



AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI AKTIF DAUN SELUTUI PUKA (*Tabernaemontana macrocarpa* Jack.) TERHADAP *Staphylococcus aureus*

¹Rismaul Wahdah, ^{2*}Fitri Handayani*, ³Reksi Sundu

^{1,2,3}Program Studi Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Samarinda

Info Article

Submitted :

31 Maret 2023

Revised :

4 Juli 2023

Accepted :

24 Juli 2023

Corresponding Author :

Fitri Handayani

Email :

sasanrukan@yahoo.co.id

ABSTRAK

Staphylococcus aureus merupakan bakteri yang dapat menyebabkan penyakit infeksi, seperti infeksi pada kulit. Masyarakat desa Karang Mook Manar Bulant, Kutai Barat, Kalimantan Timur menggunakan daun selutui puka (*Tabernaemontana macrocarpa* Jack.) sebagai obat tradisional untuk mengobati penyakit kulit, seperti kulit yang gatal. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder pada fraksi aktif dan aktivitas antibakteri fraksi aktif daun selutui puka. Penelitian bersifat eksperimental. Obyek yang diteliti adalah zona hambat fraksi aktif daun selutui puka terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Tahapan penelitian yaitu pengumpulan bahan baku, determinasi tumbuhan, pembuatan simplisia dan ekstrak, fraksinasi, uji skrining fitokimia fraksi aktif, uji aktivitas antibakteri fraksi aktif (etanol-air, etil asetat dan n-heksana) daun selutui puka terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan metode difusi cakram pada konsentrasi 5%, 10% dan 15%, kontrol positif klindamisin 0,1% dan kontrol negatif DMSO 1%. Data dianalisis secara kualitatif dan kuantitatif. Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa fraksi etanol-air memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid dan saponin, fraksi etil asetat mengandung flavonoid, tanin dan steroid, fraksi n-heksana mengandung alkaloid dan steroid. Aktivitas antibakteri pada fraksi aktif menunjukkan bahwa fraksi etanol-air menghasilkan zona hambat sebesar 2,88 mm (5%), 5,33 mm (10%) dan 6,06 mm (15%). Fraksi etil asetat sebesar 2,54 mm (5%), 6,81 mm (10%) dan 7,81 mm (15%). Fraksi n-heksana sebesar 6,50 mm (5%), 8,35 mm (10%), dan 5,83 mm (15%). Zona hambat kontrol positif pada klindamisin 0,1% sebesar 35,45 mm dan kontrol negatif DMSO 1% adalah 0 mm. Fraksi aktif daun selutui puka (*Tabernaemontana macrocarpa* Jack.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dengan kategori lemah hingga sedang.

Kata kunci: *Tabernaemontana macrocarpa* Jack., Fraksi aktif, Antibakteri, *Staphylococcus aureus*

Access this article

ABSTRACT

Staphylococcus aureus is a bacterium that can cause infectious diseases, such as skin infections. The people of Karang Mook Manar Bulant village, West Kutai, East Kalimantan use the leaves of selutui



puka (Tabernaemontana macrocarpa Jack.) as a traditional medicine to treat skin diseases, such as itchy skin. This study aims to determine the content of secondary metabolites in the active fraction and antibacterial activity of the active fraction of selutui puka leaves. The research followed an experimental approach, involving various stages such as collection of raw materials, identification of the plant, preparation of crude extracts, fractionation, screening of phytochemicals in the active fraction, and testing the antibacterial efficacy of the active fraction using the diffusion method. The active fraction was prepared in three solvents: ethanol-water, ethyl acetate, and n-hexane, with disc concentrations of 5%, 10%, and 15%. Positive control involved 0.1% clindamycin, while negative control utilized 1% dimethyl sulfoxide (DMSO). Data were analyzed qualitatively and quantitatively. The results of the phytochemical screening showed that the ethanol-water fraction contained secondary metabolites in the form of flavonoids and saponins, the ethyl acetate fraction contained flavonoids, tannins and steroids, and the n-hexane fraction contained alkaloids and steroids. The antibacterial activity of the active fraction showed that the ethanol-water fraction produced inhibition zones of 2.88 mm (5%), 5.33 mm (10%) and 6.06 mm (15%). The ethyl acetate fraction was 2.54 mm (5%), 6.81 mm (10%) and 7.81 mm (15%). The n-hexane fraction was 6.50 mm (5%), 8.35 mm (10%) and 5.83 mm (15%). The inhibition zone of the positive control on 0.1% clindamycin was 35.45 mm and the negative control of 1% DMSO was 0 mm. The active fraction of puka selutui leaves (Tabernaemontana macrocarpa Jack.) antibacterial activity against Staphylococcus aureus in the weak to moderate category.

Keywords: *Tabernaemontana macrocarpa Jack., Active fraction, Antibacterial, Staphylococcus aureus*

1. PENDAHULUAN

Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu bakteri yang dapat menyebabkan penyakit berupa jerawat, bisul, impetigo dan infeksi yang dikarenakan cedera, pneumonia, mastitis, flebitis, meningitis, infeksi saluran kemih, osteomielitis dan endokarditis (Ansari et al, 2016). Infeksi bakteri *Staphylococcus aureus* biasanya diobati dengan antibiotik, tetapi pada kasus ditemukan beberapa strain *Staphylococcus aureus* resisten terhadap antibiotik (Tokajian, 2014).

Terapi antibakteri merupakan hal yang penting dalam menangani infeksi bakteri ini, namun terapi pilihan pada

bakteri *Staphylococcus aureus* telah mengalami penurunan sensitivitas sehingga pengobatan yang dilakukan dapat mengalami kegagalan, oleh karena itu perlu adanya alternatif antibakteri alami yang dapat mengatasi infeksi dari bakteri tersebut.

Kalimantan memiliki beragam jenis tumbuhan untuk pengobatan alami. Kalimantan Timur khususnya daerah Kabupaten Kutai Barat merupakan salah satu tempat tumbuh Selutui Puka (*Tabernaemontana macrocarpa* Jack.). Secara empiris masyarakat suku Dayak di Desa Karang Mook Manar Bulant, Kabupaten Kutai Barat, Kalimantan Timur

memanfaatkan rebusan daun selutui puka sebagai air untuk mencuci wajah atau dikompres pada kulit wajah yang gatal dan berjerawat. Metabolit sekunder yang terkandung pada bagian daun tumbuhan selutui puka adalah alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan steroid (Handayani dkk, 2019). Hasil penelitian Soemarie dkk, (2018) menyatakan bahwa ekstrak etanol daun selutui puka (*Tabernaemontana macrocarpa* Jack.) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi yang digunakan adalah 5%, 10%, dan 15% dengan diameter zona hambat secara berurutan yaitu sebesar 6,09 mm, 6,24 mm, dan 6,25 mm.

Penelitian ini merupakan penelitian lanjutan dari penelitian sebelumnya yang berfokus pada penggunaan ekstrak etanol untuk pengujian skrining fitokimia dan aktivitas antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder pada fraksi aktif dan aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini akan menjadi sumber informasi ilmiah bagi peneliti selanjutnya dan khususnya masyarakat Suku Dayak di Desa Karang Mook Manar Bulant, Kabupaten Kutai Barat, Kalimantan Timur yang secara empiris menggunakan daun selutui puka sebagai tumbuhan obat tradisional.

2. METODE PENELITIAN

2.1 Alat

Autoklaf (Isuzu®), inkubator (Mermert®), jangka sorong (Tricle brand®), *laminar air flow cabinet* (LAF) (Streamline®), maserator KW 20 digital (Ika®), mikropipet (Vitlab®), penangas listrik 1 row 6 holes (Tianjin®), pengayak mesh 60,

spektrofotometer uv-1800 (Shimadzu®), timbangan analitik (Ohaus®), *vaccum rotary evaporator* (Ika®), vortex mixer vm-300.

2.2 Bahan

Daun selutui puka (*Tabernaemontana macrocarpa* Jack.), air suling, aluminium foil, amil alkohol, antibiotik, amonia, asam asetat anhidrat, BaCl₂.2H₂O, biakan bakteri *Staphylococcus aureus*, DMSO 1%, etanol 70%, etil asetat, FeCl₃ 1%, HCl pekat, H₂SO₄2N, kertas cakram, kertas saring, n-heksana, *nutrient agar* (NA), *nutrient broth* (NB), pereaksi *Dragendorf*, pereaksi *Mayer*, dan serbuk Magnesium (Mg).

2.3 Prosedur Penelitian

2.3.1 Pengumpulan Bahan Baku

Sampel berupa daun selutui puka yang diambil dari Desa Karang Mook Manar Bulant, Kabupaten Kutai Barat, Kalimantan Timur.

2.3.2 Determinasi Tumbuhan

Determinasi dilakukan di Laboratorium Anatomi dan Sistematika Tumbuhan, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mulawarman Samarinda.

2.3.3 Pembuatan Simplisia

Daun selutui puka sebanyak 2 kg dipisahkan terlebih dahulu dengan benda asing dan pengotor lainnya, kemudian dibersihkan dengan cara dicuci dengan menggunakan air mengalir, ditiriskan lalu dirajang dan setelah itu dikeringkan dengan cara dilakukan penjemuran (diangin-anginkan tanpa terkena sinar matahari secara langsung). Tahap selanjutnya adalah pembuatan serbuk simplisia dengan cara dihaluskan menggunakan blender. Serbuk kemudian

diayak dengan ayakan Mesh 60 (Ekawati dkk, 2023).

2.3.4 Pembuatan Ekstrak

Serbuk simplisia ditimbang sebanyak 300 gram, diekstraksi dengan menggunakan etanol 70% sebanyak 3000 mL. Kemudian, direndam selama 6 jam pertama sambil sesekali diaduk dan dibiarkan selama 18 jam. Setelah itu, maserat hasil ekstraksi dipisahkan menggunakan metode filtrasi. Seluruh filtrat dikumpulkan dan kemudian diuapkan menggunakan cawan di atas panci dengan pemanasan menggunakan air hingga diperoleh ekstrak kental, sesuai dengan prosedur yang direkomendasikan oleh Departemen Kesehatan Republik Indonesia (DepKes RI, 2008).

2.3.5 Fraksinasi

Fraksinasi dilakukan menggunakan metode partisi cair-cair. Ekstrak etanol daun selutui puka 10 g dilarutkan dalam etanol-air 1:1(100 mL) dan dipartisi dengan n-heksana 100 mL sebanyak 3 kali dalam corong pisah hingga terbentuk dua lapisan. Bagian etanol-air diambil dan dipartisi dengan etil asetat sebanyak 3 kali, kemudian fraksi n-heksana dan fraksi etil asetat diuapkan dengan *vaccum rotary evaporator*. Fraksi yang mengandung etanol-air diuapkan menggunakan *waterbath* (Febriani, 2014).

2.3.6 Uji Skrining Fitokimia

a. Uji Alkaloid

Fraksi etanol-air, etil asetat dan N-heksana masing-masing sebanyak 2 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berbeda lalu ditambahkan masing-masing dengan HCl 2 N. Pada masing-masing tabung ditambahkan pereaksi Mayer, Dragendorff dan Bouchardat sebanyak 3

tetes. Apabila terbentuk endapan putih atau kuning pada penambahan pereaksi Mayer, endapan jingga sampai merah coklat pada penambahan pereaksi Dragendorff dan endapan coklat sampai hitam pada pereaksi Bouchardat maka fraksi menunjukkan adanya senyawa alkaloid (Depkes RI, 1995).

b. Uji Flavonoid

Fraksi etanol-air, etil asetat dan n-heksana masing-masing sebanyak 2 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Masing-masing ditambahkan 0,1 gram serbuk magnesium dan 1 mL asam klorida pekat dan 2 mL amil alkohol kemudian dikocok dan dibiarkan hingga memisah. Jika terbentuk warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol maka fraksi mengandung senyawa flavonoid (Depkes RI, 1989).

c. Uji Saponin

Fraksi etanol-air, etil asetat dan n-heksana masing-masing sebanyak 2 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan air panas lalu dikocok kuat. Apabila terbentuk busa atau buih selama tidak kurang 10 menit setinggi 1-10 cm dan tidak hilang jika ditambahkan 1 tetes larutan HCl 2 N, maka fraksi tersebut mengandung senyawa saponin (Marjoni, 2019).

d. Uji Steroid dan Terpenoid

Fraksi etanol-air, etil asetat dan n-heksana masing-masing sebanyak 2 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Masing-masing tabung ditambahkan pereaksi Lieberman-Burchard. Lieberman-Burchard dibuat dengan mencampurkan 20 bagian asam asetat anhidrat dengan 1 bagian asam sulfat pekat. Jika terbentuk warna ungu pada sampel, maka fraksi

mengandung senyawa triterpenoid. Sedangkan jika terbentuk warna biru-hijau maka fraksi mengandung senyawa steroid (Marjoni, 2019).

e. Uji Tanin

Fraksi etanol-air, etil asetat dan n-heksana masing-masing sebanyak 2 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Masing-masing ditambahkan dengan 1-2 tetes besi (III) klorida. Jika terbentuk warna biru atau hijau kehitaman maka fraksi mengandung senyawa tanin (Marjoni, 2019).

2.3.7 Uji Aktivitas Antibakteri

a. Pembuatan Media

Nutrien agar sebanyak 5 gram dilarutkan dalam 250 mL aquades dalam erlenmeyer kemudian dipanaskan sampai mendidih. Seluruh media ditutup rapat dengan kapas dan juga dilapisi dengan aluminium foil. Lalu, media disterilkan dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C dalam tekanan 15 psi (*per square inch*) (Volk dan Wheeler, 1993). Media untuk peremajaan dibuat dengan memasukkan nutrisi agar yang telah disterilkan ke dalam tabung reaksi kemudian dimiringkan dan didiamkan pada suhu kamar hingga media memadat.

Pembuatan media untuk suspensi bakteri yaitu dengan cara *nutrient broth* 0,4 g dilarutkan ke dalam 50 mL aquades di dalam Erlenmeyer. Seluruh media ditutup rapat dengan kapas dan juga dilapisi dengan aluminium foil. Media disterilkan dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C.

b. Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat-alat yang akan disterilisasi dicuci terlebih dahulu dan dikeringkan. Alat-alat

seperti kaca/gelas, cawan petri, erlenmeyer dan bukan bahan yang terbuat dari plastik atau karet di oven dengan suhu 160-180°C selama 1,5-3 jam. Sebelum proses sterilisasi alat-alat tersebut dibungkus dengan kertas terlebih dahulu. Alat-alat yang tahan terhadap panas dan media dapat disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Sterilisasi untuk jarum ose dilakukan dengan pemijaran, yaitu ujung ose diarahkan di atas api bunsen hingga ujung ose memijar (Tille, 2017).

c. Peremajaan Bakteri

Biakan pada agar miring dapat dilakukan dengan cara disiapkan agar miring terlebih dahulu dan disiapkan biakan bakteri yang akan ditanam kembali. Kawat ose dipijarkan terlebih dahulu lalu biarkan dingin. Ujung kawat ose disentuh pada koloni bakteri kemudian kawat ose digoreskan pada permukaan agar miring secara zig zag. Kawat ose dibakar kembali dan biakan agar miring diinkubasikan (Yusmaniar dkk, 2017). Inkubasi dilakukan pada suhu 37°C selama 24 jam (Wijayati dkk, 2014).

d. Pembuatan Larutan Mc Farland

Larutan baku Mc Farland terdiri dari dua komponen. Komponen pertama berupa larutan H₂SO₄ 1% sebanyak 9,95 mL dicampurkan dengan BaCl₂.2H₂O 1% sebanyak 0,05 mL ke dalam labu ukur 10 mL. Labu ukur dikocok hingga terbentuk larutan keruh sesuai dengan standar kekeruhan bakteri (Lay, 1994).

e. Pembuatan Suspensi Bakteri

Bakteri uji pada media agar miring diambil menggunakan jarum ose steril kemudian disuspensikan ke dalam tabung reaksi yang berisi 5 mL larutan NB (*Nutrient*

Broth) hingga diperoleh kekeruhan yang sama dengan standar kekeruhan Mc Farland (Ngajow dkk, 2013), yang diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm dan setara dengan persen transmittansi standar Mc Farland 0,5 yaitu sebesar 74,3%.

f. Pembuatan DMSO 1%

Diambil larutan DMSO (*Dimethyl Sulfoxide*) dengan menggunakan mikropipet sebanyak 10 µl kemudian dilarutkan dengan aquades steril hingga 1 mL.

g. Pembuatan Klindamisin 0,1%

Ditimbang 1 mg serbuk klindamisin dilarutkan dengan DMSO 1% (v/v) hingga 1 mL diaduk hingga homogen.

h. Pembuatan Larutan Uji Fraksi Etanol-Air, Etil Asetat dan N-Heksana Daun Selutui Puka

Konsentrasi fraksi aktif dibuat masing-masing sebesar 5%, 10%, dan 15%. Konsentrasi 5%, ditimbang 50 mg masing-masing dari fraksi etanol-air, etil asetat dan n-heksana daun selutui puka kemudian dilarutkan ke dalam DMSO 1% sebanyak 1 mL. Konsentrasi 10%, fraksi etanol-air, etil asetat dan n-heksana daun selutui puka masing-masing ditimbang 100 mg yang kemudian dilarutkan ke dalam DMSO 1% sebanyak 1 mL. Lalu, untuk konsentrasi 15%, sama seperti sebelumnya masing-masing dari fraksi etanol-air, etil asetat dan n-heksana daun selutui puka ditimbang sebesar 150 mg kemudian dilarutkan ke dalam DMSO 1% sebanyak 1 mL (Soemarie dkk, 2018).

i. Uji Aktivitas Fraksi Etanol-Air, Etil Asetat dan N-Heksana

Uji aktivitas antibakteri fraksi etanol-air, etil asetat dan n-heksana daun selutui puka terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dilakukan dengan teknik aseptis dengan metode difusi kertas cakram. Dituang media NA sebanyak 10 mL ke dalam 5 cawan petri lalu didiamkan hingga media memadat. Dituangkan larutan bakteri *Staphylococcus aureus* pada masing-masing cawan petri sebanyak 15 mL kemudian diswab bakteri menggunakan *cotton swab* ke permukaan media dengan cara digores pelan hingga menyeluruh diatas permukaan media. Kertas cakram dicelupkan ke dalam masing-masing fraksi dengan konsentrasi 5%, 10% dan 15% kemudian, kertas cakram yang telah dicelupkan pada masing-masing fraksi ditempelkan ke permukaan media. Dilakukan proses inkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37°C (Marliana dan Saleh, 2011). Prosedur yang sama dilakukan pada setiap cawan petri terhadap kontrol positif klindamisin 0,1% dan kontrol negatif DMSO 1%.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi tumbuhan bertujuan untuk mendapatkan identitas dari tumbuhan yang tepat dan jelas dari tumbuhan yang diteliti dan menghindari kesalahan yang mungkin terjadi dalam pengumpulan bahan yang akan digunakan dalam penelitian (Diniatik, 2015). Determinasi tumbuhan ini dilakukan agar spesies tumbuhan yang diteliti sama dengan beberapa penelitian sebelumnya yang berfokus pada spesies *Tabernaemontana macrocarpa* Jack. Hasil determinasi (011/UN.17.8.5.7.16/HA/II/2021)

menunjukkan bahwa spesies daun selutui puka yang digunakan adalah *Tabernaemontana macrocarpa* Jack. Spesies tumbuhan tersebut juga digunakan pada penelitian Handayani dkk, (2019) yang telah melakukan skrining metabolit sekunder pada bagian daun dan Soemarie dkk, (2019) yang telah melakukan penelitian uji aktivitas antibakteri pada ekstrak etanol daun selutui puka terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Setiap tahapan dalam proses simplisia memiliki tujuan atau fungsi tersendiri. Salah satunya adalah tahap sortasi basah, yang bertujuan untuk memisahkan bahan simplisia dari kotoran atau bahan asing lainnya yang mungkin terdapat pada bahan tersebut. Pencucian bahan bertujuan untuk menghilangkan kotoran-kotoran yang ada pada bahan. Terdapat beberapa bahan simplisia yang memerlukan proses perajangan yang fungsinya untuk mempercepat proses pengeringan serta memudahkan dalam proses pengepakan dan penggilingan. Simplisia yang telah dirajang akan dikeringkan dan fungsi dari pengeringan ini adalah untuk mendapatkan simplisia yang baik, yaitu yang dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama dan tidak

mudah rusak, sehingga mutu simplisia dapat terjaga (Prasetyo dan Inorah, 2013).

Ekstraksi pada penelitian ini dilakukan dengan metode maserasi, proses pengadukan pada metode maserasi ditujukan untuk mempercepat proses ekstraksi (Nugroho, 2017). Hasil ekstraksi dari 300 g simplisia daun selutui puka dengan maserasi menggunakan 3 liter pelarut etanol 70% diperoleh ekstrak etanol daun selutui puka sebanyak 38,52 g dengan nilai rendemen sebesar 12,84%. Hasil rendemen tersebut berbeda dengan hasil rendemen ekstrak selutui puka telah dilakukan Apriliana dkk, (2019) yang menunjukkan besaran rendemen sebanyak 24,37%. Setelah dilakukan ekstraksi selanjutnya dilakukan fraksinasi dengan tujuan untuk memisahkan senyawa-senyawa zat aktif dari ekstrak yang telah dihasilkan dari metode ekstraksi sebelumnya (Nuria dkk, 2014). Metode fraksinasi yang digunakan adalah *liquid-liquid extraction* dengan cara ekstrak dilarutkan dalam suatu pelarut kemudian ditambahkan jenis pelarut yang memiliki polaritas yang berbeda dan keduanya tidak dapat bercampur (Nugroho, 2017).

Hasil rendemen dari masing-masing fraksi aktif daun selutui puka dapat dilihat pada **Tabel 1** di bawah ini:

Tabel 1. Hasil Rendemen Fraksi Aktif Daun Selutui Puka

Fraksi	Rendemen (%)
Etanol-Air	64,5
Etil Asetat	12,4
N-Heksana	4,83

Nilai rendemen menurut Dewastisari dkk, (2018), berkaitan dengan banyaknya kandungan bioaktif yang terkandung pada tumbuhan. Suatu rendemen ekstrak bila

menunjukkan hasil semakin tinggi menandakan bahwa kandungan zat yang tertarik pada suatu bahan baku juga semakin tinggi (Budiyanto, 2015).

Rendemen fraksi etil asetat lebih kecil dari fraksi etanol-air, namun lebih besar dari fraksi n-heksana. Hal ini diduga karena di dalam etil asetat terdapat gugus metoksi yang dapat membuat etil asetat membentuk ikatan hidrogen dengan senyawa yang ada pada selutui puka. Ikatan hidrogen yang terbentuk lebih lemah dari ikatan hidrogen pada etanol-air yang menyebabkan hasil rendemen dari

pelarut etil asetat lebih sedikit. Rendemen dengan pelarut n-heksana memiliki nilai rendemen terkecil yang menandakan bahwa senyawa bioaktif nonpolar pada daun selutui puka berjumlah sedikit (Romadanu dkk, 2014).

Hasil skrining fitokimia pada fraksi aktif dapat dilihat pada **Tabel 2** sebagai berikut:

Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia Fraksi Aktif Daun Selutui Puka

No.	Pelarut	Hasil Pengamatan					
		Alkaloid	Flavonoid	Saponin	Tanin	Steroid	Terpenoid
1	Etanol-Air	-	+	+	-	-	-
2	Etil Asetat	-	+	-	+	+	-
3	N-Heksana	+	-	-	-	+	-

Keterangan:

(+) = Mengandung metabolit sekunder

(-) = Tidak mengandung metabolit sekunder

Tabel 2 menunjukkan bahwa fraksi etanol-air memiliki kandungan senyawa flavonoid dan saponin, fraksi etil asetat mengandung senyawa flavonoid, tanin dan steroid, fraksi N-heksana mengandung senyawa alkaloid dan steroid. Hasil ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang telah melakukan skrining pada daun selutui puka yang menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun selutui puka positif mengandung alkaloid, flavonoid, tanin, saponin dan steroid (Handayani dkk, 2019).

Senyawa metabolit sekunder alkaloid dan steroid dapat ditarik melalui pelarut fraksi N-heksana yang bersifat non polar, sedangkan senyawa metabolit sekunder flavonoid, tanin dan steroid lebih mudah ditarik pada pelarut fraksi semi polar seperti etil asetat. Senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid dan tannin dapat ditarik pada pelarut fraksi yang lebih polar seperti etanol-air. Hasil skrining ini menunjukkan bahwa fraksi etanol-air, etil

asetat dan N-heksana memiliki kandungan metabolit sekunder berdasarkan polaritas yang berbeda.

Pengujian aktivitas antibakteri dalam tahapannya terdapat pengujian kekeruhan suspensi bakteri dengan menggunakan metode standar Mc Farland. Metode standar Mc Farland digunakan untuk mengukur kekeruhan suspensi bakteri, sehingga kepadatan bakteri dapat dikendalikan dalam rentang yang ditentukan. Suspensi bakteri yang disiapkan kemudian dibandingkan dengan larutan standar Mc Farland untuk menentukan kekeruhan relatif. Mc Farland 0,5 digunakan sebagai acuan untuk menyesuaikan atau mengasumsikan kekeruhan suspensi bakteri agar jumlah bakteri berada dalam kisaran yang ditetapkan untuk standarisasi pengujian mikroba (Sharah dkk, 2015;Haryadi dan Cynthia, 2014).

Hasil dari pengukuran kekeruhan suspensi bakteri dengan menggunakan alat spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm diperoleh persen transmisi untuk suspensi bakteri yang digunakan dalam penelitian ini sebesar 59,1567% yang setara dengan persen transmisi dari standar Mc Farland 0,5

sebesar 74,3%. Hasil dari Mc Farland yang telah diukur dengan spektrofotometer menandakan bahwa jumlah bakteri yang terdapat di dalam suspensi bakteri tersebut sebanyak $1,5 \times 10^8$ /ml, jumlah bakteri tersebut berdasarkan standar Mc Farland 0,5.

Tabel 3. Hasil Pengukuran Zona Hambat Fraksi Aktif, Kontrol Positif dan Negatif

No.	Sampel	Konsentrasi (%)	Rata-rata Zona Hambat (mm) ± SD	Kategori Zona Hambat (Davis dan Stout, 1971)
1	Etanol-Air	5	2,88 ± 4,98	Lemah
		10	5,33 ± 4,63	Sedang
		15	6,06 ± 5,31	Sedang
2	Etil Asetat	5	2,54 ± 4,39	Lemah
		10	6,81 ± 0,78	Sedang
		15	7,81 ± 0,82	Sedang
3	N-Heksana	5	6,50 ± 0,38	Sedang
		10	8,35 ± 1,02	Sedang
		15	5,83 ± 5,05	Sedang
4	Klindamisin	0,1	35,45 ± 0,07	Sangat kuat
5	DMSO	1	0,00 ± 0,00	Tidak ada zona hambat

Tabel 3 menunjukkan bahwa zona hambat yang terbentuk secara berurutan dari yang terbesar hingga terkecil pada aktivitas antibakteri pada konsentrasi 5% adalah fraksi n-heksana dengan zona hambat sebesar 6,50 mm, fraksi etanol-air dengan zona hambat 2,88 mm, dan fraksi etil asetat sebesar 2,54 mm. Zona hambat yang terbentuk pada konsentrasi 10% dari yang terbesar hingga terkecil secara berurutan yaitu fraksi n-heksana sebesar 8,35 mm, fraksi etil asetat dengan zona hambatnya 6,81 mm, dan fraksi etanol-air sebesar 5,33 mm. Konsentrasi 15% pada masing-masing fraksi dari yang terbesar hingga terkecil yaitu fraksi etil asetat dengan zona hambat sebesar 7,81 mm, fraksi etanol-air sebesar 6,06 mm, dan fraksi n-heksana dengan zona hambatnya 5,83 mm. Aktivitas antibakteri pada fraksi aktif daun selutui puka memiliki kategori zona hambat lemah hingga sedang juga

ditunjukkan pada aktivitas antibakteri pada ekstrak etanol daun selutui puka yang sama-sama menggunakan konsentrasi 5%, 10% dan 15%. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menaikkan konsentrasi untuk melihat potensi zona hambat yang lebih kuat.

4. KESIMPULAN

Fraksi N-heksana mengandung metabolit sekunder alkaloid dan steroid, fraksi etil asetat mengandung flavonoid, tanin dan steroid, fraksi etanol-air mengandung flavonoid dan saponin. Fraksi etanol-air menghasilkan zona hambat sebesar 2,88 mm (5%), 5,33 mm (10%) dan 6,06 mm (15%). Fraksi etil asetat sebesar 2,54 mm (5%), 6,81 mm (10%) dan 7,81 mm (15%). Fraksi n-heksana sebesar 6,50 mm (5%), 8,35 mm (10%), dan 5,83 mm (15%). Zona hambat kontrol positif pada klindamisin 0,1% sebesar 35,45 mm

dan kontrol negatif DMSO 1% adalah 0 mm. Fraksi aktif daun selutui puka (*Tabernaemontana macrocarpa* Jack.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dengan kategori lemah hingga sedang.

DAFTAR PUSTAKA

- Ansari, S., Gautam, R., Shreistha, S., Ansari, S.R., Subeidi, S.N., & Chheitri, M.R. (2016). Risk factors asseissmeint for nasal colonization of *Staphylococcus aureus* and its meithicillin reisistant strainsamong prei-clinical meidical studeints of Neipal. *BioMeidCeintral Reiseiarch Noteis*, 9: 214-221.
- Apriliana, A., Handayani, F., & Ariyanti, L. (2019). Peirbandingan Meitodei Maseirasi dan Reifluks Teirhadap Reindeimein Eikstrak Daun Seilutui Puka (Tabeirnaeimontana macrocarpa Jack.). *Jurnal Farmasi Galeinika*, 6(1):33-42.
- Budiyanto, M.S.A. (2015). *Poteinsi Antioksidan, Inhibitor Tirosinasei, Dan Nilai Toksisitas dari Beibeirapa Speisieis Tanaman Mangrovei di Indoneisia*, Institut Peirtanian Bogor, Bogor.
- Davis, W.W., & Stout, T.R. (1971) Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay. *Applied Microbiology*, 22(1): 659-665.
- Deiparteimein Keiseihatan Reipublik Indoneisia. (1989). *Mateiri Meidika Indoneisia Jilid V*, Deiparteimein Keiseihatan Reipublik Indoneisia, Jakarta.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1995). *Farmakope Indonesia Edisi IV*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Deiparteimein Keiseihatan Reipublik Indoneisia. (2008). *Farmakopei Heirbal Indoneisia Eidisi I*, Deiparteimein Keiseihatan Reipublik Indoneisia, Jakarta.
- Deiwastisari, W.F., Rumiyan, L., & Rakhmawati, I. (2018). Reindeimein dan Skringing Fitokimia pada Eikstrak Daun Sanseivieira sp. *Jurnal Peineilitian Peirtanian Teirapan*, 17(3): 197-202.
- Diniatik. (2015). Peineintuan Kadar Flavonoid Total Eikstrak Eitanolik Daun Keipeil (*Steileichocarpus burahol* (Bl.) Hook f. & Th.) Deingan Meitodei Speiktrofotomeitri. *Kartika-Jurnal Ilmiah Farmasi*, 3(1):1-5.
- Ekawati, A.R., Supriningrum, R., & Handayani, F. (2023). Karakterisasi Ekstrak Etanol Daun Selutui Puka (*Tabernaemontana macrocarpa* Jack.). *Jurnal Ilmu Farmasi dan Farmasi Klinik*, 20(1):43-52.
- Febriani, N.W. (2014). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol dan Fraksi-Fraksi Dari Ekstrak Etanol Daun Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis* serta Profil KLTnya. *Naskah Publikasi*, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.
- Handayani, F., Apriliana, A., & Natalia, H. (2019). Karakteirisasi dan Skringing Fitokimia Simplisia Daun Seilutui Puka (Tabeirnaeimontana macrocarpa Jack). *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 4(1):49-58.
- Hariyadi, R.D., & Cynthia. (2014). Inaktivasi Bakteri Patogen Planktonik dan Biofilm oleh Sanitaiser Komersial. *Jurnal Mutu Pangan*, 1(2): 110-117.
- Lay, B.W. (1994). *Analisis Mikroba Di Laboratorium*, PT. Raja Grafindo Peirsada, Jakarta.
- Marjoni, M.R. (2019). *Modul Praktikum Fitokimia*, Bitreiad Digital Publishing, Jakarta.
- Marliana, E., & Saleh, C. (2011). Uji Flitokimia dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Etanol Fraksi Heksana, Etil Asetat dan Metanol dari Buah Labu Air (*Legenari siceraria*) (Moliana). *Jurnal Kimia Mulawarman*, 8(2):63-69.
- Ngajow, M., Jeimmy, A., & Vanda, S.K. (2013). Peingaruh Antibakteiri Eikstrak Eitanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L) Teirhadap Bakteiri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Eischeirichia coli* ATCC 25922 dan *Salmoneilla typi* ATCC 1408. *Meidiagro*, 5(2):26-37.

- Nugroho A. (2017). *Buku Ajar Teiknologi Bahan Alam*,Lambung Mangkurat Univeirsity Preiss, Banjarmasin.
- Nuria, M.C., Chabibah, Z., Banu, S., &Fithria, R.F. (2014). Peineilusuran Poteinsi Fraksi n-Heiksan dan Eetil Aseitad dari Eikstrak Meitanol Daun Gugur Keitapang (Teirminalia catappa L.) Seibagai Antidiarei. *Prosiding Seiminar Nasional Peirkeimbangan Teirbaru Peimanfaatan Heirbal Seibagai Agein Preiveintif Pada Teirapi Kankeir*, 163-173.
- Praseityo, M.S., dan Inoriah, S.Ei. (2013). *Peingeilolaan Budaya Tanaman Obat-obatan (Bahan Simplisia)*, Badan Peineirbitan Fakultas Peirtanian UNIB, Beingkulu: 1-155.
- Romadanu, Rachmawati, S.H., &Leistari, S.D. (2014). Peingujian Aktivitas Antioksidan Eikstrak Bunga Lotus (Neilumbo nucifeira). *Jurnal FishteicH*, 3(1): 1-7.
- Sharah, A., Karnila, R., Desmelati. 2015. Pembuatan Kurva Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat Yang Diisolasi Dari Ikan Peda Kembung (Rastrelliger sp.). *JOM*.
- Soeimariei, Y.B., Handayani, F., &Annisa, Ei.N. (2018). Uji Aktivitas Antibakteiri Eikstrak Eitanol Daun Seilutui Puka (Tabeirnaeimontana macrocarpa Jack.) Teirhadap Bakteiri Staphylococcus aureus. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 3(2): 266-274.
- Tillei, P.M. (2017). *Baileiy & Scott's: Diagnostic Microbiology. 14thedition*, St. Louis Missouri: Eilseiveiir; 2017.
- Tokajian S. (2014). Neiw eipideimiologyof Staphylococcus aureus infeictions in theimiddleieiaist. *Clinical Microbiology AndInfeiction (CMI)*. 20(7): 624-628.
- Volk, W.A., & Wheieileir, M.F. (1993). *Mikrobiologi Dasar Eidisi Keilima Jilid I*, Eirlangga, Jakarta.
- Walteir, L.B.M., Ivo, J.C., Mathias, L., Fillo, R.B. (2001). Schripseima J. A Neiw Natural Quarteinary Indolei Alkaloid From Tabeirnaeimontana laeita Mart. *J. Braj. Chem. Soc.* 12(3): 368-372.
- Wijayati, N., Astutiningsih, C., & Mulyati, S. (2014). Transformasi α -Pineina deingan Bakteiri Pseiidomonas aeiruginosa ATCC 25923. *Biosaintifika Journal of Biology & Biology Eiducation*, 6(1): 24-28.
- Yusmaniar, Wardiyah, & Nida, K. (2017). *Mikrobiologi dan Parasitologi*, Keimeinteirian Keiseihatan Reipublik Indoneisia, Jakarta.



Copyright © 2023 The author(s). You are free to **Share** — copy and redistribute the material in any medium or format. **Adapt** — remix, transform, and build upon the material. Under the following terms: **Attribution** — You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made. You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggests the licensor endorses you or your use. **NonCommercial** — You may not use the material for commercial purposes. **ShareAlike** — If you remix, transform, or build upon the material, you must distribute your contributions under the same license as the original. **No additional restrictions** — You may not apply legal terms or technological measures that legally restrict others from doing anything the license permits.