna membentuk warna hijau (Agustin et al., 2018)

### 3. Uji saponin

Sampel ekstrak ditambah dengan aquades panas akan terbentuk busa atau buih selama 15 menit, timbulnya busa akan menunjukkan adanya saponin (Agustin et al., 2018)

## 7. Identifikasi kandungan senyawa dengan menggunakan KLT

Pengujian Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dilakukan pada fraksi teraktif dengan tujuan untuk mengetahui kemungkinan senyawa yang berperan dalam memberikan aktifitas antibakteri. Pengujian meliputi identifikasi flavonoid, tanin, saponin.

a. Identifikasi flavonoid. Identifikasi senyawa flavonoid menggunakan KLT yaitu fase diam silika gel GF254 dan fase gerak kloroform : metanol (1:1) dengan penampakan noda uap

amoniak. Bila dengan sinar UV 254 nm dan UV 366 nm berfloresensi biru, kuning, ungu gelap, dan berwarna kuning setelah diuapi ammonia yang cepat dan pereaksi semprot yang digunakan adalah sitoborat

b. Identifikasi saponin. Identifikasi senyawa saponin dilakukan dengan menggunakan KLT, fase gerak yang digunakan kloroform : etil asetat (9:1). Setelah lempeng kromatografi berada 30 menit dalam bejana kromatografi yang telah dijenuhkan, suhu 20°C harus tetap terjaga. Suhu yang lebih tinggi, maka semua bercak akan berpindah ke daerah Rf yang lebih atas. Pereaksi penampakan yang digunakan Liberman Bourchardat. Saponin akan membentuk bercak biru, violet biru, atau kadang-kadang kekuningan bila diamati pada sinar biasa

c. Identifikasi tanin. Identifikasi senyawa tanin fase gerak yang digunakan adalah n-heksan : etil asetat (3:7) dan fase diamnya silika gel GF 254. Di deteksi dibawah sinar UV 254 nm dan 366 nm tidak ada bercak. Pereaksi semprot yang digunakan FeCl<sub>3</sub>

#### 8. Fraksinasi

a. Fraksinasi *n*-heksan ekstrak daun kersen.

Fraksinasi *n*-heksan ekstrak daun kersen dibuat dengan cara ekstrak 10 g etanol daun kersen (*Muntingia calabura* L.) dilarutkan dengan 75 ml air kemudian difraksinasi dengan pelarut non polar *n*-heksan sebanyak 75 ml dalam corong pisah. Filtrat yang dibagian atas fraksi *n*-heksan dipisahkan dari filtrat yang di bagian bawah air, sehingga didapat fraksi *n*-heksan (replikasi 3x).

b. Fraksinasi etil asetat ekstrak daun kersen.

Fraksinasi etil asetat ekstrak daun kersen dibuat dengan cara fraksinasi dari residu *n*-heksan difraksi kembali dengan menggunakan pelarut etil asetat sebanyak 75 ml sebagai pelarut semi polar dalam corong pisah. Fraksi yang dibagian atas fraksi etil asetat (replikasi 3x).

c. Fraksinasi air ekstrak daun kersen. Fraksinasi air ekstrak daun kersen dibuat dengan cara hasil fraksinasi dari residu etil asetat, kemudian didapatkan fraksi air.

#### 9. Pembuatan Media Sterilisasi

Alat-alat yang digunakan dalam uji aktivitas antibakteri ini disterilkan terlebih dahulu. Alat-alat gelas dan media disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15-20 menit dengan tekanan 15 Psi sedangkan untuk jarum Ose dan pinset disterilisasikan dengan cara dibakar

#### 10. Pembuatan Media Nutrient Agar (NA)

Media NA sebanyak 0,46 g dilarutkan dalam 20 ml aquadest (23 g/1000 mL) menggunakan Erlenmeyer. Selanjutnya dihomogenkan dengan magnetic stirrerhotplate. Sebanyak 5 ml dituangkan masing-masing pada 3 tabung reaksi steril dan ditutup dengan aluminium foil. Media disterilkan dalam autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit, kemudian dibiarkan pada suhu ruangan selama ± 30 menit sampai media memadat pada kemiringan 30°. Media agar miring digunakan untuk inokulum suspensi bakteri uji.

11. Peremajaan *Staphylococcus aureus*

Peremajaan bakteri menggunakan agar miring NA dengan mengambil satu ose bakteri menggunakan ose steril yang sudah dipanaskan dengan cara pemijaran kemudian ditusuk dan digoreskan pada permukaan agar miring dengan cara zig-zag dan di inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

12. Identifikasi *Staphylococcus aureus* dengan Perwarnaan Gram

Pewarnaan Gram dilakukan dengan mengusapkan 1 Ose biakan bakteri pada obyek glass kemudian ditetesi akuades steril kemudian diratakan agar setipis mungkin lalu difiksasi dengan dilewatkan diatas api spiritus. Preparat kemudian ditetesi dengan kristal violet (selama  $\pm$  2 menit), warna dicuci kemudian ditetesi lugol, diamkan selama 1 menit. Preparat kemudian dilunturkan dengan cara dicuci dengan alkohol 96% selama 1 menit lalu dibuang. Preparat yang telah dicuci dengan alkohol 96% kemudian ditetesi safranin dan biarkan selama 1 menit, selanjutnya dicuci dengan akudest. Preparat diamati dibawah mikroskop

13. Identifikasi *Staphylococcus aureus* dengan uji biokimia

a. Uji Katalase dilakukan dengan bakteri uji ditambahkan 2-3 tetes hidrogen peroksida 3% pada kaca benda, lalu mengamati terbentuknya gelembung-gelembung udara. (AKKOC, 2019)

b. Uji Koagulase dilakukan dengan cara setetes NaCl fisiologis steril diletakkan pada kaca benda, kemudian menambahkan satu Ose biakan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Reaksi positif terjadi apabila dalam 3 menit terjadi gumpalan/presipitat granuler.

14. Pembuatan Media MHA

Sebanyak 11,4 gram Media *Mueller Hinton* agar dilarutkan dalam 300 ml aquadest dipanaskan sampai larut. Media disterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C. Dinginkan sampai suhu  $\pm$  50°C, selanjutnya dibagi ke dalam cawan petri steril.

15. Pembuatan Medium NB

Sebanyak 8 gram bubuk NB dilarutkan dengan 1 liter akuades dalam erlenmeyer kemudian diaduk dengan menggunakan magnetic stirrer. Setelah itu medium NB disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

16. Pembuatan Suspensi Bakteri *Staphylococcus aureus*

Biakan bakteri *Staphylococcus aureus* didalam media NA yang telah diinkubasi selama 24 jam diambil sebanyak 1 ose dan dimasukkan dalam tabung reaksi yang berisi NaCl steril 1 ml. Kemudian dihomogenkan dengan menggunakan vortex dan inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C selanjutnya kekeruhannya dibandingkan dengan 0.5 Mc Farland ( $10^5$ - $10^8$ /ml).

### **Analisis Data**

Data penelitian ini dianalisis dengan menggunakan perangkat lunak SPSS 18 menggunakan uji *One Way ANOVA (Analysis of Varians)* dan perlu dilakukan uji lanjutan yaitu *Post Hoc Test. Uji Post Hoc* yang dilakukan dengan metode *Tukey*.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Determinasi Tanaman**

Identifikasi tanaman dilakukan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang diambil, menyesuaikan ciri morfologi tanaman, dan menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan. Determinasi dilakukan bertempat di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TOOT). Hasil identifikasi tanaman bahwa benar daun kersen (*Muntinga Calbura L.*)

### **Hasil pengeringan daun kersen**

Pada proses pengeringan dilakukan dengan menggunakan panas matahari agar diperoleh hasil pengeringan yang baik dan terbebas dari jamur. Setelah melalui proses pengeringan daun yang telah kering kemudian diblender dan diayak dengan mesh 40 bertujuan untuk memperkecil ukuran sampel dan menambah luas permukaan, sehingga zat aktif yang terdapat pada daun kersen dapat disari secara maksimal.

### **Hasil Ekstraksi Sampel**

Serbuk daun kersen yang telah diblender kemudian disari dengan metode maserasi. Penggunaan metode maserasi dipilih karena metode sederhana dan menggunakan etanol 96% selama 5 hari. Hasil dari maserasi di saring dan kemudian hasil penyarian etanol di uapkan dengan *rotary evaporator*

dilanjutkan dengan waterbath pada suhu 60°C dengan tujuan untuk menghilangkan pelarut etanol 96%. Penguapan dilakukan selama 3 hari dan menghasilkan ekstrak kental yang berwarna hijau pekat kental.

### **Hasil kareteristik simplisia**

Uji bebas etanol dilakukan untuk mengetahui bahwa ekstrak yang akan digunakan sudah tidak memiliki kandungan etanol sehingga saat digunakan sebagai uji antibakteri bukan etanol yang membunuh bakteri melainkan ekstrak daun kersennya. Susut pengeringan yang dilakukan pada praktikum ini bertujuan untuk mengetahui susut pengeringan dapat memberikan batasan maksimal tentang besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan. Batas maksimum susut pengeringan menurut Farmakope Herbal tidak lebih dari 11% (Rahmaniati M et al., 2018). Pada praktikum kali ini susut pengeringan dilakukan dengan menimbang 2 gram serbuk simplisia kemudian dimasukkan dalam alat *Moisture Balance*. Susut pengeringan yang didapat dari pengeringan daun kersen ditemukan hasil 9,13% memenuhi standar susut pengeringan.

### **Uji Fitokimia**

Ekstrak daun kersen yang diperoleh, dilakukan uji kualitatif. Analisis kualitatif menggunakan reaksi warna bertujuan untuk mengetahui senyawa yang ada pada daun kersen.

#### **1. Uji Flavonoid**

Sampel ekstrak ditambah dengan logam Mg dan HCl akan terbentuk garam flavilium berwarna merah atau jingga. Hasil identifikasi senyawa flavonoid pada

sampel menunjukkan ekstrak etanol daun kersen positif mengandung senyawa flavonoid dengan adanya warna jingga yang terbentuk pada sampel.

## 2. Uji Tanin

Sampel ekstrak ditambah dengan beberapa tetes  $\text{FeCl}_3$  dan perubahan warna membentuk warna hijau. Hasil identifikasi senyawa tanin ditunjukkan

positif dengan adanya perubahan warna hijau pada sampel

## 3. Uji Saponin

Sampel ekstrak ditambah dengan aquades panas akan terbentuk busa atau buih selama 15 menit, timbulnya busa akan menunjukkan adanya saponin. Hasil identifikasi senyawa saponin ditunjukkan positif dengan adanya busa atau buih.

**Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Daun Kersen**

Senyawa	Uji	Teori	Hasil	Keterangan
Flavonoid	Ekstrak+ Serbuk Mg Dan HCl 2N	Warna Jingga, Atau Merah	Warna Jingga Kemerahan	Positif
Saponin	Ekstrak+ Akuades dan Dikocok	Berbusa	Berbusa	Positif
Tanin	Ekstrak+ $\text{FeCl}_3$ 1%	Kehijauan	Kehijauan	Positif

## Hasil Kromatografi Lapis Tipis fraksi teraktif

Kromatografi Lapis Tipis digunakan untuk pemisahan komponen dalam senyawa dan juga digunakan untuk mencari  $R_f$  senyawa yang diuji. Dalam KLT lempeng yang digunakan adalah GF254. Fraksi teraktif dari daun kersen dilarutkan dengan etanol kemudian ditotolkan pada garis bawah batas elusi didiamkan sampai kering kemudian dimasukkan kedalam chamber yang telah jenuh berisi pelarut. Pelarut akan beregak perlahan keatas dengan melarutkan komponen yang ada dalam fraksi dan memunculkan bercak. Setelah mencapai batas akhir atas lempengan dikeluarkan dan dikeringkan untuk selanjutnya dilihat dibawah sinar UV. Kromatografi lapis tipis (KLT) digunakan untuk mengetahui identitas zat aktif yang ada pada fraksi teraktif daun kersen.

- a. Identifikasi senyawa flavonoid menggunakan fase diam silika gel GF254 dan fase gerak kloroform : methanol (1:1) dengan pereaksi semprot sitroborat. Senyawa flavonoid akan terlihat bercak berwarna kuning. Berdasarkan hasil identifikasi Kromatografi Lapis Tipis, dapat disimpulkan bahwa fraksi etil asetat positif mengandung senyawa flavonoid. Hal ini ditunjukkan dengan bercak terlihat berwarna fluoresensi kuning pada sinar UV 254 nm, berwarna biru pada UV 366 nm, dan  $R_f$  0,88
- b. Identifikasi senyawa saponin. Identifikasi senyawa saponin fase gerak yang digunakan adalah n-heksan : etil asetat (3:7) dan fase diamnya silika gel GF 254. Di deteksi dibawah sinar UV 254 nm dan 366 nm. Pereaksi semprot yang digunakan  $\text{FeCl}_3$ . Pada hasil KLT dihasilkan bercak kuning pada sinar 254 nm dengan  $R_f$  0,62
- c. Identifikasi senyawa tanin. Hasil identifikasi golongan senyawa tanin dilihat

dengan sinar UV 254 dan UV 366 dan KLT menggunakan fase diam silika gel GF 254 dan fase gerak n-heksan: etil asetat (3:1). Hasil identifikasi menunjukkan bercak senyawa tanin adalah pada sinar UV 254 nm berwarna biru violet dan UV 366 nm biru hitam. Sehingga dapat disimpulkan bahwa fraksi etil asetat terdapat senyawa tanin dari bercak pada lempeng KLT yang dilihat pada UV 254 dengan Rf 0,66

### Fraksinasi Ekstrak Daun Kersen

Fraksinasi dilakukan dengan menggunakan pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda-beda. Fraksinasi bertujuan untuk menarik semua senyawa-senyawa kimia dalam tumbuhan berdasarkan kepolaran dari setiap senyawa. Pelarut yang digunakan yaitu n-

heksana (non-polar), etil asetat (semi polar), dan metanol (polar). Ekstrak ditimbang 10 gram kemudian dilarutkan dengan aquadest 75 ml, setelah larut sempurna ditambahkan n-heksan 75 ml dan dilakukan penggojogan selama 10 menit, sesekali corong pisah dibuka untuk mengeluarkan gas. Residu dari n-heksan kemudian dilanjutkan kembali dengan memasukkan etil asetat sebanyak 75 ml dan dilakukan penggojogan selama 10 menit. Hasil fraksi n-heksan dan etil asetat terletak diatas sedangkan fraksi air terletak dibawah, hal ini dikarenakan air memiliki berat jenis yang lebih besar dibandingkan n-heksan dan etil asetat. Hasil fraksi kemudian diuapkan dengan *waterbath* sampai didapatkan hasil fraksi yang digunakan untuk proses antibakteri.

**Tabel 2. Hasil rendemen fraksi N-Heksan, Etil Asetat, dan Air**

Pelarut	Bobot ekstrak	Bobot fraksi	Prosentase	Rata rata
N-Heksan	10 g	2,345 g	23,45%	22,22%
	10 g	1,667 g	16,67%	
	10 g	2,656 g	26,56%	
Etil Asetat	10 g	2,554 g	25,54%	25,54%
	10 g	2,443 g	24,43%	
	10 g	2,628 g	26,28%	
Air	10 g	2,799 g	27,99%	27,60%
	10 g	2,828 g	28,28%	
	10 g	2,655 g	26,55%	

### Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus*

Identifikasi *Staphylococcus aureus* dengan pengecatan Gram dilakukan menggunakan cat Gram A (Kristal Violet), Gram B (iodium), Gram C (alkohol - aseton), Gram D (safranin) kemudian diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 1000 dengan minyak emersi. Pengecatan Gram dilakukan bertujuan untuk membedakan bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif. Hasil pengecatan Gram *Staphylococcus aureus*

berwarna ungu, bentuk bulat, susunan bergerombol, dan merupakan bakteri Gram positif. Pada identifikasi bakteri dilakukan juga dengan uji biokimia terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan uji katalase dan uji koagulase yang menandakan bakteri benar dan dapat digunakan untuk kegiatan praktikum selanjutnya. Pada uji koagulase bakteri diletakkan pada kaca arloji kemudian ditetesi NaCl fisiologis dan terbentuk gumpalan granuler. Dan pada uji katalase bakteri juga diletakkan pada



kaca arloji kemudian ditetesi hidrogen peroksida 3% akan terbentuk gelembung udara pada bakteri

### Pengujian Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri dengan menggunakan metode difusi. Biakan bakteri pada media disuspensikan dengan larutan NaCl steril untuk digunakan pada metode difusi. Bakteri yang dibuat suspensi dibandingkan dengan 0.5 Mc Suspensi bakteri yang telah dibuat diambil 10 mikron dengan pipet ukur kemudian dimasukkan pada cawan petri yang telah berisi media MHA dan diratakan dengan pengaduk L. Paper disk direndam pada ekstrak dengan perbandingan konsentrasi ekstrak dan fraksi 1%, 5%, 10%, 15%, 20% dan untuk kontrol negatif direndam pada DMSO 1% selama 15 menit kemudian di letakkan diatas media Mueller Hinton Agar yang telah diinokulasikan *Staphylococcus aureus*. Kontrol positif yang digunakan pada bakteri *Staphylococcus aureus*

adalah Ciprofloxacin. Perlakuan tersebut dilakukan 3 kali pengulangan. Pembacaan hasil dilakukan setelah inkubasi 24 jam pada suhu 37°C dengan melihat area jernih pada permukaan media agar, dengan adanya area jernih tersebut mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antibakteri. Area jernih pada permukaan media agar diukur dengan satuan mm (Ningsih & Zufahair, n.d.)

Zona hambat yang dihasilkan fraksi etil asetat pada konsentrasi 20% dihasilkan 11,6 mm mendekati kontrol positif. Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri karena kemampuannya dalam membentuk kompleks dengan protein ekstra seluler dan dinding sel bakteri. Pada uji dilusi dilakukan percobaan dengan media cair dengan memperhatikan kekeruhan pada tabung yang diberi bakteri dan fraksi teraktif yang diinkubasi selama 24 jam dalam inkubator dengan kontrol positif Ciprofloxacin. Hasil daya hambat dapat dilihat pada tabel 3.

**Tabel 3.Uji Aktifitas Antibakteri secara Difusi**

Pelarut	Konsentrasi	Daya Hambat			SD ± Mean
		I	II	III	
Ekstrak	1	6	6	6	.00±6.00
	5	7	7	7	0.00±7.00
	10	8	8	8	0.00±8.00
	15	8,5	8	9	0.28±8.50
	20	9	8	8	0.33±8.33
N-Heksan	1	6	6	6	0.00±6.00
	5	6,5	6,5	7	0.17±6.67
	10	7	8	8	0.33±7.67
	15	8	8	8	0.00±8.00
	20	8.5	9	9	0.17±8.83
Etil Asetat	1	6	6	7	0.33±6.33
	5	8.5	8	9	0,28±8.50
	10	8	8	8	0.00±8.00
	15	10	9	10	0.33±9.67
	20	10	12	13	0.88±11.67
Air	1	0	0	0	0.00±0.00
	5	6	6	6	0.00±6.00
	10	7	6	7	0.33±6.67
	15	6	7	7	0.33±6.67

	20	8	7	7	0.33±7.33
Kontrol +	0.5%	12	12	12	0.21±11,86
		10	12	12	0.21±11,86
		10	13	12	0.21±11,86
		12	12	12	0.21±11,86
		12	13	12	0.21±11,86
Kontrol -	0.1 %	0	0	0	0.00±0.00
		0	0	0	0.00±0.00
		0	0	0	0.00±0.00
		0	0	0	0.00±0.00
		0	0	0	0.00±0.00

Uji dilusi dilakukan dari hasil uji difusi ekstrak etanol, fraksi n-heksana, etil asetat dan air dari daun kersen yang telah dilakukan pengujian aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri menunjukkan bahwa fraksi etil asetat yang paling aktif dalam menghambat dengan KHM 12,5%. Ditandai dengan adanya

kejernihan pada tabung yang telah diisi fraksi etil asetat ditambah suspensi bakteri dan juga media cair NB. Konsentrasi fraksi yang digunakan yaitu 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,195%; 0,098%. Pada tabung 12,5% telah terlihat tabung berwarna bening sampai dengan tabung 50%.

**Tabel 4. Akitifitas Antibakteri Dilusi**

Kosentrasi Fraksi Etil Asetat	Replikasi		
	I	II	III
Kontrol (-) Fraksi etil asetat	-	-	-
50%	-	-	-
25%	-	-	-
12,5%	-	-	-
6,25%	+	+	+
3,12%	+	+	+
1,56%	+	+	+
0,78%	+	+	+
0,39%	+	+	+
0.195%	+	+	+
0,098%	+	+	+
Kontrol (+) Suspensi Bakteri	+	+	+

Pengujian dilanjutkan dengan penginokulasian dari media cair ke media padat MHA dan dilanjutkan dengan inkubasi selama 24 jam dengan suhu 37 °c dalam inkubasi untuk memberjelas KBM yang dihasilkan. Konsentrasi bunuh minimum (KBM) yang didapat pada konsentrasi 12,5%.

#### Hasil analisis data

Analisis data yang digunakan pada praktikum kali ini menggunakan uji *One Way Anova* yang dilanjutkan dengan

uji *Post Hoc Test* dengan metode *Tukey*. Dari hasil uji *One-Sample Kolmogorove-Sminov* diperoleh sig 0,114 > 0,05 maka H0 diterima, data tersebut dinyatakan terdistribusi normal sehingga dapat dilanjutkan menggunakan uji ANOVA *One Way*. Dalam penelitian ini untuk uji homogenitas menggunakan uji *Levene* dengan bantuan program SPSS. Nilai probabilitas *Levene Statistic* adalah 0,086 > 0,05 maka H0 diterima yang artinya keempat sampel memiliki varian yang sama. Hasil signifikasi dari data uji

ANOVA adalah  $0,000 < 0,05$  yang artinya keempat sampel ada perbedaan dalam diameter zona hambat. Uji *Tukey* digunakan untuk mengetahui kelompok perlakuan yang memiliki pengaruh sama atau berbeda antara satu dengan yang lainnya. Dengan analisa *Tukey* adanya perbedaan konsentrasi pada setiap perlakuan pada penelitian berpengaruh pada daya hambat bakteri

### Ucapan Terima Kasih

Puji syukur penulis ucapkan kehadiran Allah SWT atas limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi yang berjudul Uji Daya Hambat Ekstrak Dan Fraksi N-Heksan, Fraksi Etil Asetat, Fraksi Air Daun Kersen (*Muntingia calabura* L) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada

1. Allah SWT, atas kenikmatan dan kemudahan yang telah diberikan.
2. Dr. Singgih Purnomo, M.M selaku rektor Universitas Duta Bangsa Surakarta yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk membuat Skripsi ini
3. Tatiana Siska W, M.Farm selaku ketua Program Studi S1 Farmasi Universitas Duta Bangsa Surakarta dan selaku pembimbing Skripsi yang telah memberikan arahan, bimbingan dan nasehat hingga selesainya penulisan Skripsi ini
4. Apt. Anita Dwi Septiarini, M.Farm selaku pembimbing Skripsi yang telah memberikan arahan, bimbingan dan nasehat hingga selesainya penulisan Skripsi ini
5. Seluruh Dosen serta Staff Universitas Duta Bangsa

Surakarta yang telah mendidik dan membantu penulis dalam menyelesaikan studi

6. Rekan rekan mahasiswa seperjuangan dan pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu yang telah membantu dalam penyusunan Skripsi

Penulis menyadari Skripsi ini tidak lepas dari kekurangan semoga Skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak dan pembaca guna menambah pengetahuan dan wawasan.

### Kesimpulan

1. Ekstrak dan fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, fraksi air dari daun kersen (*Muntingia calabura* L.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
2. Fraksi Etil Asetat merupakan fraksi teraktif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
3. Kosentrasi Hambat Minimum (KHM) dari fraksi teraktif daun kersen (*Muntingia calabura* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 adalah 12,5%.
4. Kosentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari fraksi teraktif dari daun kersen (*Muntingia calabura* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 adalah 12,5%.

### DAFTAR PUSTAKA

- Agustin, B. A., Puspawaty, N., & Rukmana, R. M. (2018). Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Etanolik Daun Beluntas (*Pluchaea indica* Less.) dan Meniran (*Phyllanthus niruri* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Biomedika*, 11(2), 79–87. <https://doi.org/10.31001/biomedika.v11i2.425>

- Air, F., Kersen, D., & Staphylococcus, B. (n.d.). *Uji Daya Hambat Ekstrak Dan Fraksi N-Heksan, Fraksi Etil Asetat, Fraksi Air Daun Kersen (Muntingia calabura L ) Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus ATCC 25923.* 1–12.
- AKKOC, B. (2019). Identifikasi Dan Uji Sensitifitas Staphylococcus aureus Terhadap Antibiotik Pada Ulkus Penderita Diabetes Melitus Di RSUP. H Adam Malik Sumatra. *Ayan*, 8(5), 55.
- Legifani, M. E. (2018). Karakteristik dan Uji Stabilitas Sediaan Krim Ekstrak Etanol Daun Kersen (Muntingia calabura L.). *Polteknik Kesehatan Kemenkes Kupang*, 1, 23–24.
- Ningsih, D. R., & Zufahair, D. K. (n.d.). *Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Serta Uji Aktifitas Ekstrak Daun Sirsak Sebagai Antibakteri Identification Of Secondary Metabolit Compunds And Antibacterial Activities On The Extract Of Soursop Leaf.*
- Puspitasari, A. D., & Wulandari, R. L. (2017). Aktivitas Antioksidan dan Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etil Asetat Daun Kersen (Muntingia calabura). *Jurnal Pharmascience*, 4(2). <https://doi.org/10.20527/jps.v4i2.5770>
- Rahmaniati M, A., Ulfah, M., & Mulangsari, D. A. K. (2018). Standarisasi Parameter Non Spesifik Ekstrak Etanol Daun Pegagan (Centella asiatica L.) Di Dua Tempat Tumbuh. *Jurnal Inovasi Teknik Kimia*, 3(1). <https://doi.org/10.31942/inteka.v3i1.2128>
- Zulham, Z. (2019). Formulasi Dan Uji Efektifitas Sediaan Mounthwash Ekstrak Etanol Daun Kersen (Muntingia calabura L.) Terhadap Bakteri Streptococcus mutans. *Jurnal Ilmiah Pharmacy*, 6(2), 580–590. <https://doi.org/10.52161/jiphar.v6i2.31>