



Aktivitas Antibakteri Gram Positif Serta Penetapan Kadar Flavonoid dan Fenolik Total Dari Ekstrak Dan Fraksi Daun Jati (*Tectona grandis* Linn.F.)

Irvan Anwar^{*1,2}, Nuralifah², Parawansah^{2,3}, Nita Trinovitasari², Nurull Hikmah², Rachma Malina²

¹Program Studi Bioteknologi, Fakultas Matematika dan Ilmu pengetahuan Alam, Universitas Halu Oleo, Kampus Hijau Bumi Tridharma Anduonohu, Jl. H.E.A. Mokodompit, Kendari, 93232, Hp: 085333378236, email. irvananwar@uho.ac.id

²Program Studi S1Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Halu Oleo, Kampus Hijau Bumi Tridharma Anduonohu, Jl. H.E.A. Mokodompit, Kendari, 93232

³Program Studi S1Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Halu Oleo, Kampus Hijau Bumi Tridharma Anduonohu, Jl. H.E.A. Mokodompit, Kendari, 93232

Diterima: November 2023

Disetujui: November 2023

Dipublikasi: November 2023

© 2023 Jurusan Biologi FMIPA Universitas Halu Oleo Kendari

Abstrak

Peningkatan resistensi bakteri terhadap beberapa antibiotik memberikan peluang besar dalam memanfaatkan potensi penggunaan antibiotik alami dari tanaman. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari ekstrak dan fraksi daun jati (*Tectona grandis* Linn.F.), serta penetapan kadar fenolik dan flavonoid. Sampel daun jati diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol. Ekstrak difraksinasi menggunakan pelarut n-heksan, kloroform dan etil asetat. Uji antibakteri dilakukan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ATCC 21332, dan *Streptococcus mutans* ATCC 25175 dengan metode *Broth microdilution* dengan mengukur nilai MIC dan MBC. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksi etil asetat, fraksi kloroform dan fraksi n-heksan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* dan *Streptococcus mutans* diperoleh nilai MIC yakni pada konsentrasi sampel 256 µg/mL. Nilai MBC sampel terhadap *Staphylococcus aureus* yakni pada konsentrasi 1024 µg/mL. Kadar total fenolik ekstrak dan fraksi daun Jati yaitu ekstrak etanol sebesar 108 mg/g sampel, fraksi n-heksan 183,556 mg/g sampel, fraksi kloroform 59,11 mg/g, dan fraksi etil asetat sebesar 364 mg/g sampel. Kadar total flavonoid ekstrak dan fraksi daun jati yaitu ekstrak etanol sebesar 263,53 mg/g sampel, fraksi n-heksan 522,353 mg/g sampel, fraksi kloroform 192,94 mg/g sampel, dan fraksi etil asetat sebesar 265,49 mg/g sampel.

Kata kunci: *Anti bakteri, Fenolik, Flavonoid, Tecnona grandis L.*

Abstract

The increasing resistance of bacteria to several antibiotics provides a great opportunity to exploit the potential of natural antibiotics from plants. This study aims to determine the antibacterial activity of extracts and fractions of teak leaves (*Tectona grandis* Linn.F.), as well as determining phenolic and flavonoid levels. Teak leaf samples were extracted using the maceration method with ethanol solvent. The extract was fractionated using n-hexane, chloroform and ethyl acetate solvents. Antibacterial tests were carried out on the bacteria *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ATCC 21332, and *Streptococcus mutans* ATCC 25175 using the *Broth microdilution* method by measuring the MIC and MBC values. The results of the antibacterial activity test of the ethanol extract, ethyl acetate fraction, chloroform fraction and n-hexane fraction against the bacteria *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* and *Streptococcus mutans* obtained an MIC value at a sample concentration of 256 µg/mL. The MBC value of the sample against

Staphylococcus aureus was at a concentration of 1024 µg/mL. The total phenolic content of teak leaf extracts and fractions, namely ethanol extract, was 108 mg/g sample, n-hexane fraction 183.556 mg/g sample, chloroform fraction 59.11 mg/g, and ethyl acetate fraction 364 mg/g sample. The total flavonoid content of teak leaf extracts and fractions, namely ethanol extract, was 263.53 mg/g sample, n-hexane fraction 522.353 mg/g sample, chloroform fraction 192.94 mg/g sample, and ethyl acetate fraction 265.49 mg/g sample.

Keywords: Anti-bacterial, Phenolic, Flavonoid, *Tectona grandis* L.

PENDAHULUAN

Infeksi merupakan salah satu masalah kesehatan masyarakat utama di Negara maju dan berkembang. Setiap tahun, infeksi menewaskan 3,5 juta orang (WHO, 2014). Penyakit infeksi ialah penyakit yang disebabkan berkembang biaknya mikroorganisme, seperti bakteri, fungi, parasit, dan virus di dalam tubuh (Novard et al., 2019). *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan jamur *Candida albicans* merupakan beberapa mikroorganisme flora normal penyebab penyakit infeksi (Musnina et al., 2019).

Antibiotik merupakan obat yang dapat diberikan untuk mengobati infeksi yang disebabkan oleh bakteri. Antibiotik dapat dibuat dari senyawa kimia yang dihasilkan oleh tanaman yang dapat bersifat bakterostatik dan bakteriosidal (Maida & Lestari, 2019; Suteja et al., 2016). Indonesia dengan keanekaragaman hayatinya, memiliki berbagai jenis tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri. Salah satunya yaitu tanaman jati (*Tectona grandis* Linn.F.). Berdasarkan beberapa penelitian aktivitas farmakologi terhadap jati, telah dilaporkan bahwa jati memiliki efek farmakologi sebagai antitukak, antianemia, anti bakteri, dan menyembuhkan luka (Chastelyna & Supartono, 2017).

Menurut Rizky & Sogandi (2018) ekstrak etanol daun Jati memiliki daya hambat tertinggi dalam menghambat

pertumbuhan bakteri gram positif dan bakteri gram negatif menggunakan metode difusi agar dengan pembanding Ampicillin. Ekstrak etanol daun jati lebih baik dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dibandingkan dengan *Staphylococcus aureus* (Rizky & Sogandi, 2018). Hal ini yang mendasari perlu dilakukannya penelitian lebih lanjut untuk mengetahui aktivitas antibakteri berdasarkan nilai MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) dan MBC (*Minimum Bacteriocidal Concentration*) dari ekstrak dan fraksi daun jati (*Tectona grandis* Linn.F.) terhadap kelompok bakteri gram positif menggunakan metode *broth microdilution* serta mengetahui kadar fenolik dan flavonoid dari ekstrak dan fraksi daun jati (*Tectona grandis* Linn.F.) yang berfungsi sebagai antibakteri.

METODE PENELITIAN

Waktu dan tempat

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Halu Oleo pada bulan Februari 2022. Tahapan penelitian meliputi preparasi sampel dan identifikasi metabolit sekunder tanaman *Tectona grandis* Linn. dilakukan di Laboratorium Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Halu Oleo. Penetapan kadar fenolik dan flavonoid serta pengujian aktivitas antibakteri dilakukan di Laboratorium Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Halu Oleo.

Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu:

Alat

Alat yang digunakan ini adalah batang pengaduk (Pyrex®), gelas kimia (Pyrex®), gelas ukur (Pyrex®), corong pisah (Pyrex®), pipet tetes, pipet ukur, cawan porselin, labu takar (Pyrex®), tabung reaksi (Pyrex®), dan spektrofotometri UV_Vis (Thermo®).

Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun jati (*Tectona grandis* Linn.F.), etanol (teknis), etanol pa, aquades, kloroform, etil asetat, *n*-heksana, kuarsetin, asam galat, aluminium klorida, kalium asetat, natrium bikarbonat, reagen Folin Ciocalteu, reagen Dragendorff, reagen Wagner, asam sulfat (H₂SO₄), barium Klorida, Bakteri uji bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, bakteri *Bacillus subtilis* ATCC 21332, bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Dimetil sulfoksida (DMSO), Mueller Hinton Broth (MHB), Mueller Hinton Agar (MHA) larutan fisiologis NaCl 0,9%, alkohol 70%, ciprofloxacin

Ekstraksi dan Fraksinasi

Sampel daun jati (*Tectona grandis* Linn F.) dicuci bersih dengan menggunakan air mengalir, ditiriskan, kemudian dirajang untuk memperkecil ukuran sampel. Selanjutnya dilakukan sampel dikeringkan dibawah sinar matahari dan ditutup dengan kain hitam. Sampel yang telah kering di haluskan dan sebanyak 400 gr sampel dimaserasi menggunakan etanol 96% dalam wadah tertutup selama 3x24 jam pada suhu kamar (Anwar et al., 2023).

Ekstrak daun jati difraksinasi dengan metode partisi menggunakan

pelarut *n*-heksana, kloroform dan etil asetat. Diambil 30 g ekstrak daun jati lalu diencerkan dengan aquadest sebanyak 1 L. Kemudian dimasukkan kedalam corong pisah, ditambahkan pelarut *n*-heksana dengan perbandingan 1:1 yaitu 100 mL sampel air yang dimasukkan terlebih dahulu dan kemudian dimasukkan 100 mL pelarut lalu digojok sampai terbentuk 2 lapisan (fraksi *n*-heksana berada pada lapisan atas dan sisa air berada dibawah) kemudian didiamkan selama 5-10 menit. Kemudian dilakukan fraksinasi ulang (*re-use*) dengan menggunakan perbandingan 1:2 (100 mL sisa air dan 200 mL pelarut *n*-heksana). Selanjutnya sisa air dipartisi dengan kloroform dengan perbandingan 1:1 yaitu 100 mL sampel air yang dimasukkan terlebih dahulu dan kemudian dimasukkan 100 mL pelarut lalu digojok kuat-kuat sampai terbentuk 2 lapisan (fraksi kloroform berada pada lapisan bawah dan sisa air berada diatas) kemudian didiamkan selama 5-10 menit (Nuralifah et al., 2023).

Skrining Fitokimia

Uji alkaloid

Ekstrak dan Fraksi dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 3 tetes reagen Dragendorff. Jika terbentuk Endapan jingga atau merah-kuning menunjukkan adanya alkaloid (Nuralifah et al., 2023; Suryawanshi & Umate, 2018).

Uji flavonoid

Ekstrak kental dimasukkan kedalam tabung reaksi lalu ditambah serbuk 5 mg, 1 mL HCl pekat dan 1 mL amilalkohol kemudian dikocok kuat, reaksi positif uji flavonoid jika terjadi perubahan warna jingga, merah atau kuning (Nuralifah et al., 2023; Harbone, 1996).

Uji tanin

Ekstrak kental dimasukkan ke dalam tabung reaksi ditambahkan beberapa tetes FeCl_3 1%, jika terbentuk endapan hijau kecoklatan, biru tua, biru kehitaman atau hitam kehijauan menunjukkan adanya tanin (Nuralifah *et al.*, 2023; Suryawanshi & Umate, 2018).

Uji saponin

Ekstrak kental dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan air lalu digojok selama 30 detik dan dibiarkan selama 10 menit. Setelah itu, ditambahkan 2 tetes HCl 1 N. Adanya saponin ditunjukkan dengan terbentuknya busa/buih yang tetap stabil (Nuralifah *et al.*, 2023; Harbone, 1996).

Uji terpenoid/steroid

Ekstrak kental dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan 1 mL asam asetat glasial dan ditambahkan 2-3 tetes H_2SO_4 pekat. Jika warna coklat kemerahan pada antarmuka mengkonfirmasi keberadaan terpenoid dalam ekstrak, sedangkan jika berwarna biru atau hijau maka menandakan adanya senyawa steroid (Nuralifah *et al.*, 2023; Suryawanshi & Umate, 2018).

Uji Aktivitas Antibakteri

Bakteri uji yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ATCC 21332, dan *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Uji minimum inhibition concentration (MIC)

Media 100 μL dimasukkan ke dalam sumur microplate 96-wells. Kolom pertama diisi dengan masing-masing fraksi daun jati sebanyak 100 μL dengan variasi konsentrasi 1024 $\mu\text{g/mL}$, kemudian larutan fraksi dari kolom satu ditransfer sebanyak 100 μL ke kolom ke dua lalu campurkan larutan 4-5 kali dengan mikropipet. Selanjutnya di ambil

sebanyak 100 μL larutan pada kolom ke sepuluh lalu disisihkan. Sebanyak 100 μL suspensi bakteri dimasukkan ke dalam setiap sumuran hingga kolom ke sebelas, sehingga konsentrasi bakteri sesuai standar 0,5 McFarland. Pada baris ke tujuh dan ke delapan pada kolom pertama masing-masing ditambahkan 100 μL larutan ciprofloxacin sebagai kontrol positif untuk bakteri dan DMSO sebagai kontrol negatif. Lalu, diambil 100 μL masing-masing larutan kontrol dan dilakukan pengerjaan seperti pada larutan uji. Kolom ke sebelas berisi media dengan suspensi bakteri saja yang digunakan sebagai kontrol pertumbuhan sedangkan pada kolom ke dua belas hanya berisi media 200 μL sebagai kontrol media (sterilitas). Campuran suspensi bakteri dan fraksi dalam media diinkubasi selama 1×24 jam pada suhu 37°C untuk bakteri. Nilai MIC ditentukan dengan melihat kekeruhan campuran pada masing-masing konsentrasi (CLSI, 2012). Konsentrasi terendah dari larutan sampel yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri (ditandai dengan kejernihan secara visual) ditentukan sebagai MIC.

Uji minimum bactericidal concentration (MBC)

Sebanyak 5 μL alikuot dari setiap bagian-bagian yang jernih dipindahkan dalam nutrient agar dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam kemudiandiamati. Konsentrasi terendah di mana tidak terlihat adanya pertumbuhan mikroba ditetapkan sebagai MBC (Mulyani *et al.*, 2012).

Penetapan fenol total ekstrak etanol dan fraksi daun jati

Masing-masing ekstrak dan fraksi daun jati sebanyak 10 mg dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml, dilarutkan dengan etanol p.a 10 mL, ditambahkan dengan etanol p.a hingga tanda batas. Kemudian masing-masing larutan ekstrak dan fraksi daun jati diambil 1 mL, ditambahkan 400 µL Folin-ciocalteu, didiamkan selama 8 menit, ditambahkan 4 mL Na₂CO₃ 7%. Absorbansi dibaca menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum dan *operating time*. Hasil kadar fenolik yang diperoleh dinyatakan sebagai mg ekuivalen asam galat (GAE)/g sampel (Puspitasari *et al.*, 2019; Wirasti, 2019).

Penetapan flavonoid ekstrak etanol dan fraksi daun jati

Larutan ekstrak dan fraksi 1000 ppm diambil sebanyak 1 mL, ditambahkan dengan 1 mL AlCl₃ 10% dan 8 mL asam asetat 5% didiamkan selama waktu optimum. Pembacaan absorbansi pada panjang gelombang maksimum. Dilakukan 3 kali pengulangan (Ramadhani *et al.*, 2020).

Prosedur Percobaan

Tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Abelmoschus manihot* L. familia Malvaceae, yang diambil dari kecamatan Wangi-wangi Selatan Kabupaten Wakatobi.

1. Pengambilan Sampel dan Pembuatan Ekstrak Tanaman Gedi

Pengambilan sampel tanaman tanaman gedi bertempat di Kecamatan Wangi-Wangi, Kabupaten Wakatobi Sulawesi Tenggara. Bagian daun tanaman digunakan sebagai sampel yang akan diekstrak, daun diambil secara mekanik dengan memotong bagian tangkai daun, lalu dibersihkan dari komponen pengotor dan di

preparasi untuk tahap pengekstrakan. Daun tanaman gedi dikeringkan dalam oven pada kisaran suhu 40 C (Meiliawati *et al.*, 2018).

2. Pembuatan dan Uji Karakteristik Hand Sanitizer

Pembuatan hand sanitizer ekstrak daun gedi dengan perbandingan konsentrasi ekstrak 45%, 35%, dan 25%. Pembuatan hand sanitizer mengacu pada penelitian Febriyanti dan Riyanta, (2018).

a. Pengamatan Organoleptik

Pengamatan organoleptik dilakukan untuk melihat perubahan meliputi bentuk, bau dan warna menggunakan Indera.

b. Uji fisik

Uji fisik meliputi pH, uji BJ dan viskositas.

3. Uji Aktivitas Antibakteri

Uji antibakteri menggunakan bakteri *Staphylococcus aureus* yang didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi FMIPA UHO. Uji aktivitas antibakteri sediaan hand sanitizer dilakukan menggunakan metode sumuran dengan tahapan, yaitu lapisan dasar dibuat dengan menuangkan 10 ml NA ke cawan petri, kemudian dibiarkan memadat. Setelah memadat, permukaan lapisan dasar ditanam 5 pencadang baja yang diatur jaraknya agar daerah pengamatan tidak bertumpu. Suspensi bakteri dicampurkan kedalam ke dalam media pembenihan NA. 10 ml NA dituangkan pada tiap cawan petri yang diletakan pencadang sebagai lapisan kedua. Setelah lapisan kedua memadat, pencadang diangkat secara aseptik menggunakan pinset dari masing-masing cawan petri, sehingga terbentuk sumur-sumur yang akan digunakan dalam pengujian. Sumuran yang

terbentuk selanjutnya diisi dengan larutan kontrol positif hand sanitizer komersial dengan kandungan alkohol 70% dan kontrol negatif larutan CMC, dan larutan uji masing-masing 50 mikroliter. Selanjutnya semua media diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam kemudian diamati zona hambat yang terbentuk. (Nurhamidin et al., 2021).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi dan Fraksinasi

Proses maserasi dilakukan selama 3x24 jam dengan cara merendam serbuk simplisia yang telah diperoleh menggunakan pelarut etanol dimana setiap 24 jam dilakukan pengadukan ekstrak. Selanjutnya hasil maserasi disaring hingga diperoleh filtrat dan residu, filtrat yang diperoleh disisihkan dan residu diremaserasi selama 1x24 jam. Pengadukan dalam proses maserasi juga dilakukan untuk menghomogenkan antara serbuk dengan cairan penyari dan mengoptimalkan proses difusi. Kontak yang cukup besar dan merata akan menghasilkan penarikan zat aktif yang lebih optimal (Musnina et al., 2019). Proses remaserasi dilakukan dengan tujuan untuk memaksimalkan proses penarikan senyawa metabolit sekunder agar dapat meminimalkan tertinggalnya atau tidak terekstraksinya senyawa metabolit sekunder didalam sel

simplisia. Maserat yang diperoleh dipekatkan menggunakan *Rotary evaporator* untuk memperoleh ekstrak kental sebanyak 178 g dari berat total serbuk simplisia daun jati 800 gram. Nilai persen rendemen ekstrak yang diperoleh sebesar 22,32 %.

Fraksinasi dilakukan secara berurutan dari pelarut nonpolar hingga ke polar. Ekstrak kental etanol dilarutkan dengan aquades kemudian ditambahkan pelarut n-heksana dan dilakukan penggojogan/pemisahan menggunakan prosedur corong pisah. Setelah itu, didiamkan beberapa saat hingga terbentuk dua lapisan yaitu lapisan n-heksana (lapisan atas) dan lapisan air (lapisan bawah). Selanjutnya fraksi n-heksana dipisahkan dan ditampung untuk diuapkan pelarutnya, sedangkan fraksi air dimasukkan kembali kedalam corong pisah untuk dilanjutkan pada proses fraksinasi berikutnya. Untuk mendapatkan fraksi kloroform kemudian fraksi etil asetat, dan sisa air (Syamsul et al., 2020). Fraksinasi dilakukan menggunakan 4 pelarut yang berbeda tingkat kepolarannya yaitu n-heksana, kloroform, etil asetat, dan air. Perbedaan tingkat kepolaran tersebut dapat mempengaruhi hasil dari rendemen masing-masing fraksi yang diperoleh. Hasil fraksinasi dapat dilihat pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Hasil Fraksi Daun Jati

No	Fraksi	Berat Fraksi (gr)	Rendemen (%)
1	n-heksana	1,72	5,6
2	Kloroform	3,96	13,2
3	Etil Asetat	12,2	40,3

Berdasarkan **Tabel 1**, nilai rendemen tertinggi berada pada fraksi etil asetat

Kemudian diikuti fraksi kloroform dan fraksi *n*-heksana. Fraksi *n*-heksana menarik senyawa-senyawa yang bersifat non-polar. Fraksi kloroform menarik senyawa-senyawa yang bersifat nonpolar menengah. Fraksi etil asetat merupakan pelarut semi polar dan dapat melarutkan senyawa semipolar pada dinding sel seperti aglikon flavonoid. Fraksi etil asetat sering disebut juga sebagai pelarut polar menengah yang volatil, tidak beracun. Nilai rendemen menunjukkan banyaknya zat bioaktif yang tertarik pada suatu bahan baku (fraksi). Nilai rendemen tertinggi menunjukkan bahwa banyaknya senyawa kimia yang tertarik pada fraksi tersebut (Purwanto, 2015).

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia yang dilakukan pada penelitian ini sebagai uji pendahuluan yaitu menggunakan uji tabung, sehingga diperoleh hasil pada **Tabel 2**.

Hasil identifikasi skrining fitokimia dengan metode tabung terhadap ekstrak etanol didapatkan hasil positif mengandung golongan senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin dan terpenoid. Sedangkan pada fraksi *n*-heksan, kloroform, dan etil asetat tidak mengandung senyawa tannin dan saponin. Hasil ini berbanding lurus dengan penelitian Anwar et al., (2023), yang mengemukakan bahwa kandungan senyawa tannin dan saponin tidak terdapat pada fraksi *n*-heksan, kloroform, dan etil asetat daun jati.

Tabel 2. Hasil skrining fitokimia ekstrak dan fraksi daun jati (*Tectona grandis* Linn.)

Senyawa	Sampel			
	Ekstrak	<i>n</i> -heksan	kloroform	Etil Asetat
Alkaloid	+	+	+	+
Flavonoid	+	+	+	+
Tanin	+	-	-	-
Saponin	+	-	-	-
Terpenoid	+	+	+	+

Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode *Broth Microdilution* yang dapat menentukan nilai *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC). Nilai MIC dapat ditentukan pada konsentrasi terkecilnya yang didilusikan dalam *microplate* yang telah berisi

sampel dengan media dan inokulum bakteri yang ditandai dengan tidak terjadi kekeruhan pada media bening atau dapat menggunakan metode spektrofotometri yang ditandai dengan nilai absorbansi mendekati nol.

Bakteri yang digunakan pada uji aktivitas antibakteri ini yaitu *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ATCC 21332, dan *Streptococcus mutans* ATCC 25175, yang merupakan bakteri gram positif.

Kontrol positif yang digunakan yaitu *ciprofloxacin* sedangkan kontrol negatif yang digunakan yaitu DMSO 10%. *Ciprofloxacin* digunakan karena merupakan antibiotik atau dapat digunakan sebagai antibakteri dengan spektrum luas yang dapat menghambat bakteri gram positif dan negatif. Kontrol positif digunakan dengan tujuan untuk mengetahui efektivitas dari sampel uji,

jika sampel memiliki nilai absorbansi lebih kecil daripada kontrol positif maka sampel yang digunakan lebih efektif, begitupun sebaliknya. DMSO 10% digunakan sebagai pelarut yang memiliki sifat melarutkan senyawa polar maupun nonpolar serta pada konsentrasi 10 % DMSO tidak memiliki kemampuan penghambatan pertumbuhan bakteri. Kontrol positif digunakan dengan tujuan untuk

membuktikan bahwa pelarut atau DMSO yang digunakan tidak memiliki kemampuan penghambatan (terhadap bakteri) atau tidak memberikan pengaruh pada nilai absorbansi yang diperoleh (Galvao et al., 2013).

Hasil pengukuran nilai MIC pada uji antibakter ekstrak etanol daun jati, fraksi n-heksan, fraksi kloroform, dan fraksi etil asetat, dapat dilihat pada **Tabel 3**.

Tabel 3. Hasil pengukuran nilai MIC antibakteri ekstrak dan fraksi daun jati

Sampel	Nilai MIC ($\mu\text{g}/\text{ML}$)					
	S. aureus		B. subtilis		S. mutans	
	S.	Kategori	B.	Kategori	S. mutans	Kategori
Ekstrak etanol	256	Cukup kuat	256	Cukup kuat	512	Lemah
Fraksi etil asetat	256	Cukup kuat	256	Cukup kuat	256	Cukup Kuat
Fraksi Kloroform	256	Cukup kuat	256	Cukup kuat	256	Cukup Kuat
Fraksi n-heksan	256	Cukup kuat	256	Cukup kuat	512	Lemah
Kontrol (Ciprofloxacin)	4	Sangat Kuat	8	Sangat Kuat	8	Sangat Kuat

Perbedaan nilai MIC dari masing-masing bakteri uji (bakteri gram positif) yang telah diperoleh dapat disebabkan oleh ketahanan masing-masing bakteri terhadap sampel, pelarut yang digunakan, senyawa kimia yang terkandung dari sampel, konsentrasi, serta lama kontak. Nilai MIC menunjukkan keefektifan senyawa yang digunakan sebagai antibakteri. Bakteri uji gram positif yang digunakan memiliki struktur dinding sel yang cukup

sederhana sehingga senyawa antibakteri lebih mudah masuk ke dalam sel dan menemukan sasaran untuk bekerja. Struktur dinding sel bakteri gram positif mengandung banyak asam teikoat dan asam teikoronat serta molekul polisakarida. Komponen kimia

ini melindungi sel dari kegiatan lisis enzim, sedangkan zat lain menentukan reaksi sel pada pengecatan gram dan ada pula yang menarik dan mengikat bakteriofage (Purwani et al., 2009). Hal inilah yang memungkinkan dinding sel bakteri gram positif mudah rusak oleh senyawa antibakteri fraksi etil asetat dan ekstrak etanol daun jati. Fraksi etil asetat memiliki sifat semipolar yang dapat melarutkan komponen yang bersifat polar maupun non polar. Namun nilai MIC ekstrak etanol pada *Streptococcus mutans* terdapat perbedaan kemungkinan dikarenakan ketahanan dan pertumbuhan membentuk koloni yang berbeda beda.

Pemilihan jenis pelarut dapat mempengaruhi nilai MIC yang akan diperoleh. Hal ini dikarenakan jenis pelarut yang digunakan akan

menentukan senyawa metabolit sekunder yang tersaring kedalam pelarut tersebut. Septyaningsih (2010) menjelaskan bahwa senyawa metabolit sekunder yang dapat larut dalam pelarut non polar yaitu steroid dan terpenoid. Dalam penelitian ini kemampuan yang paling baik terpenoid ditemukan di fraksi etil asetat. Diduga karena adanya ikatan hidrogen antara terpenoid yang memiliki gugus hidroksil dengan etil asetat mengakibatkan senyawa tersebut tertarik oleh etil asetat. Dalam hal ini senyawa terpenoid dapat berikatan dengan protein dan lipid yang teradapat pada membran sel dan bahkan dapat menimbulkan lisis pada sel. Membran sel yang tersusun atas protein dan lipid sangat rentan terhadap zat kimia yang menurunkan tegangan permukaan. Hal ini dapat menyebabkan terganggunya transport nutrisi melalui membran sel sehingga nutrisi yang diperlukan untuk pertumbuhan bakteri berkurang (Purwani et al., 2009).

Senyawa yang bersifat semi polar yaitu senyawa golongan fenolik termasuk flavonoid, sedangkan senyawa bersifat polar yaitu alkaloid, saponin, dan tannin. Dalam hal ini kemampuan yang paling baik dalam menarik tannin yakni fraksi etil asetat dan fraksi n-heksan. Mekanisme kerja tanin sebagai bahan antibakteri antara lain melalui perusakan membran sel bakteri karena toksisitas tanin dan pembentukan ikatan kompleks ion logam dari tanin yang berperan dalam toksisitas tanin. Bakteri yang tumbuh dalam kondisi aerob memerlukan zat besi untuk berbagai fungsi, termasuk

reduksi dari prekursor ribonukleotida DNA. Adanya ikatan antara tanin dan besi akan menyebabkan terganggunya berbagai fungsi bakteri (Rahman et al., 2017).

Nilai MBC dari hasil pengujian (**Tabel 4**), menunjukkan bahwa bahwa fraksi etil asetat daun jati memiliki aktivitas bakterisidal terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis* dengan nilai MBC 1024. Ekstrak etanol dan fraksi n-heksan memiliki aktivitas bakterisidal terhadap bakteri *Sathylococcus aureus* dengan nilai MBC yakni 1024. Sementara fraksi kloroform daun jati tidak memiliki aktivitas bakterisidal, hal ini diduga karena kurangnya kandungan senyawa kimia yang berfungsi sebagai antibakteri.

Antibiotik yang digunakan sebagai kontrol positif yakni Ciprofloxacin. Ciprofloxacin merupakan antibiotik golongan fluorokuinolon, yaitu golongan kuinolon baru dengan atom fluor pada cincin kuinolon. Fluorokuinolon mempunyai daya antibakteri yang lebih besar dan toksisitas yang lebih rendah. Menurut Jawetz et al (2007), ciprofloxacin memiliki efek antibakteri dengan spektrum luas. Mekanisme kerja ciprofloxacin yaitu dengan menghambat topoisomerase II = DNA girase) dan topoisomerase VI pada bakteri. Enzim topoisomerase II berfungsi menimbulkan relaksasi dan DNA yang mengalami positive supercoiling pada waktu transkrip dalam proses replikasi DNA. Enzim topoisomerase VI berfungsi dalam pemisahan DNA baru yang terbentuk setelah proses replikasi DNA bakteri selesai (Dima & Lolo, 2016).

Tabel 4. Hasil pengukuran nilai MBC antibakteri ekstrak dan fraksi daun jati

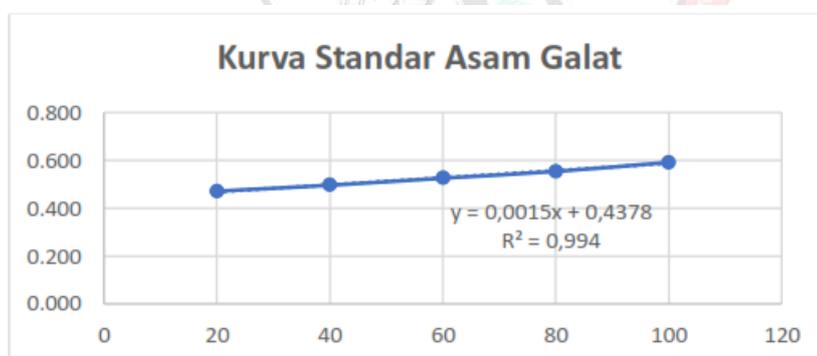
Sampel	Nilai MBC ($\mu\text{g}/\text{ML}$)		
	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>S. mutan</i>
Estrak etanol	1024	-	-
Fraksi etil asetat	1024	1024	-
Fraksi kloroform	-	-	-
Fraksi n-heksan	1024	-	-

Kadar Fenolik Total

Penentuan kadar fenolik total yang terlebih dahulu dilakukan yaitu menentukan panjang gelombang maksimum larutan standar asam galat dari range 400- 800 nm menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Panjang gelombang maksimum yang diperoleh yaitu 765. Panjang gelombang maksimum ini digunakan untuk mengukur absorbansi kurva kalibrasi dan sampel ekstrak dan fraksi daun jati. Selanjutnya dilakukan penentuan

operating time untuk menentukan waktu optimum inkubasi sampel dengan reagen *follin-Ciocalteu* dan Na_2CO_3 . Penambahan Na_2CO_3 berfungsi untuk membasakan kondisi larutan sehingga terjadi disosiasi proton pada pada senyawa fenolik menjadi ion fenolat.

Absorbansi larutan asam galat dari berbagai seri konsentrasi didapatkan persamaan regresi linear ditunjukkan pada **Gambar 1**.

**Gambar 1.** Hubungan absorbansi dan konsentrasi asam galat (mg/L)

Hasil perhitungan kadar fenol total menggunakan kurva kalibrasi asam galat tersebut diperoleh kadar total fenol dari masing-masing ekstrak dan fraksi

daun jati yang dapat dilihat pada **Tabel 5**.

Tabel 5. Kadar Fenolik ekstrak dan fraksi daun jati

Sampel	Kadar Fenolik			$\bar{X} \pm \text{SD}$ (ppm)
	I	II	III	
Ekstrak etanol	8,80	10,80	12,80	$10,80 \pm 2,0$
Fraksi etil asetat	36,13	34,80	38,13	$36,36 \pm 1,7$
Fraksi kloroform	6,13	4,80	6,80	$5,91 \pm 1,0$

Fraksi n-heksan	18,80	15,47	30.80	18,36±2,6
-----------------	-------	-------	-------	-----------

Senyawa fenol merupakan senyawa dengan gugus hidroksil (OH) yang terikat pada cincin aromatik yang dapat menghambat oksidasi lipid dengan menumbangkan atom hidrogen kepada radikal bebas. Kemampuan tersebut ditunjukkan pada fraksi etil asetat memiliki kadar fenol total tertinggi dibandingkan ekstrak dan fraksi-fraksi lainnya (**Tabel 5**). Hal ini diduga terjadi karena senyawa fenol yang terkandung dalam sampel daun jati bersifat semipolar sehingga mudah ditarik oleh pelarut etil asetat (Septiana & Asnani, 2013).

Penetapan kadar total fenol dalam fraksi daun jati menggunakan metode kolorimetri *folin-ciocaltue*, yang memiliki prinsip reduksi-oksidasi. Pada prinsipnya menunjukkan bahwa senyawa fenol bereaksi dengan pereaksi *folinciocaltue* yang membentuk warna kuning, dan ketika ditambahkan Na_2CO_3 akan membentuk warna biru. Standar asam galat merupakan senyawa golongan asam fenolik yang dapat mengalami reaksi tersebut. Hal ini mengartikan bahwa senyawa total fenol yang diperoleh sebagian besar berasal dari senyawa semipolar yang dapat larut dalam pelarut semi polar seperti etil

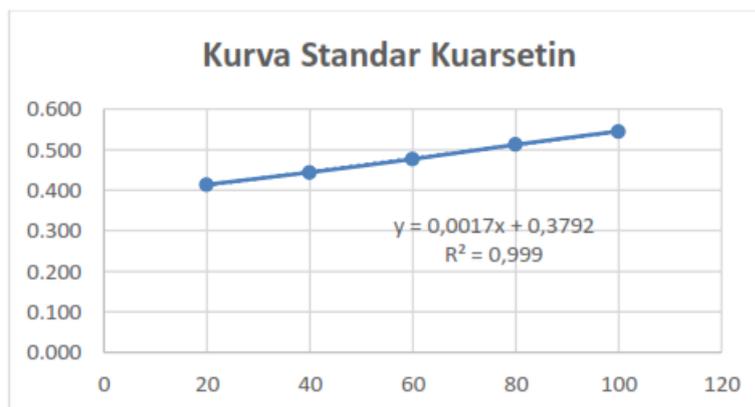
asetat. Hal ini menunjukkan bahwa jumlah fenolik terbanyak terdapat pada fraksi

etil asetat maka senyawa fenolik yang terdapat pada daun jati merupakan senyawa fenolik yang bersifat semi polar.

Berdasarkan hasil yang diperoleh pada penentuan kadar fenolik total, hal ini juga sesuai dengan uji aktivitas antibakteri pada penentuan nilai MIC, dimana pada pengujian tersebut fraksi etil asetat mendapat hasil yang baik dimana memiliki aktivitas antibakteri yang baik. Senyawa fenol pada kadar tinggi dapat menyebabkan koagulasi protein dan menyebabkan sel membran mengalami lisis, dengan cara melarutkan lemak yang terdapat pada dinding sel, karena senyawa ini mampu melakukan migrasi dari fase cair ke fase lemak (Yanis et al., 2020; Purwani et al., 2009).

Kadar Flavonoid Total

Absorbansi larutan kuarsetin dari berbagai seri konsentrasi didapatkan persamaan regresi linear ditunjukkan pada **Gambar 2**.



Gambar 2. Hubungan absorbansi dan konsentrasi kuarsetin (mg/L)

Hasil perhitungan kadar flavonoid total menggunakan kurva kalibrasi kuarsetin tersebut diperoleh kadar total flavonoid dari ekstrak dan fraksi daun jati (**Tabel 6**). Umumnya flavonoid ditemukan berikatan dengan gula membentuk glikosida yang menyebabkan suatu senyawa lebih mudah larut dalam pelarut polar. Sementara, dalam bentuk aglikonnya,

senyawa flavonoid memiliki sifat kurang polar sehingga cenderung lebih mudah larut dalam pelarut non polar seperti n-heksan (Prayoga et al., 2019). Dari **tabel 6**, menggambarkan bahwa jumlah flavonoid terbanyak terdapat pada fraksi n-heksan maka senyawa flavonoid yang terdapat pada daun jati merupakan senyawa flavonoid yang bersifat non polar.

Tabel 6. Kadar Flavonoid ekstrak dan fraksi daun jati

Sampel	Kadar Fenolik			X±SD (ppm)
	I	II	III	
Ekstrak etanol	27,52	25,35	26,35	26,35±1,2
Fraksi etil asetat	26,35	25,18	28,12	26,55±1,5
Fraksi kloroform	18,71	19,88	19,30	19,30±0,6
Fraksi n-heksan	52,23	51,82	52,24	52,23±0,6

Hasil ini sesuai dengan hasil uji antibakteri dimana nilai MIC menunjukkan hasil bahwa n heksan memiliki uji aktivitas antibakteri yang baik terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis*. Flavonoid bekerja sebagai antibakteri karena kemampuannya membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan

keluarnya senyawa intraseluler. Selain itu, mekanisme lain golongan flavonoid dalam menghambat pertumbuhan bakteri adalah inhibisi lapisan biofilm pada bakteri (Rizky & Sogandi, 2018).

KESIMPULAN

Hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak dan fraksi daun jati memiliki aktivitas sebagai antibakteri

terhadap *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, dan *Streptococcus mutans* serta mengandung kandungan metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, dan terpenoid.

DAFTAR PUSTAKA

- Anwar, I., Idrus, L.S., Jannah, S.R.N., Nuralifah. 2023. Pengaruh Pemberian Fraksi Daun Jati terhadap Profil Kadar Glikogen Hati dan Otot Tikus Putih DM Tipe II. *Jurnal Pharmacia Mandala Waluya*, 2(1), 56-62
- Chastelyna, A.J., Supartono, N.W. 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Sabun Cair Ekstrak Daun Jati (*Tectona Grandis* L.F). *Indonesian Journal of Chemical Science*, 6(1), 72-76.
- Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). 2012. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Second Informational Supplement
- Dima, L.L.R.H., Lolo, W.A. 2016). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kelor (*Moringa Oleifera* L.) Terhadap Bakteri *Escherichia Coli* dan *Staphylococcus Aureus*. *Pharmacon*, 5(2), 282-289.
- Harbone, J. 1996. *Metode Fitokimia: Penentuan Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Cetakan Kedua. Bandung: ITB Press (ID).
- Jawetz., et al. 2007. Mikrobiologi Kedokteran Jawetz, Melnick, & Adelberg, Ed.23, Translation of Jawetz, Melnick, and Adelberg's Medical Microbiology, 23thEd. Alih bahasa oleh Hartanto, H., et al. Jakarta: EGC (ID)
- Maida, S., Lestari, K.A.P. 2019. Aktivitas Antibakteri Amoksisilin terhadap Bakteri Gram Positif dan Bakteri Gram Negatif. *J. Pijar MIPA*, 14(3), 55.
- Mulyani, E. 2017. Perbandingan Hasil Penetapan Kadar Vitamin C pada Buah Kiwi (*Actinidia deliciosa*) dengan Menggunakan Metode Iodimetri dan Spektrofotometri UV-Vis. *Pharmauho Jurnal Farmasi, Sains, Dan Kesehatan*, 3(2), 14-17.
- Musnina, W.O.S., Wahyuni, Malik, F., Timung, Y.O. 2019. Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol dan Fraksi Organik Rimpang Wualae (*Etilingera elatior* (Jack) R.M. Smith). *Jurnal Farmasi, Sains, Dan Kesehatan*, 5(1), 1-6.
- Nuralifah., Fitrawan, L.O.M., Parawansah., Anwar, I., Zuhriyah, A. 2023. Aktivitas Antihiperqlikemik Ekstrak Daun Gedi Merah (*Abelmoschus manihot* L.Medik) pada Tikus Model Diabetes Melitus Tipe II. *Lansau: Jurnal Ilmu Kefarmasian*. 1(1), 38-48.
- Novard, M.F.A., Suharti, N., Rasyid, R. 2019. Gambaran Bakteri Penyebab Infeksi Pada Anak Berdasarkan Jenis Spesimen dan Pola Resistensinya di Laboratorium RSUP Dr. M. Djamil Padang Tahun 2014-2016. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 8(2S), 26.
- Prayoga, D.G.E., K.A.Nocianitri, dan N.N.Puspawati. 2019. Identifikasi Senyawa Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kasar Daun Pepe (*Gymnema reticulatum* Br) pada Berbagai Jenis Pelarut. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*. 8(2):111-121.
- Purwani, E., Hapsar, S.W.N., Rauf, R. 2009. Respon Hambatan Bakteri Gram Positif Dan Negatif Pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Yang Diawetkan Dengan Ekstrak Jahe

- (*Zingiber Officinale*). *Jurnal Kesehatan*. 2(1), 61-70.
- Purwanto, S. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Aktif Ekstrak Daun Senggani (*Melastoma Malabathricum* L) terhadap *Escherichia Coli*. *Jurnal Keperawatan Sriwijaya*, 2(2), 84–92.
- Puspitasari, A.D., Anwar, F.F., Faizah, NG. A. 2019. Aktivitas Antioksidan. Penetapan Kadar Fenolik Total dan Flavonoid Total Ekstrak Etanol, Eetil Asetat, dan n-Heksan Daun Petai (*Parkia speciosa* Hassk.). *Jurnal Ilmiah Teknosains*, 5(1).
- Ramadhani, M.A., Hati, A.K., Lukitasari, N.F. Jusman, A.H. 2020. Skrining Fitokimia dan Penetapan Kadar Flavonoid Total serta Fenolik Total Ekstrak Daun Insulin (*Tithonia diversifolia*) dengan Maserasi Menggunakan Pelarut Etanol 96%. *Indonesian Journal of Pharmacy and Natural Product*, 03(01), 8–18.
- Rahman, F.A., Haniastuti, T., Utami, T.W. 2017. Skrining fitokimia dan aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) pada *Streptococcus mutans* ATCC 35668. *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia*, 3(1), 1.
- Rizky, T.A., Sogandi. 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Daun Jati (*Tectona grandis* Linn.F) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* Secara in Vitro. *Indonesian Natural Research Pharmaceutical Journal*, 3(1), 93–105.
- Septiana, A.T., Asnani, A. 2013. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut *Sargassum duplicatum*. *Jurnal Teknologi Pertanian*, 14(2), 79-86.
- Suryawanshi, V.S., Umate, S.R. 2018. Phytochemical Screening of Flowers from *Moringa oleifera* Lam. *International Research Journal in Botany*, 1(1), 31-35.
- Suteja, I.K.P., Susanah Rita, W. Gunawan, I.W.G. 2016. Identifikasi dan Uji Aktivitas Senyawa Flavonoid dari Ekstrak Daun Trembesi (*Albizia saman* (Jacq.) Merr) sebagai Antibakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Kimia*, 141–148.
- Syamsul, E.S., Supomo, Jubaidah, S. 2020. Karakterisasi Simplisia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Daun Pidada Merah (*Sonneratia caseolaris* L). *KOVALEN: Jurnal Riset Kimia*, 6(3).
- Wirasti. 2019. Penetapan Kadar Fenolik Total, Flavonoid Total, dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Benalu Petai (*Scurrula atropurpurea* Dans.) Beserta Penapisan Fitokimia. *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences*, 4(1), 1–5.
- WHO. 2014. Health for the World's Adolescents: A Second Chance in the Second Decade. World Health Organization Departement of Noncommunicable disease surveillance.
- Yanis, I.F., Alamsjah, F., Agustien, A., Maideliza, T. 2020. Antibacterial potency of fresh extract leaves of jamaican cherry (*Muntingia calabura* L.) in Inhibiting the growth of *Shigella dysenteriae*. *Jurnal Biologi Universitas Andalas*, 8(1), 14-19.