

Uji Ekstrak Daun Maja (*Aegle marmelos* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Deny Romadhon Badaring¹, Sari Puspitha Mulya Sari², Satrina Nurhabiba³, Wirda Wulan⁴, Sintiya Anugrah Rante Lembang⁵

Jurusan Biologi
Universitas Negeri Makassar

Email: deny181299@gmail.com

Abstract. *Aegle marmelos* L. is one of the tropical plants that has many benefits and also has the potential to be used as herbal medicines. It caused in some areas in Indonesia, *A. marmelos* have been widely used in traditional medicine. This research was a qualitatively descriptive study to see the effectiveness of *A. marmelos* leaf extract in inhibiting the growth of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* bacteria. Stages of *A. marmelos* leaf extract inhibition test on bacterial growth included the stages: extraction by maceration method, phytochemical test, chromatography test, anti-microbial test. Data were analyzed qualitatively. The results showed that *A. marmelos* leaf extract was more effective in inhibiting the growth of *E. coli* bacteria than in *S. Aureus* bacteria. This can be information that Maja leaf extract can be used as a phytopharmaca material for diseases caused by *E.coli*.

Keywords: *A. marmelos* leaf extract, maceration method, phytochemical test, chromatography test, anti-microbial test

INDONESIAN
JOURNAL OF
FUNDAMENTAL
SCIENCES
(IJFS)

E-ISSN: 2621-6728

P-ISSN: 2621-671X

Submitted: January, 8th 2020

Accepted: March, 14th 2020



This work is licensed under a [Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)

PENDAHULUAN

Keanekaragaman flora yang ada di Indonesia sudah tidak diragukan lagi di dunia. Indonesia memiliki iklim tropis yang membuat beberapa tumbuhan-tumbuhan dan tanaman dapat tumbuh dengan subur. Kondisi dari lingkungan ini yang membuat para peneliti untuk melakukan penelitian dan mengambil sampel berupa tumbuhan yang ada di Indonesia. Tumbuhan endemik yang ada di berbagai macam daerah yang ada di Indonesia dimanfaatkan dalam bidang pengobatan. Kebiasaan orang Indonesia menggunakan tumbuhan sebagai pengobatan tentunya bukanlah hal yang baru, berbagai jenis penyakit yang diobati menggunakan tumbuhan tertentu sudah sejak dahulu dilakukan. Pemanfaatan tumbuhan-tumbuhan inilah yang membuat para peneliti untuk mencari senyawa-senyawa aktif yang terdapat pada tumbuhan tersebut.

Tanaman herbal merupakan tanaman yang diketahui banyak mengandung senyawa-senyawa metabolit sekunder dan juga berupa minyak esensial yang kemudian dapat dijadikan sebagai obat herbal ataupun suatu produk yang berfungsi sebagai larvasida alami. Salah satu contoh tanaman herbal tersebut adalah daun maja (*Aegle marmelos L.*) Tanaman maja merupakan salah satu tanaman obat yang termasuk dalam famili Rutaceae yang dapat ditemukan tumbuh liar di hutan kering dan dapat ditemukan di seluruh hutan Himalaya. Sebagai tanaman perdu, kulitnya berwarna hijau dan keras, sedangkan dagingnya berwarna putih, berbau harum dan rasanya juga manis. Di Indonesia, buah maja tersebut dapat dijumpai terutama di dataran rendah seperti rawa-rawa maupun dapat juga dijumpai di lahan kering (Sari dan Susilowati, 2019). Orang-orang kerap menggunakan daun maja sebagai pengobatan tradisional. Ekstrak basah dari daun maja tersebut juga memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* (Nurhasanah dkk., 2014). Di dalam daun maja diyakini terdapat senyawa-senyawa aktif seperti alkaloid, tannin, dan fenol. Senyawa-senyawa aktif tersebut dapat diekstrak melalui metode ekstraksi.

Ekstraksi merupakan suatu metode pemisahan suatu zat yang didasarkan pada perbedaan kelarutan terhadap dua cairan tidak saling larut yang berbeda, biasanya yaitu air dan yang lainnya berupa pelarut organik. Ada beberapa metode yang dapat dilakukan dalam ekstraksi, salah satu yang paling umum dilakukan adalah metode maserasi. Maserasi merupakan salah satu metode ekstraksi yang paling umum dilakukan dengan cara memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam suatu wadah inert yang ditutup rapat pada suhu kamar. Akan tetapi, ada pula kerugian utama dari metode maserasi ini, yaitu dapat memakan banyak waktu, pelarut yang digunakan cukup banyak, dan besar kemungkinan beberapa senyawa dapat hilang. Selain itu, beberapa senyawa mungkin saja akan sulit diekstraksi pada suhu kamar. Namun di sisi lain, metode maserasi dapat juga menghindari resiko rusaknya senyawa-senyawa dalam tanaman yang bersifat termolabil (Tetti, 2014).

Setelah melalui proses maserasi, selanjutnya dilakukan screening fitokimia. Uji ini biasanya dilakukan dengan tujuan yang lebih diarahkan untuk mengetahui zat kimia metabolit sekunder yang terkandung dari setiap tanaman. Proses kimia jenis lain tersebut terjadi hanya pada spesiesnya yang tertentu sehingga memberikan produk yang berlainan sesuai dengan spesiesnya (Endarini, 2016). Skrining fitokimia atau yang biasa pula disebut dengan penapisan fitokimia merupakan suatu uji pendahuluan yang digunakan dalam menentukan golongan senyawa metabolit sekunder yang mempunyai aktivitas biologi dari suatu tumbuhan. Skrining fitokimia pada tumbuhan ini dapat dijadikan sebagai informasi awal dalam mengetahui golongan senyawa kimia yang

terdapat didalam suatu tumbuhan. Dalam percobaan, skrining fitokimia ini dapat dilakukan dengan menggunakan pereaksi-pereaksi tertentu sehingga dapat diketahui golongan senyawa kimia yang terdapat pada tumbuhan tersebut (Nainggolan dkk., 2019; Roghini dan Vijayalakshmi, 2017).

Senyawa fitokimia seperti steroid, flavonoid, dan tanin, triterpenoid dari ekstrak daun maja diketahui memiliki aktivitas sebagai antioksidan. tersebut mampu meningkatkan glutathione peroksidase, glutathione reduktase, dan superoksida dismutase (SOD) dan menurunkan lipid peroksidase. Flavonoid mampu memperbaiki fungsi endotel pembuluh darah, dan dapat mengurangi kepekaan LDL terhadap pengaruh radikal bebas. Fungsi flavonoid sebagai antioksidan secara langsung adalah dengan mendonorkan ion hydrogen sehingga dapat menetralsir efek toksik dari radikal bebas. Fungsi flavonoid sebagai antioksidan secara tidak langsung yaitu dengan meningkatkan ekspresi gen antioksidan endogen melalui beberapa mekanisme. (Pangestuti, dkk, 2015).

Kelompok senyawa memiliki macam-macam fungsi. Misalnya pada senyawa alkaloid mengandung senyawa antimalaria, antioksidan, antihiperlipidemia dan dapat pula digunakan sebagai obat asma. Flavonoid memiliki zat yang mampu meregenerasi sel beta pancreas dan membantu merangsang sekresi insulin. Saponin merupakan senyawa antioksidan dan antikardiogenik. Steroid memiliki komponen aktif yang berupa antibakteri dan antivirus serta biasanya digunakan sebagai obat diabetes, dan gangguan menstruasi (Erviani dan Arif, 2017).

Selanjutnya pemisahan campuran didasarkan atas perbedaan distribusi dari komponen-komponen campuran tersebut diantara dua fase, yaitu fase diam (padat atau cair) dan fase gerak (cair atau gas) yang menyebabkan terjadinya perbedaan migrasi dari masing-masing komponen. Perbedaan migrasi merupakan hasil dari perbedaan tingkat afinitas masing-masing komponen dalam fase diam dan fase gerak. Campuran itu dilarutkan dalam sebuah cairan yang disebut fase gerak. Cairan inilah yang kemudian akan membuatnya mampu membawa senyawa yang terkandung dalam suatu bahan atau ekstrak yang dinamakan dengan tahap stasioner (Kumar dkk., 2013; Wulandari, 2011). Metode pemisahan tersebut merupakan suatu aspek yang penting dalam bidang analisis. Hal ini disebabkan karena kebanyakan sampel yang akan dianalisis tersebut masih berupa campuran. Maka dari itu, untuk memperoleh suatu senyawa murni yang berasal dari suatu campuran, harus dilakukan proses pemisahan terlebih dahulu. Berbagai teknik pemisahan dapat diterapkan untuk memisahkan campuran diantaranya adalah dengan menggunakan teknik kromatografi. Teknik kromatografi yang umum digunakan adalah kromatografi lapis tipis (KLT) (Wulandari, 2011). Alen dkk., (2017) menyebutkan bahwa pemisahan dengan menggunakan teknik KLT dapat dilakukan beberapa kali dengan menggunakan beberapa eluen yang memiliki tingkat kepolaran yang berbeda untuk mendapatkan pelarut yang mampu memberikan pemisahan yang baik serta noda zat warna yang bagus.

Tahapan terakhir adalah uji kemampuan antimikrobia dengan melihat zona hambat pertumbuhan bakteri tertentu. Zona hambat bakteri gram positif lebih besar bila dibandingkan dengan bakteri gram negatif. Adanya perbedaan aktivitas ini disebabkan karena perbedaan struktur dan komponen penyusun dinding sel bakteri. Lapisan peptidoglikan pada dinding sel bakteri gram negatif lebih tipis, sedangkan pada bakteri gram positif lapisan peptidoglikannya lebih tebal. Komponen penyusun dinding sel bakteri gram negatif lebih kompleks karena memiliki lapisan membran luar tambahan,

sehingga akan lebih mudah menembus dinding sel gram positif dibanding gram negatif (Oktaviani dkk., 2019).

Aktivitas antimikroba yang ditimbulkan oleh ekstrak karena kandungan metabolit sekunder seperti flavonoid, fenolik dan terpenoid. Flavonoid dapat menghambat pertumbuhan bakteri melalui penghambatan DNA *gyrase*, sehingga menghambat fungsi membran sitoplasma. Senyawa fenolik juga berpotensi sebagai antibakteri yang menyebabkan lisis komponen seluler serta merusak mekanisme enzimatik sel bakteri. Selain itu, terpenoid juga diketahui berperan sebagai antibakteri dengan melibatkan pemecahan membran oleh komponen-komponen lipofilik (Oktaviani dkk., 2019)

Dalam penelitian ini, digunakan bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. *E. coli* merupakan kromatografi, dan uji antimikroba. kan salah satu jenis spesies bakteri gram negatif (Kabiru dkk., 2015). Bakteri *E. coli* memiliki manfaat di dalam tubuh tetapi juga merupakan sumber penyakit seperti diare. *S. aureus* merupakan bakteri gram positif, bakteri ini menyebabkan infeksi pada kulit yang terluka (Haris dkk., 2002). Sampel ekstrak daun maja akan diuji pada bakteri tersebut. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan penentuan kadar hambat minimal daun ekstrak maja terhadap *S. aureus* dan *E. coli*.

Berdasarkan penjelasan tersebut maka dilakukan percobaan mengenai pengaruh dari ekstrak daun maja terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Dalam percobaan ini kami menggunakan ekstrak sampel daun maja, obat antibiotic, dan aquades sebagai kontrol. Dengan dilakukannya uji antimikroba ini, yang kemudian kami ketahui apakah ekstrak dari daun maja bersifat memberi pengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus*.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif untuk melihat efektivitas Ekstrak Daun Maja (*Aegle marmelos L.*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi FMIPA Universitas Negeri Makassar pada bulan Oktober 2019. Tahapan penelitian meliputi tahapan ekstraksi dengan metode maserasi, uji fitokimia,

a. Maserasi

Penelitian ini menggunakan teknik ekstraksi maserasi dari daun maja. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain : daun maja, aquades, alkohol, dan etil. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan etil. Sebanyak 183 g simplia dari daun maja dimasukkan kedalam toples kemudian direndam dengan etil. Larutan diaduk selama 30 menit kemudian toples ditutup dengan aluminium foil dan didiamkan selama sehari. Selanjutnya, hasil ekstrak disaring untuk memperoleh filtrat I dan simplisia yang telah diekstrak. Simplisia yang sudah diekstrak kemudian diekstrak kembali dengan etil, diaduk sekitar 30 menit dan didiamkan selama sehari. Hasil ekstrak (filtrate II) dicampurkan dengan filtrate I, sehingga diperoleh ekstrak cair. Ekstrak cair daun maja kemudian dikering anginkan selama beberapa jam. Sampel daun maja yang telah kering dimasukkan kedalam botol (Salempa, 2014).

b. Uji Fitokimia

Bahan penelitian adalah daun maja, kemudian dibersihkan dengan air mengalir hingga bersih, lalu dikeringkan pada tempat yang tidak terkena sinar matahari langsung kemudian di lakukan penguapan sehingga didapatkan ekstrak dari daun maja dan dimasukkan ke dalam botol.

1. Uji Alkaloid

Ditimbang 500 mg serbuk simplisia, Jika terdapat endapan berwarna coklat sampai hitam, maka serbuk mengandung alkaloid, tambahkan 2 tetes larutan Mayer jika terbentuk endapan menggumpal berwarna putih atau kuning yang larut dalam metanol maka serbuk mengandung alkaloid. Uji Alkaloid dilakukan dengan metode Mayer dan Wagner. Berdasarkan data hasil percobaan tumbuhan positif mengandung alkaloid wagner.

2. Uji Flavonoid

Untuk menguji adanya flavonoid, sampel tumbuhan yang akan dianalisa di tambahkan dengan et. Diambil asetat. jika ekstrak tumbuhan menghasilkan warna merah ataupun kuning setelah di tambahkan asam klorida dan magnesium atau natrium hidroksida maka dapat dipastikan bahwa tumbuhan tersebut mengandung flavonoid.

3. Uji Saponin

Untuk uji kandungan saponin pada tanaman dapat dilakukan dengan mendidihkan sampel dengan aquades kemudian diangkat dan di kocok , di amati jika dihasilkan busa selama 15 menit pada sampel maka tanaman tersebut mengandung saponin, jika tidak berbusa maka senyawa tersebut tidak mengandung saponin.

4. Uji Tanin

Uji tannin dilakukan dengan cara 0,5 gr sampel ditambahkan 2 mL etanol. Ditambahkan 3 tetes $FeCl_3$ menggunakan pipet tetes pada tabung reaksi. Hasil yang diperoleh adalah terbentuknya warna hijau kehitaman yang menandakan bahwa sampel mengandung senyawa tanin.

5. Uji Fenol

Uji fenol dilakukan dengan menggunakan 0,5 gr sampel yang ditambahkan 2 mL etanol 70% atau $FeCl_3$ 5% dan diamati perubahan warna. Hasil yang diperoleh adalah terjadinya perubahan warna menjadi hijau yang menandakan bahwa sampel mengandung senyawa fenol.

c. Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Pada uji KLT dilakukan dengan melarutkan sampel menggunakan pelarut etil asetat dan metanol kemudian totolkan lempeng KLT dengan menggunakan sampel yang telah di larutkan kemudian masukan kedalam chamber yang telah berisi eluen, dan setelah itu dilakukan pengamatan terhadap noda pada lempeng KLT. Pemisahan dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dilakukan beberapa kali menggunakan beberapa eluen dengan tingkat kepolaran yang berbeda untuk mendapatkan pelarut yang mampu memberikan pemisahan yang baik serta noda zat warna yang bagus. Penentuan golongan senyawa pada uji KLT dilakukan dengan plat KLT dengan beberapa pereaksi dan perbandingan yang berbeda. Komponen kimia yang dievaluasi dari ekstrak meliputi uji alkaloid, fenol, terpenoid, dan flavonoid.

d. Uji Anti-Mikroba

Bahan yang digunakan adalah daun maja, aquades, alkohol 70%, Nutrien Agar (NA), *Staphylococcus aureus*, dan *Escherichia coli*. Alat-alat yang digunakan adalah cawan petri, autoclave, kapas, lidi, jarum ose, pinset, pelobang kertas, kertas label, incubator, vortex, botol film, tissue, pipet tetes, batang pengaduk , lampu spritus, karet, timbangan, aluminium foil, pipet mikro 10 ml, jangka sorong , penggaris dan alat tulis.

Medium yang digunakan adalah Medium NA (Nutrien Agar) dibuat sesuai komposisi yang ditetapkan. Biakan murni *S. aureus*, *E. coli*, yang telah diperbaharui selama dalam waktu 24 jam, diambil masing- masing 1 ose dan diinokulasi pada aquadest steril sampai didapatkan kekeruhan yang setara. Pengamatan dan pengukuran diameter zona bening

yang terbentuk disekitar cakram dilakukan setelah 18-24 jam menggunakan jangka sorong.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Proses maserasi merupakan proses atau metode ekstraksi yang cukup sederhana tanpa sistem pemanasan atau dikenal dengan ekstraksi dingin. Jadi pada proses ini sampel dan pelarut tidak mengalami proses pemanasan sehingga adapat digunakan pada senyawa yang tidak tahan panas. Kekurangan dalam metode ini adalah waktu yang dibutuhkan cukup lama. Proses maserasi pada daun maja dilakukan dengan cara merendam kurang lebih 1 kg sampel berbentuk serbuk dalam pelarut etil selama 3 hari pada suhu kamar. Sebelumnya daun yang kering dan sudah dipotong akan dioven selama 3 hari agar memudahkan saat proses blender untuk menghasilkan serbuk. Pada proses perendaman, sampel tumbuhan akan mengalami pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel, sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik. (Lenny, 2006). Pada proses maserasi ini, etil akan masuk ke dalam sel melewati dinding sel dan akan melarutkan senyawa metabolit sekunder yang terdapat di dalam sel. Selanjutnya, dilakukan evaporasi terhadap larutan dari hasil maserasi dengan menggunakan rotary evaporator sehingga diperoleh ekstrak kental. Pemanasan pada saat evaporasi dilakukan pada suhu $40\pm 5^{\circ}\text{C}$ karena pada pemanasan yang terlalu tinggi dikhawatirkan dapat merusak senyawa kimia yang terdapat didalamnya.

Proses penyaringan dilakukan dengan menggunakan kain tipis untuk memisahkan ekstrak dengan ampas daun maja yang tersisa. Ekstrak etil kental yang diperoleh kemudian dipartisi dengan tujuan untuk memisahkan senyawa berdasarkan kelarutannya dalam pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda. Maserasi merupakan proses perendaman sampel menggunakan pelarut organik pada temperatur ruangan. Ekstraksi daun maja dilakukan dengan metode maserasi yaitu potongan daun maja yang sudah dikeringkan dan dihaluskan direndam dalam pelarut etil. Sebanyak 183 gram sampel hasil penimbangan diekstraksi dengan pelarut etil dengan perbandingan 1: 7 (etil) sampai sampel terendam dan sampel tersebut direndam selama 3×24 jam. Hasil maserasi disaring menggunakan kain halus yang tipis untuk memisahkan antara filtrat dan residu. Filtrat yang dihasilkan sebanyak 100 ml dan berwarna hijau pekat. Warna hijau pekat yang dihasilkan disebabkan oleh pelarut etil yang dapat melarutkan pigmen berupa warna hijau (klorofil) dari daun maja. Nantinya saat proses penyaringan selesai maka filtrate di padatkan pada ruangan tertentu selama 1×24 jam setelah itu dikerok dan disimpan pada botol kultur.

Filtrat bertambah karena ekstrak yang tadinya sedikit menjadi banyak setelah dilarutkan dengan etil sesuai dengan perbandingan yang ada. Ekstrak daun Maja yang diperoleh berupa ekstrak kental dengan warna hijau pekat. Jumlah ekstrak daun maja yang dihasilkan dari metode maserasi 1,0575 gram dan berwarna hijau. Rendemen minyak atsiri yang dihasilkan dengan proses maserasi sebesar 1,96 % (m/m).

Tabel 1. Hasil Pengamatan Uji Fitokimia

| Gambar | Keterangan |
|---|--|
|  | <ol style="list-style-type: none"> 1. Uji alkaloid <ul style="list-style-type: none"> • Wagner (+) • Mayer (-) 2. Saponin (-) 3. Flavonoid (-) 4. Tanin (+) 5. Fenol (+) |

Sumber : Data Primer, 2019

Daun maja diekstrak dengan larutan etil asetat lalu dilakukan uji fitokimia untuk melihat kandungan senyawa yang terkandung didalamnya. Secara keseluruhan ada sekitar enam uji yang dilakukan Uji alkaloid (wagner) menghasilkan endapan warna cokelat yang menandakan hasil positif alias ekstrak mengandung senyawa alkaloid wagner. Menurut Marlina, *et al.* (2005) dalam Asmara (2017) menyatakan bahwa Uji alkaloid dengan pereaksi Dragendorff yang positif ditunjukkan oleh adanya endapan coklat. Pereaksi Wagner terdiri dari kalium iodida (KI) dan iodin (I₂) dimana keduanya dapat bereaksi dan menghasilkan I₃⁻ yang berwarna coklat. Endapan tersebut merupakan senyawa kompleks kalium-alkaloid yang merupakan hasil dari ion K⁺ akan yang berikatan kovalen koordinat dengan nitrogen pada alkaloid. Pada uji alkaloid (mayer) hasilnya negatif atau dapat dikatakan bahwa ekstrak tidak mengandung senyawa alkaloid (mayer) karena tidak ada endapan putih yang terbentuk pada dasar tabung. Pada tabung tidak terjadi perubahan, alias warna ekstrak tetap hijau pucat setelah ditambahkan larutan dan endapan juga tidak ada yang terbentuk. Pereaksi mayer mengandung merkuri klorida dan kalium iodida yang akan bereaksi dengan alkaloid dan akan membentuk endapan. senyawa alkaloid dapat menyebabkan kematian sel bakteri dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh.

Uji flavonoid pada ekstrak daun maja didapatkan hasil negatif, padahal seharusnya ekstrak daun maja mengandung flavonoid. Namun karena terjadi beberapa kesalahan maka hasilnya negatif. Flavonoid adalah senyawa yang mempunyai inti α -benzopyron. Oksigen pada gugus karbonilnya akan terprotonisasi ketika direaksikan dengan HCl. Hasil reaksinya adalah garam flavilium yang berwarna merah tua (Marlinda, 2010). Hasil uji ekstrak ini seharusnya menunjukkan warna merah ungu yang berarti terbentuknya garam flavinium. Pada uji Tanin simplisia terbukti mengandung senyawa tanin karena terjadi perubahan warna pada ekstrak menjadi hijau kehitaman.

Uji saponin menunjukkan hasil negatif karena tidak terbentuk busa pada tabung. Menurut Sastrawan, *dkk.* (2013) menyatakan bahwa pada uji tannin setelah sampel dimasukkan, dididihkan selama 2-3 menit, dan selanjutnya didinginkan, kemudian dikocok kuat-kuat. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuk buih putih seperti busa yang stabil. Saponin dapat membunuh sel bakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks dengan sterol yang terdapat pada membran sel bakteri sehingga menyebabkan

kerusakan membrane, sedangkan pada uji fenol hasilnya adalah positif yang menandakan bahwa sampel mengandung senyawa fenol. Warna hijau gelap hampir mirip biru yang terbentuk menunjukkan adanya kompleks fosfotungstat-fosfomolibdat hasil reaksi antara gugus fenolik-hidroksil dengan pereaksi Folin-Ciocalteu tersebut. Senyawa fenol biasanya digunakan sebagai anti mikroba. Munculnya kesalahan dalam praktikum ini dikarenakan adanya alat dan bahan yang tidak steril, jumlah pelarut ada yang lebih dan kurang sehingga menimbulkan hasil yang terkadang berbeda dengan teori yang ada. Sejatinya pada uji fitokimia masih banyak uji yang bisa dilakukan misalnya uji kuinon, steroid, terpenoid, serta polifenol. Namun karena keterbatasan alat serta waktu yang tidak memungkinkan maka yang dilaksanakan hanyalah sebagian besar. Dalam praktikum hendaknya praktikan sudah menguasai prosedur kerja agar proses praktikum dapat berjalan dengan lancar.

Tabel 2 .Hasil Uji KLT

| Gambar | Keterangan |
|--|--|
|  | <p>Perbandingan antara methanol dengan etil 9:1, 8: 2, 7:3, 6:4, 5:5, 4: 6, 3: 7, 2: 8, dan 1:9.</p> |

Sumber : Data Primer, 2019

Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) menggunakan ekstrak daun maja atau daun bila. Penentuan golongan senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak dilakukan dengan pereaksi warna. Ada 9 perlakuan yang digunakan pada praktikum ini yang tentunya memiliki proses penarikan noda sampel yang berbeda-beda dengan waktu penaikan noda yang berbeda pula. Kromatografi lapis tipis merupakan suatu teknik memisahkan komponen sampel dengan sampel yang diinginkan berdasarkan perbedaan kepolaran. Prinsip kerjanya adalah bergerak naik keatas dan mengisi ruang penyerapan yang terpartisi. Keuntungan menggunakan prinsip KLT yaitu pemisahan dapat dilakukan dengan cepat dan zat yang digunakan bisa asam dan basa. Menurut Harmita (2015) dalam Ridwan dkk (2018) menyatakan bahwa KLT sangat bermanfaat untuk analisis obat dan bahan lain dalam laboratorium karena hanya memerlukan peralatan sederhana, waktu cukup singkat (15-60 menit), dan jumlah zat yang di periksa cukup kecil (kira-kira 0,01 g senyawa murni atau 0,1 g simplisia) selain itu, KLT tidak memerlukan ruang yang besar dan teknik pengerjaannya juga sederhana (Harmita, 2015).

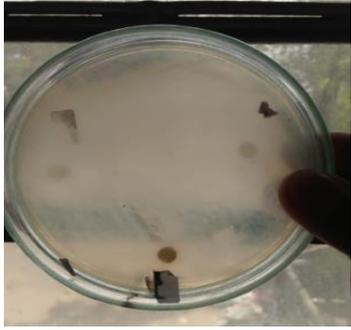
Proses kromatografi lapis tipis yang dilakukan pada ekstrak melibatkan etil dan methanol dengan rasio perbandingan 9:1 sampai 1:9. Perbandingan kombinasi yang digunakan bertujuan untuk mengetahui kepolaran yang yang tepat untuk pemisahan senyawa fitokimia yang diinginkan. Salah satu faktor yang harus diperhatikan adalah hanya pelarut yang mempunyai kepolaran yang sama yang dapat menyebabkan

terjadinya fase gerak. Penarikan noda yang terjadi memiliki kecepatan yang berbeda-beda hal ini mungkin dikarenakan jumlah perbandingan antara metil dan etanol yang digunakan berbeda-beda. Kecepatan suatu noda bergerak naik juga membutuhkan waktu yang agak berbeda, ada yang dalam waktu 5 menit sudah dapat mencapai garis batas yang telah dibuat pada plat namun ada pula yang melewati batas waktu maksimal dalam proses penarikan dan penyebaran noda pada plat. Methanol dan etil adalah senyawa yang bersifat polar yang menandakan bahwa kecepatan terpartisi saat terjadi pemisahan akan cukup cepat dan mengalami pergerakan naik yang cukup cepat karena senyawa polar akan cenderung terikat untuk itu digunakan perbandingan dengan konsentrasi yang berbeda untuk menurunkan nodanya. Seharusnya dalam praktikum ini di hitung nilai R_f nya untuk melihat parameter karakteristik kromatografi, dimana R_f dapat dijadikan acuan kecepatan migrasi suatu senyawa pada kromatogram. Namun dalam praktikum ini kegiatan hanya dilakukan hingga pengamatan noda yang tertarik keatas karena proses fase diam dan fase gerak. Fase diam akan menyebabkan noda naik sedangkan fase gerak akan menyebabkan noda tersebar dan terbentuk kromatogram

Pada hasil pengamatan dapat dilihat bahwa setiap perbandingan pelarut yang digunakan memiliki warna yang cukup terang dan ada juga yang gelap serta dengan kecepatan waktu yang berbeda-beda saat proses penarikan noda. Ada pula noda yang menyentuh garis batas yang telah ditentukan namun ada juga yang tidak menyentuh garis batas hingga batas waktu maksimal yang ditentukan yaitu sekitar 10 menit. Namun ada beberapa kesalahan yang mungkin saja terjadi dalam praktikum ini misalnya posisi lempeng KLT saat dimasukkan tidak pada posisi.

Uji bakteri dilakukan dengan menggunakan bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Hasil yang diperoleh dalam uji aktivitas antibakteri dilakukan pengamatan selama 1x24 jam masa inkubasi dengan dilakukannya 4x pengulangan terhadap bakteri *S. aureus* dan 4x pengulangan untuk bakteri *E. coli*. Dignakan tiga bentuk perlakuan yaitu khusus sampel, control positif dan control negatif. Pada proses perhitungan dengan jangka sorong. Hasil ekstrak daun maja dari bakteri uji *S. aureus* terlihat yang memberikan daya hambat yang paling besar terdapat pada ekstrak daun maja kerana jumlah zona bening pada sampel dan uji positif lebih luas yaitu sekitar 0,50 cm dan 0,54 cm dengan jumlah rata-rata dengan kategori sedang. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun maja memiliki daya hambat yang lebih peka pada *S. aureus*. Aktivitas yang terbentuk terlihat dengan adanya zona hambat (zona bening) disekitaran pada papper disk, membuktikan bahwa ekstrak daun maja yang diuji menunjukkan kepekaan terhadap salah satu bakteri yaitu *S. aureus* dan antibiotik yang digunakan sebagai kontrol positif. Sedangkan pada bakteri *E. coli* perluasa zona beningnya tidak terlalu lebar yaitu sekitar 0,49 pada sampel dan 0,425 pada kontrol positif, ini menandakan bahwa kekuatan aktivitas antibakteri pada *E. Coli* tidak terlalu kuat atau bisa dikatakan cukup lemah.

Tabel 3. Hasil Uji Anti Mikroba

| No. | Gambar | Sampel | Positif | Negatif |
|-----|--|---------|----------|---------|
| 1. |  | 0,49 cm | 0,425 cm | 0 cm |
| | <i>Escherichia coli</i> | | | |
| 2. |  | 0,50 cm | 0,54 cm | 0 cm |
| | <i>Staphylococcus aureus</i> | | | |

Sumber: Data Primer, 2019

Diameter zona hambat terhadap bakteri *S. aureus* lebih besar dibandingkan bakteri *E. coli*. Hasil yang berbeda ini dikarenakan adanya perbedaan struktur dinding sel kedua bakteri, dimana bakteri Gram negatif lebih kompleks dibandingkan dengan bakteri gram positif. Bakteri Gram negatif memiliki dinding sel yang terdiri dari 3 lapisan yaitu, lapisan luar, lapisan tengah dan lapisan dalam. Uji aktivitas penghambatan antibakteri terhadap bakteri Gram positif *S. aureus* lebih kuat dibandingkan bakteri Gram negatif *E. coli*. Hal ini sesuai dengan sifat dinding sel yang dimiliki bakteri tersebut. Gram positif hanya mempunyai lapisan tunggal pada dinding selnya. Menurut Ariyani (2018) dalam Falugah dkk (2018) bahwa struktur dinding sel bakteri Gram negatif yang relatif kompleks akan menyebabkan senyawa antibakteri lebih sukar masuk ke dalam sel dan menemukan sasaran untuk bekerja. Pada zona bening yang terbentuk adalah noda cincin yang nantinya akan menghambat pertumbuhan ataupun aktivitas bakteri sehingga senyawa yang mengandung uji antibakteri akan membentuk cincin yang nantinya menghambat aktivitas bakteri tersebut hingga terjadilah zona bening yang menunjukkan bahwa tidak terjadi aktivitas antibakteri pada zona tersebut. Untuk kontrol negative pada percobaan ini tidak terdapat zona bening yang menandakan bahwa aktivitas bakteri tetap berlangsung pada zona tersebut.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun maja memiliki daya hambat pertumbuhan bakteri (bakterisida). Aktivitas yang menghambat terbentuk terlihat dengan adanya zona hambat (zona bening) disekitaran

pada papper disk. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun maja lebih efektif menghambat pertumbuhan *E. coli* dibandingkan bakteri *S. aureus* sebab adanya perbedaan struktur dinding sel dari kedua bakteri. Hal ini dapat menjadi informasi bahwa ekstrak daun maja dapat digunakan sebagai bahan fitofarmaka untuk penyakit yang disebabkan oleh *E.coli*.

DAFTAR PUSTAKA

- Alen, Y., Agresa, F.L., & Yuliandra, Y. (2017). Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Aktivitas Antihiperurisemia Ekstrak Rebung (*Schizostachyum brachycladum* Kurz (Kurz) pada Mencit Putih Jantan. *Jurnal Sains Farmasi dan Klinis*. 3(2): 146-152. doi: 10.29208/jsfk.2017.3.2.141.
- Endarini, L.H. (2016). *Farmakognisi dan Fitokimia*. Jakarta : Pusdik SDM Kesehatan.
- Erviani, A.E., & Arif, A.R. (2017). Rendemen Analysis and Phytochemical Screening of *Perinereis aibuhitensis* Extracts. *International Journal of Current Research and Academic Review*, 5(11): 25-29.
- Harris, L.G., Foster, S.J., & Richard, R.G. (2002). An Introduction to *Staphylococcus aureus*, and Techniques For Identifying and Quantifying *S. Aureus* Adhesins in Relation to Adhesion to Biomaterials: Review. *Euophian Cells and Material*, 4(1): 39-60.
- Kumar, S., Jyotirmayee, K., Sarangi, M. (2013). Thin Layer Chromatography: A Tool of Biotechnology for Isolation of Bioactive Compounds from Medicinal Plants. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 18(1): 126-132.
- Kabiru, L.M., Bello, M., Kabir, J., Grande, L., & Morabito, S. (2015). Detection of Pathogenic *Escherichia Coli* in Samples Collected at an Abattoir in Zaria, Nigeria and at Different Points in The Surrounding Environment. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 12(1): 679-691. doi: 10.3390/ijerph120100679.
- Nainggolan, Ma., Ahmad, S., Pertiwi, D., & Nugraha, S. E. (2019). *Penuntun dan Laporan Praktikum Fitokimia*. Medan : Universitas Sumatra Utara.
- Nurhasanah., Harlia., & Adhityawarman. (2014). Uji Bioaktivitas Daun Maja (*Crescentia cujete*) Sebagai Anti Rayap. *Jurnal Kimia*. 3(3): 43-45.
- Oktaviani, M., Fadhli, H., & Yuneistya, E. (2019). Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol dari Kulit Bawang Merah (*Allium cepa* L.) dengan Metode Difusi Cakram. *Jurnal Pharmaceutical Sciences dan Research*. 6(1): 65-67.
- Roghini, R., & Vijayalakshmi, K. (2017). Phytochemical Screening, Quantitative Analysis of Flavonoids and Minerals in Ethanolic Extract of *Citrus paradise*. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 9(11): 4859-4864.
- Sari, M.P., & Susilowati, R.P. (2019). Efektivitas Ekstrak Daun Maja (*Aegle marmelos* (L) Corr) sebagai Larvasida *Aedes aegypti*. *Jurnal Kedokteran Yarsi*. 27 (1): 1-9.
- Solikhah., Kusuma, Samuel Budi Wardana., Wijayati, Nanik. (2016). Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol Batang dan Daun Kemangi (*Ocimum Basilicum* L.). *Jurnal Kimia Sains Indonesia*. 5(2): 104-106.
- Tetti, M. (2014). Ekstraksi, Pemisahan Senyawa , dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*, 7 (2): 361-367.
- Wulandary, Lesty. (2011). Kromatografi Lapis Tipis. Jember : PT. Taman Kampus Presindo.