

JURNAL SKRIPSI

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN KERSEN (*Muntingia calabura* L.) DALAM BENTUK SEDIAAN GEL TERHADAP *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Disusun oleh:
Monica Ratnasari
NPM: 130801368



**UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI
YOGYAKARTA
2017**

**Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura L.*)
Dalam Bentuk Sediaan Gel Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli***

***Antibacterial Activity Test of Kersen Leaves Extract (Muntingia calabura L.) In
Gel Forms of Staphylococcus aureus and Escherichia coli***

**Monica Ratnasari¹⁾, B. Boy Rahardjo Sidharta¹⁾, LM. Ekawati
Purwijantiningsih¹⁾**

¹⁾Program Studi Biologi Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya
Yogyakarta

Jl. Babarsari 44, Yogyakarta 55281 Indonesia

Email : monicaamoncha@gmail.com

Intisari

Tanaman kersen memiliki daun yang berlimpah dan memiliki aktivitas antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan adanya aktivitas antibakteri ekstrak metanol dan ekstrak etanol daun kersen dalam bentuk sediaan gel terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, mengetahui ekstrak yang lebih efektif untuk menghambat *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, serta mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak daun kersen yang memiliki zona hambat yang lebih besar dari kedua ekstrak tersebut terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Penelitian ini menggunakan rancangan acak kelompok faktorial dan rancangan acak lengkap faktorial dengan variasi pelarut, variasi konsentrasi, serta macam bakteri yang digunakan. Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah metode ekstraksi sokhletasi, luas zona hambat dilakukan dengan metode difusi agar, pengujian KHM dilakukan dengan metode dilusi cair. Hasil uji zona hambat menunjukkan bahwa ekstrak metanol dan etanol dalam bentuk sediaan gel memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Ekstrak metanol menghasilkan zona hambat yang lebih besar sehingga diuji lebih lanjut untuk KHM. KHM ekstrak metanol daun kersen terhadap *Staphylococcus aureus* adalah 15%, sedangkan KHM ekstrak metanol daun kersen terhadap *Escherichia coli* adalah 25%. Hasil pengujian luas zona hambat dan KHM menunjukkan bahwa *Staphylococcus aureus* lebih mudah dihambat oleh ekstrak metanol daun kersen dibandingkan dengan *Escherichia coli*.

Kata kunci: daun kersen, ekstrak, metanol dan etanol, carbopol, flavonoid

Abstract

Kersen plants have abundant leaves and have antibacterial activity. This study aims to prove the presence of antibacterial activity of methanol extract and ethanol extract of kersen leaves in gel preparation form against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, knowing more effective extract to inhibit *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, and to know Minimum Inhibitory Concentration (MIC) that has largest inhibition zone between two extratcts of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. This study used factorial randomized block design

and complete factorial random design with solvent variations, concentration variations, and the type of bacteria used. The extraction method used in this research is soxhlet extraction method, inhibition zone is done by agar diffusion method, MIC test is done by liquid dilution method. Inhibitory zone test results indicate that methanol and ethanol extracts in gel forms have antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. The methanol extract produced a wider inhibition zone so that it was further tested for MIC. MIC of methanol extract of Kersen leaves on *Staphylococcus aureus* was 15%, while MIC of methanol extract of Kersen leaves to *Escherichia coli* was 25%. The results of the test of the inhibitory zone and MIC showed that *Staphylococcus aureus* was more easily inhibited by methanol of Kersen leaves compared to *Escherichia coli*.

Keywords: kersen leaves, extract, methanol and ethanol, carbopol, flavonoid

Pendahuluan

Salah satu cara yang berperan dalam pemeliharaan kesehatan adalah kegiatan mencuci tangan. Mencuci tangan merupakan salah satu kegiatan yang penting dalam upaya menjaga agar tubuh terhindar dari penyakit-penyakit, khususnya infeksi yang disebabkan oleh mikroorganisme. *Hand sanitizer* diciptakan sebagai jalan keluar dari permasalahan ini. *Hand sanitizer* merupakan pembersih tangan dalam bentuk sediaan gel yang praktis dan mudah dibawa kemana-mana (Benjamin, 2010).

Guna menjaga kebersihan tangan, maka setiap orang harus mencuci tangan sebelum menyentuh produk pangan dan ketika akan melakukan aktivitas atau setelah melakukan aktivitas yang melibatkan bakteri. Upaya pengobatan penyakit menggunakan antibiotika menimbulkan efek negatif pada lingkungan dimana lingkungan tersebut potensial terinfeksi oleh kuman yang sudah resisten antibiotik, resistensi bakteri patogen, dan residu antibiotika. Oleh karena itu, diperlukan pengembangan alternatif antibakteri dari bahan alam untuk pengobatan penyakit ini. Salah satu bahan alam yang bersifat antibakteri adalah ekstrak daun kersen (*Muntingia calabura*) yang mengandung flavonoid, tannin, saponin, polifenol dan triterpenoid/steroid (Arum dkk., 2012). Pengambilan senyawa kimia dari tumbuhan dapat dilakukan dengan beberapa cara, yaitu: Penyulingan (*Distillation*), *Pressing*, Ekstraksi dengan pelarut dan absorpsi oleh penguap lemak padat (*Enfleurage*). Metode penelitian yang digunakan adalah ekstraksi serbuk daun kersen dengan menggunakan larutan etanol dan metanol (Arum dkk., 2012).

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi Sokhlet, cawan petri, cawan porselin, perforator nomor 3, gelas beker, labu ukur, erlenmeyer, blender Maspion, ayakan mesh 90, *Laminair Air Flow* ESCO, *spektrofotometer UV-vis*, *grinder*, timbangan analitik METTLER TOLEDO, timbangan digital TANITA, oven Venticell, mikroskop Olympus CX41, *microwave* Panasonic, inkubator Memmert, kamera Canon 700D, petridish, gelas pengaduk, tabung reaksi, rak tabung reaksi, penjepit tabung reaksi, nampan, gelas ukur, pinset, pisau, pipet tetes, *rotary evaporator* IKA RV06-ML KIKA WERKE, *vortex* 37600 Mixer Termolyne, *autoclave* STMN-Y222 OMRON, pipet ukur dan propipet, mikrotip,

tempat pembuangan tip, mikropipet BIOHIT, jarum ose, jarum enten, trigalski, *drop plate*, *sprayer*, lampu spiritus, kertas payung, kertas saring, plastik, plastik *wrap*, karet, label, *aluminium foil*, korek api, gelas kaca, tabung Durham, kompor, panci, talenan, plastik wrap, sendok dan tisu.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun kersen sebanyak 5 kg yang diperoleh dari Kebun Percobaan Biologi Kampus 2 Gedung Thomas Aquinas, biakan murni *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* yang diperoleh dari LPPT Universitas Gadjah Mada Yogyakarta, kontrol positif *ampicillin disc* 50mg OXOID, kontrol positif *gel hand sanitizer*, basis gel carbopol, metanol PA, etanol PA, DMSO (*dimethyl sulfoxide*), aquadest steril, medium *Nutrien Agar* (NA), medium *Nutrien Broth* (NB), serbuk Mg, amil alcohol, alcohol 70%, medium glukosa cair, medium sukrosa cair, medium laktosa cair, kloroform, amoniak, H₂SO₄ 2M, *phenol red*, larutan Ehrlich FeCl₃, reagen Dragendorf, Meyer, dan Wagner, asam asetat 10%, FeCl₃ 1%, kalium heksasianoferrat(III) 0,008 M, asetat anhidrat, asam klorida, ferriklorida 0,1 M, *petroleum eter*, H₂O₂, *cat Gram A*, *cat Gram B*, *cat Gram C*, *cat Gram D*.

Rancangan Percobaan

Penelitian ini dilakukan dengan Rancangan Acak Kelompok Faktorial dan Rancangan Acak Lengkap Faktorial dengan perlakuan variasi pelarut ekstraksi serta variasi konsentrasi ekstrak daun kersen dan basis gel. Penelitian ini dilakukan dengan pengulangan sebanyak lima kali ulangan setiap perlakuan yang diuji terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Penelitian ini menggunakan kontrol positif (*Ampicillin*, *gel hand sanitizer*) dan kontrol negatif (DMSO, metanol, etanol dan basis gel).

Tahapan Penelitian

1. Penyortiran dan Pengeringan Daun Kersen

Daun kersen disortir untuk didapatkan daun yang segar tidak terlalu tua dan tidak terlalu muda dengan ukuran yang seragam sedang (6-11) cm x (2-3) cm. Daun kersen kemudian dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan dengan oven suhu 55°C untuk memudahkan pembuatan serbuk daun kersen (Haki, 2009 dengan modifikasi).

2. Pembuatan Serbuk Kersen

Prosedur pembuatan serbuk daun kersen adalah daun kersen yang sudah diambil dilayukan dan di-oven dengan suhu 60 °C selama 24 jam. Daun yang telah kering kemudian dihaluskan dengan grinder dan diayak dengan ayakan 77 mesh untuk mendapatkan ukuran yang lebih seragam. Serbuk ditimbang dan kemudian dibungkus dengan menggunakan kertas saring untuk keperluan ekstraksi dengan metode sokhletasi (Arum dkk., 2012 dengan modifikasi).

3. Ekstraksi Daun Kersen

Simplisia yang telah berbentuk serbuk halus kemudian dilanjutkan ke percobaan yang ketiga yaitu ekstraksi (penyarian) yang dilakukan menggunakan sokhlet berturut-turut dengan pelarut etanol dan metanol hingga seluruh komponen terekstraksi. Serbuk halus ditimbang sebanyak 100 gram kemudian dibungkus dengan menggunakan kertas saring yang kemudian dimasukkan ke dalam wadah sokhlet. Pelarut yang digunakan masing-masing adalah 500 mL yang kemudian

dilakukan ekstraksi hingga pelarut yang jatuh ke dalam labu sokhlet tidak berwarna lagi (Arum dkk., 2012).

4. Pengujian Fitokimia

a. Uji Flavonoid

1. Uji Kualitatif

Ekstrak diambil sebanyak 0,1 gram dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Serbuk magnesium 0,1 gram dan amil alkohol 0,4 ml ditambahkan ke dalam tabung reaksi. Alkohol sebanyak 4 ml ditambahkan pula dan dicampur hingga homogen. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol (Cowan, 1999).

2. Uji Kuantitatif (Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu, 2017)

Total flavonoid diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer dengan baku standar quercetin pada panjang gelombang 510 nm. Total flavonoid dihitung menggunakan rumus di bawah ini:

$$\text{Total flavonoid (\% b/b)} = \frac{\text{Hasil pembacaan (ppm)}}{\frac{1000 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times \text{Berat sampel} \times 1000} \times 100\%$$

b. Uji Alkaloid

Ekstrak diambil sebanyak 0,1 gram kemudian ditambahkan dengan 5 ml kloroform dan 3 tetes amoniak. Fraksi kloroform dipisahkan dan diasamkan dengan 2 tetes H₂SO₄ 2M. Fraksi asam dibagi menjadi 3 tabung yang masing-masing ditambah pereaksi Dragendorf, Meyer, dan Wagner. Alkaloida pada sampel ditandai dengan adanya endapan putih pada pereaksi Meyer, endapan merah pada pereaksi Dragendorf dan endapan cokelat pada pereaksi Wagner (Harborne, 1987).

c. Uji Triterpenoid atau Steroid

Ekstrak diambil sebanyak 0,1 gram dan dipindahkan ke *drop plate*. Larutan asetat anhidrat sebanyak 3 tetes dan larutan H₂SO₄ pekat 1 tetes ditambahkan pada ekstrak. Hasil positif pada percobaan ini yaitu terbentuk warna merah untuk hasil positif triterpenoid dan warna hijau untuk hasil positif steroid (Harborne, 1987).

d. Uji Tanin

Ekstrak diambil sebanyak 0,1 gram dan dimasukkan pada tabung reaksi. Akuades ditambahkan sebanyak 10 ml dan dikocok. Sampel didiamkan selama 5 menit. Sampel disaring dengan kertas saring dan filtrat ditampung dalam tabung reaksi lain. Filtrat ditambah dengan 5 tetes FeCl₃ 1% dan dikocok. Reaksi positif dari percobaan ini adalah terbentuk warna hijau kehitaman (Harborne, 1987).

e. Uji Saponin

Ekstrak diambil 0,1 gram dan dimasukkan pada tabung reaksi. Akuades ditambahkan sebanyak 10 ml dan dikocok selama 30 detik. Hasil positif dari percobaan ini adalah terbentuk busa tebal ± 1 cm yang konstan (Harborne, 1987).

5. Pembuatan Medium Untuk Pertumbuhan Bakteri Uji

a. Medium Nutrien Agar (NA) (Sarah dkk., 2010 dengan modifikasi)

Bubuk NA ditimbang sebanyak 2,8 gram kemudian dilarutkan dalam 100 ml akuades steril pada gelas beker, selanjutnya dipanaskan di atas penangas dan diaduk secara perlahan-lahan. Setelah NA larut semua kemudian diangkat dan dituangkan ke dalam cawan petri dan didiamkan hingga memadat. Medium

NA kemudian dibungkus dengan kertas payung dan disterilkan dalam *autoclave* dengan suhu 121 °C selama 15 menit tekanan 1 atm.

b. Medium *Nutrien Broth Cair* (NB) (Sarah dkk., 2010 dengan modifikasi)

Medium NB dibuat untuk mengukur konsentrasi hambat minimum dengan cara melarutkan 1,3 gram bubuk medium NB dalam 100 ml akuades dalam gelas beker. Larutan dipanaskan sampai bubuk medium NB benar-benar larut. Gelas beker kemudian ditutup rapat dengan menggunakan kapas dan kertas payung. Medium dilakukan sterilisasi menggunakan *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121°C.

6. Pembuatan Sediaan Gel

Basis gel carbopol 940P sebanyak 1 gram ditambahkan 100 ml akuadest. Setelah tercampur basis gel kemudian ditambah dengan variasi konsentrasi dari ekstrak kersen dan dihomogenkan dengan menggunakan *vortex*. Konsentrasi masing-masing kombinasi dikelompokkan menjadi kontrol negatif (-) untuk 100% basis gel tanpa penambahan ekstrak (0%), ekstrak ekstrak kersen 25% dicampur basis gel 75%, ekstrak kersen 50% dicampur basis gel 50%, ekstrak kersen 75% dicampur basis gel 25% (Anggraini dkk., 2013 dengan modifikasi).

7. Pengujian Aktivitas Antibakteri Berdasarkan Luas Zona Hambat dengan Metode Sumuran

Kultur bakteri uji diambil sebanyak 0,1 ml dan diinokulasi pada medium NA dengan metode *spread plate*. Pembuatan sumuran pada medium NA dilakukan dengan menggunakan perforator nomor 3 dan dibuat sumuran sebanyak 5 lubang. Jarak masing-masing lubang kira-kira 20 mm dari tepi cawan petri. Variasi konsentrasi ekstrak kersen dan konsentrasi basis gel dimasukkan ke dalam cawan petri sebanyak 80 µl dan inkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C. Diameter penghambatan digambar dan diukur berdasarkan daerah bening yang terbentuk di sekitar sumuran kemudian hasil di foto (Parhusip dkk., 2005 dengan modifikasi).

Luas zona hambat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut ini (Volk dan Wheeler. 1993):

$$\text{Luas zona hambat} = 3,14 \times \left(\frac{d2}{2}\right)^2 - \left(\frac{d1}{2}\right)^2$$

Keterangan:

d1 : diameter sumuran (cm) d2 : rata-rata diameter zona hambat (cm)

8. Pengukuran Konsentrasi Hambat Minimum

Pengukuran Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dapat dilakukan dengan menggunakan metode seri pengenceran atau *Broth dilution test*. Medium NB sebanyak 1 ml ditambahkan dengan variasi konsentrasi antara basis gel dan ekstrak kersen sebanyak 100 µl kemudian dihomogenkan dengan menggunakan *vortex*. Selanjutnya masing-masing seri pengenceran ditambah dengan 10 µl biakan bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dan dihomogenkan kembali dengan menggunakan *vortex*. Setelah itu masing-masing dari setiap seri pengenceran konsentrasi basis gel dan ekstrak kersen diambil sebanyak 100 µl dan dilakukan *spread plate* ke dalam cawan petri dan diratakan dengan menggunakan trigalski. Perlakuan ini dilakukan pada

Staphylococcus aureus dan *Escherichia coli* dan masing-masing konsentrasi serta cawan petri yang digunakan. Jumlah koloni dihitung. Hasil difoto sebagai lampiran (Suprianto, 2008; Madigan dkk., 2015 dengan modifikasi).

9. Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian dianalisis menggunakan ANOVA dengan tingkat kepercayaan sebesar 95% pada kedua rancangan percobaan yang digunakan pada penelitian ini. Apabila hasil ANOVA menunjukkan hasil yang beda nyata, dilanjutkan dengan *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) untuk mengetahui beda nyata antarperlakuan. Analisis data dilakukan dengan menggunakan program SPSS 20.0 (Gaspersz, 2004).

Hasil dan Pembahasan

Daun kersen dikeringkan dengan metode panas kering menggunakan oven selama 2-3 hari dengan suhu 50°C karena suhu 50°C mampu mengeringkan bahan dengan aman tanpa adanya pencemaran akibat lingkungan yang tidak bersih karena dilakukan secara tertutup dengan menggunakan oven (Hernani dan Marwati, 2012). Pengeringan tumbuhan harus dilakukan secepatnya setelah pencucian, tanpa menggunakan suhu tinggi (kurang dari 60°C), karena suhu tinggi dapat mengubah dan merusak kandungan fitokimia yang terkandung dalam suatu bahan (Harborne, 1987).

Rendemen ekstrak yang diperoleh dari proses ekstraksi metode sokhletasi dengan menggunakan pelarut metanol dan etanol ini dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rendemen ekstrak daun kersen

Pelarut Ekstraksi	Berat serbuk (g)	Berat ekstrak (g)	Rendemen ekstrak (%)
Etanol	100	9,0354	9,04 %
Metanol	100	11,3714	11,37 %

Hasil rendemen ekstrak daun kersen pada ekstraksi dengan menggunakan metode sokhletasi terhadap 100 gram serbuk kersen pada masing-masing pelarut metanol adalah 11,37% sedangkan pada pelarut etanol adalah 9,04%. Menurut Puspitasari dan Proyogo (2016) hasil rendemen dengan menggunakan metode sokhletasi dengan pelarut etanol terhadap 100 gram serbuk daun kersen adalah 28,92%. Kelebihan dari metode sokhletasi ini adalah proses ekstraksi yang bersifat kontinyu dan sampel terekstraksi oleh pelarut murni hasil kondensasi sehingga rendemen yang dihasilkan banyak.

Hasil ekstraksi daun kersen dengan pelarut metanol dan etanol yang telah berbentuk pasta ini diuji dengan menggunakan beberapa pereaksi yang bersifat spesifik sehingga dapat berinteraksi dengan sampel berdasarkan dengan prinsip "*like dissolve like*". Hasil skrining fitokimia kualitatif ekstrak daun kersen dengan pelarut metanol dan etanol dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Kandungan Fitokimia Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura L.*) Pelarut Metanol dan Etanol

Uji Fitokimia		Ekstrak Metanol	Ekstrak Etanol
Alkaloid	Reagen Mayer	-	-
	Reagen Wagner	+	-
	Reagen Dragendorff	+	+
Flavonoid		+	+
Saponin		+	+
Tanin		+	+
Terpenoid		-	-
Steroid		+	+

Keterangan:

+ : menunjukkan adanya kandungan senyawa tersebut

- : menunjukkan tidak adanya kandungan senyawa tersebut

Hasil uji alkaloid terhadap ekstrak daun kersen dengan pelarut metanol menunjukkan hasil negatif pada uji Mayer karena tidak menghasilkan endapan putih dan uji positif pada uji Wagner karena menghasilkan endapan cokelat dan uji Dragendorff karena menghasilkan endapan merah kecokelatan. Hasil uji alkaloid terhadap ekstrak daun kersen dengan pelarut etanol memberikan hasil negatif pada uji Mayer karena tidak menghasilkan endapan putih dan uji Wagner karena tidak menghasilkan endapan cokelat, hasil positif pada uji Dragendorff karena menghasilkan endapan merah kecokelatan.

Reaksi positif terhadap flavonoid membentuk warna merah pekat setelah direaksikan dengan HCl dan serbuk Mg. Flavonoid merupakan senyawa polar karena memiliki sejumlah gugus hidroksil yang tidak tersubstitusi. Ekstraksi senyawa flavonoid dari suatu tanaman dilakukan dengan menggunakan pelarut polar seperti metanol dan etanol (Cowan, 1999).

Hasil positif uji saponin secara kualitatif ditandai dengan terbentuknya buih yang stabil pada ekstrak daun kersen dengan pelarut metanol dan etanol. Ekstrak ditambahkan aquadest sebanyak 10 mL kemudian dikocok selama kurang lebih 30 detik. Aquades akan berikatan dengan gugus hidrofilik saponin pada saat pengocokan. Buih akan terbentuk karena gugus hidrofobik berikatan dengan udara (Kumalasari dan Sulistyani, 2011). Hasil positif dari uji saponin adalah terbentuknya buih setelah terjadi pengocokan yang membuktikan adanya glikosida yang dapat membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Marliana dkk., 2005). Kedua pelarut metanol dan etanol dapat mengekstrak saponin dari daun kersen dengan baik yang ditunjukkan dengan terbentuknya buih sebagai hasil positif uji saponin (Arum dkk., 2012).

Hasil positif uji tannin menunjukkan warna biru kehitaman setelah penambahan $FeCl_3$ yang diakibatkan oleh senyawa tannin mengalami proses hidrolisis (Simaremare, 2014). Uji tannin pada kedua ekstrak daun kersen dengan pelarut metanol dan etanol memberikan hasil positif pada uji tannin sesuai dengan yang diujikan oleh Arum dkk. (2012) ditunjukkan dengan adanya perubahan warna menjadi warna biru setelah penambahan $FeCl_3$.

Triterpenoid atau steroid secara kualitatif pada ekstrak dapat diujikan dengan uji Liebermann Burchard. Kedua ekstrak daun kersen dengan pelarut metanol dan etanol mengalami perubahan warna menjadi warna hijau tua kebiruan setelah ditambah dengan pereaksi Liebermann Burchard (3 tetes asetat anhidrat dan 1 tetes larutan H_2SO_4). Hal ini menunjukkan bahwa kedua ekstrak daun kersen dengan pelarut metanol dan etanol mengandung steroid. Terdapat beberapa tipe steroid yaitu steroid dengan kepolaran sangat rendah dan tidak polar, kepolaran sedang, hingga kepolaran sangat tinggi. Sifat kepolaran steroid tersebut menyebabkan steroid dapat terekstrak oleh pelarut etanol (Bush, 1961) dan metanol (Arum dkk., 2012).

Hasil uji kualitatif fitokimia terhadap ekstrak daun kersen dengan pelarut metanol dan etanol mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tannin dan steroid. Uji fitokimia ekstrak daun kersen dengan pelarut metanol dan etanol menurut Arum dkk. (2012) mengandung senyawa flavonoid, saponin, tannin, steroid, triterpenoid. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian sebelumnya kecuali tidak adanya triterpenoid dikarenakan warna yang terbentuk adalah hijau kebiruan yang menandakan bahwa senyawa kimia yang terkandung pada ekstrak adalah steroid.

Uji kuantitatif terhadap senyawa kimia flavonoid dilakukan terhadap ekstrak daun kersen yang diekstraksi dengan menggunakan pelarut metanol karena ekstrak dengan pelarut metanol menghasilkan zona hambat yang lebih besar dibandingkan dengan ekstrak dengan pelarut etanol. Uji kuantitatif flavonoid dilakukan untuk mengetahui kadar flavonoid yang dikandung oleh ekstrak daun kersen dengan pelarut metanol. Hasil uji kuantitatif menunjukkan kadar flavonoid total yang terkandung pada ekstrak daun kersen dengan pelarut metanol adalah sebesar 12,62 %b/b. Kadar flavonoid ekstrak daun kersen dengan pelarut metanol yang dihasilkan pada penelitian Manik dkk. (2014) adalah sebesar 5,624 %b/b. Perbedaan kadar flavonoid total yang dihasilkan pada penelitian ini dengan penelitian sebelumnya dapat disebabkan oleh perbedaan jumlah serbuk yang digunakan serta perbedaan metode ekstraksi maserasi dan sokhletasi.

Pembuatan sediaan gel dilakukan dengan pertama-tama melarutkan 1 gram basis gel Carbopol 940P dengan menggunakan aquadest steril sebanyak 100 mL pada gelas beker lalu diaduk dengan menggunakan gelas pengaduk hingga homogen. Larutan Carbopol yang telah diaduk kemudian didiamkan selama 24 jam hingga mengembang menjadi basis gel (Kurniawan dkk., 2012). Gel yang telah homogen kemudian dicampurkan bersama dengan ekstrak pada cawan porselin dengan menggunakan mortar. Pada penelitian Prastianto (2016), digunakan konsentrasi Carbopol 940P 15, 30, 45, 60, 75 dan 90%. Carbopol 940P digunakan sebagai *gelling agent* dan memiliki keuntungan yakni dapat dicampurkan dengan banyak zat aktif seperti. Carbopol dapat membantu daya sebar antibakteri yang baik.

Zona hambat yang dihasilkan oleh ekstrak daun kersen dengan pelarut metanol dan etanol terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dianalisis menggunakan uji ANAVA (*Analysis of Variance*) dan dilanjutkan dengan uji DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) untuk mengetahui efektivitas ekstrak terhadap bakteri uji dibandingkan dengan kontrol positif dan kontrol

negatif. Hasil uji beda nyata luas zona hambat ekstrak dan kontrol dapat dilihat pada Tabel 3.

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode sumuran pada kedua ekstrak daun kersen dengan pelarut metanol dan ekstrak daun kersen dengan pelarut etanol yang diperoleh. Kontrol positif yang digunakan pada penelitian ini adalah *Ampicillin* OXOID serta kontrol negatif DMSO, pelarut metanol dan etanol. Analisis ANAVA terhadap luas zona hambat yang dihasilkan ekstrak dan kontrol *ampicillin* dalam menghambat *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* menunjukkan hasil nilai yang beda nyata pada tingkat kepercayaan 95%. Berdasarkan hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak daun kersen dengan metode sumuran, ekstrak metanol memiliki daya hambat terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* yang lebih besar dibandingkan dengan ekstrak etanol. Hal ini dibuktikan oleh lebih besarnya luas zona hambat yang dihasilkan oleh ekstrak daun kersen dengan pelarut metanol yakni 2,118 cm² terhadap *Staphylococcus aureus* dan 1,682 cm² terhadap *Escherichia coli*, dibandingkan dengan ekstrak daun kersen dengan pelarut etanol yakni 1,20 cm² terhadap *Staphylococcus aureus* dan 0,764 cm² terhadap *Escherichia coli*. Fraksi metanol memiliki kepekatan paling tinggi berdaya hambat terhadap bakteri lebih kuat sehingga memiliki diameter zona hambat yang lebih besar. Semakin tinggi kadar senyawa bioaktif suatu simplisia maka semakin memengaruhi sifat antibakteri dari simplisia tersebut (Arum dkk., 2012).

Tabel 3. Hasil Analisis Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kersen dengan Pelarut Metanol dan Pelarut Etanol terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Perlakuan	Luas Zona Hambat (LZH) (cm ²)		Rata-Rata
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	
Ekstrak metanol	2,118	1,682	1,900 ^Z
Ekstrak etanol	1,20	0,764	0,9820 ^Y
Kontrol positif (<i>Ampicillin</i>)	2,686	0,742	1,670 ^Z
Kontrol negatif (DMSO)	0	0	0 ^x
Kontrol negatif (Metanol)	0	0	0 ^x
Kontrol negatif (Etanol)	0	0	0 ^x
Rata-Rata	0,994 ^A	0,523 ^B	

Keterangan: Angka yang diikuti dengan huruf yang sama menunjukkan tidak adanya beda nyata pada tingkat kepercayaan 95%.

Rata-rata zona hambat yang dihasilkan ekstrak dan kontrol *ampicillin* lebih luas dalam menghambat *Staphylococcus aureus* dibandingkan terhadap *Escherichia coli*. *Escherichia coli* merupakan bakteri Gram negatif. Bakteri Gram negatif lebih rentan terhadap antibiotik dibandingkan bakteri Gram positif. Bagian luar dari membran luar bakteri Gram negatif terdiri atas lipopolisakarida yang berperan penting dalam fungsi penghalang dari membran luar sel. Membran luar sel bakteri Gram negatif yang berperan penting sebagai *protective barrier*

(penghalang pelindung), mencegah molekul toksik masuk ke dalam sel dan menjadi lapisan tambahan yang menstabilkan keseluruhan sel (Silhavy dkk., 2010). Ekstrak metanol memiliki daya hambat terhadap bakteri yang lebih besar dibandingkan dengan ekstrak etanol yakni daya hambat terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* karena metanol memiliki sifat polar lebih dibandingkan etanol (Arum dkk., 2012).

Berdasarkan rancangan percobaan pertama, uji aktivitas antibakteri ekstrak daun kersen dengan pelarut metanol dan etanol dapat terlihat hasil luas zona hambat yang lebih besar dihasilkan oleh ekstrak daun kersen dengan pelarut metanol yakni dengan rata-rata 1,900 cm² dan 0,982 cm² pada ekstrak etanol. Ekstrak metanol memiliki zona hambat yang tidak jauh berbeda dengan zona hambat yang dihasilkan oleh *Ampicillin*. Uji aktivitas antibakteri metode sumuran juga diujikan kembali pada ekstrak metanol di dalam bentuk sediaan gel. Variasi konsentrasi yang digunakan dalam pembuatan sediaan gel ini adalah 25%:75%, 50%:50%, 75%:25%. Hasil dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Analisis Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kersen dengan Pelarut Metanol terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dalam Bentuk Sediaan Gel

Perlakuan	Luas Zona Hambat (LZH) (cm ²)		Rata-Rata
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	
25% ekstrak + 75% basis gel	2,008	1,578	1,793 ^Y
50% ekstrak + 50% basis gel	3,074	2,234	2,654 ^Y
75% ekstrak + 25% basis gel	4,18	3,238	3,709 ^Z
Kontrol Negatif (Basis Gel)	0	0	0 ^X
Kontrol Positif (<i>Hand Sanitizer</i>)	0	0	0 ^X
Rata-Rata	1,853 ^A	1,41 ^B	

Keterangan: Angka yang diikuti dengan huruf yang sama menunjukkan tidak adanya beda nyata pada tingkat kepercayaan 95%.

Sediaan gel dengan berbagai konsentrasi diujikan zona hambatnya kembali yang kemudian terlihat pada hasil bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka akan semakin tinggi pula zona hambat terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Variasi konsentrasi (ekstrak : basis gel) yang digunakan dalam pembuatan sediaan gel ini adalah 75%:25%, 50%:50%, 25%:75%. Rata-rata zona hambat yang dihasilkan oleh konsentrasi 75% ekstrak + 25% basis gel adalah 2,831 cm², rata-rata zona hambat yang dihasilkan oleh konsentrasi 50% ekstrak + 50% basis gel adalah 1,893 cm², sedangkan rata-rata zona hambat yang dihasilkan oleh konsentrasi 25% ekstrak + 75% basis gel adalah 1,233 cm² dapat terlihat bahwa semakin tinggi ekstrak yang dicampurkan dengan basis gel maka akan semakin tinggi pula zona hambat yang terbentuk.

Pada kontrol positif *hand gel sanitizer* yang beredar di pasaran dan basis gel Carbopol tidak menghasilkan zona hambat yang diduga karena kandungan yang terdapat di dalam *hand gel sanitizer* adalah etanol 70% yang pada kontrol positif tidak menghasilkan zona hambat sehingga tidak mempengaruhi aktivitas antibakteri. Kontrol negatif (DMSO) yang digunakan pada uji zona hambat ini juga dilihat tidak menghasilkan zona hambat dimana basis gel Carbopol tidak memiliki pengaruh antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* hanya digunakan dalam formulasi di dalam pembuatan sediaan gel karena memiliki viskositas atau daya sebar yang baik dan dapat dicampurkan dengan zat-zat lain namun tidak akan memengaruhi sediaan gel (Prastianto, 2016).

Pengujian KHM merupakan uji untuk mengetahui konsentrasi terendah dari senyawa antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan mikrobia uji. Ekstrak daun kersen dengan pelarut metanol merupakan ekstrak yang menghasilkan luas zona hambat yang lebih besar apabila dibandingkan dengan ekstrak daun kersen dengan pelarut etanol. Ekstrak daun kersen dengan pelarut metanol ini kemudian dilanjutkan pada uji KHM, untuk menentukan konsentrasi terendah dari ekstrak tersebut yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji. Berdasarkan pengujian zona hambat yang dilakukan, konsentrasi ekstrak daun kersen dengan pelarut metanol yang digunakan pada uji KHM pada *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* adalah pada konsentrasi 75, 65, 55, 45, 35, 25, 15, dan 5% serta gel *hand sanitizer* sebagai kontrol positif, basis gel Carbopol 940P sebagai kontrol negatif.

Tabel 5. Hasil penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Ekstrak Daun Kersen dengan Pelarut Metanol terhadap *S. aureus* dan *E. coli*

Perlakuan	Jumlah Koloni Terhitung	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
Kontrol positif	0	0
Ekstrak 75%	0	0
Ekstrak 65%	0	0
Ekstrak 55%	0	0
Ekstrak 45%	0	0
Ekstrak 35%	0	0
Ekstrak 25%	0	0
Ekstrak 15%	0	96
Ekstrak 5%	2	112
Kontrol negatif (DMSO)	<i>Spreader</i>	<i>Spreader</i>
Kontrol negatif (Metanol)	<i>Spreader</i>	<i>Spreader</i>
Kontrol negatif (Etanol)	<i>Spreader</i>	<i>Spreader</i>

KHM dari ekstrak ditentukan berdasarkan konsentrasi terendah yang menunjukkan tidak terdapat pertumbuhan koloni bakteri. Hasil dari uji konsentrasi hambat minimum menunjukkan bahwa ekstrak daun kersen dengan pelarut metanol memiliki konsentrasi hambat minimum sebesar 15% untuk *Staphylococcus aureus* dan 25% untuk *Escherichia coli*. Lebih tingginya konsentrasi hambat minimum terhadap *Escherichia coli* dibandingkan dengan

Staphylococcus aureus menunjukkan bahwa untuk menembus membran suatu bakteri Gram negatif yang mengandung lebih kuat fosfatidiletanolamin, diperlukan komposisi senyawa antibakteri yang lebih kuat lagi. Komposisi fosfatidiletanolamin dalam jumlah banyak akan menyebabkan kurang sensitifnya bakteri terhadap suatu senyawa antibakteri (Widyasanti dkk., 2015). Bakteri Gram positif lebih peka terhadap senyawa antibakteri dibandingkan dengan bakteri Gram negatif karena dinding sel bakteri Gram positif tidak memiliki lapisan lipopolisakarida sehingga senyawa antimikroba yang bersifat hidrofilik maupun hidrofobik dapat melewati dinding sel bakteri Gram positif kemudian berinteraksi langsung dengan peptidoglikan pada sel bakteri yang sedang tumbuh dan menyebabkan kematian sel (Kusumawati, 2016). Hasil uji konsentrasi hambat minimum (KHM) kontrol positif dan negatif.

Simpulan dan Saran

A. Simpulan

Berdasarkan penelitian aktivitas antibakteri ekstrak daun kersen (*Muntingia calabura* L.) dalam bentuk sediaan gel terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* yang telah dilakukan, dapat diperoleh simpulan sebagai berikut:

1. Ekstrak daun kersen (*Muntingia calabura* L.) dengan pelarut metanol dan etanol memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.
2. Ekstrak metanol memiliki zona hambat yang lebih baik yakni dengan rata-rata 2,118 cm² pada *Staphylococcus aureus* dan 1,682 cm² terhadap *Escherichia coli*, dibandingkan hasil zona hambat ekstrak etanol yakni 1,2 cm² *Staphylococcus aureus* terhadap dan 0,764 cm² terhadap *Escherichia coli*.
3. Konsentrasi optimal ekstrak metanol daun kersen yang digunakan dalam bentuk sediaan gel adalah 75% yakni dengan rata-rata 4,18 cm² pada *Staphylococcus aureus* dan 3,238 cm² terhadap *Escherichia coli*.
4. Nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak daun kersen pelarut metanol terhadap *Staphylococcus aureus* adalah pada konsentrasi 15%, sedangkan nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak daun kersen pelarut metanol terhadap *Escherichia coli* adalah pada konsentrasi 25%.

B. Saran

Saran yang diajukan bagi penelitian lanjutan yang terkait dengan penelitian aktivitas antibakteri ekstrak daun kersen (*Muntingia calabura* L.) dalam bentuk sediaan gel terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* ini yaitu:

1. Pembuatan serbuk ekstrak dengan ukuran partikel yang lebih kecil dapat dilakukan agar ekstraksi soksletasi dapat berlangsung dengan lebih maksimal, serta melakukan penelitian serupa dengan menggunakan metode ekstraksi yang berbeda misalnya maserasi.
2. Penelitian lanjutan berupa uji kuantitatif terutama untuk senyawa lain seperti tanin, saponin, dan triterpenoid/steroid perlu dilakukan untuk mengidentifikasi secara lanjut dan mengetahui komposisi senyawa fitokimia yang terkandung dalam daun kersen yang memiliki kemampuan antibakteri.
3. Penghitungan jumlah rendemen seharusnya dilakukan dalam lima kali pengulangan.

Daftar Pustaka

- Anggraini, D., Rahmawati, N., dan Hafisah, S. 2013. Formulasi Gel Antijerawat dari Ekstrak Etil Asetat Gambir. *Jurnal Penelitian Farmasi Indonesia*. 1(2): 63.
- Arum, Y. P., Supartono dan Sudarmin. 2012. Isolasi dan Uji Daya Antimikroba Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura*). *Jurnal MIPA* 35(2): 165-174.
- Arum, Y. P., Supartono dan Sudarmin. 2012. Isolasi dan Uji Daya Antimikroba Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura*). *Jurnal MIPA* 35(2): 165-174.
- Benjamin, D. T. 2010. *Introduction to Handsanitizers*. Diunduh dari http://www.antimicrobialtestlaboratories.com/information_about_hand_sanitizers.htm pada tanggal 25 Juli 2017.
- Bush, I. E. 1961. *The Chromatography of Steroids*. Pergamon Press, London. Halaman: 184-186.
- Cappucinno, J. G., dan Sherman, N. 2011. *Microbiology a Laboratory Manual 9th edition*. Pearson Benjamin Cummings. San Fransisco. Halaman:139.
- Cowan, M. M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. *American Society for Microbiology* 12(4): 564-582.
- Ferreira, R.T., Coutinho, M.A.S., Malvar, D.C., Costa, E.A., Florentino, I.F., Costa, S.S., dan Vanderlinde, F.A. 2014. *Mechanisms Underlying the Antinociceptive, Antiedematogenic, and Anti-Inflammatory Activity of the Main Flavonoid from Kalanchoe pinnata*. <https://www.hindawi.com/journals/ecam/2014/429256/>. Diakses tanggal 10 Juli 2017
- Gaspersz, V. 2004. *Production Planning and Inventory Control*, Gramedia Pustaka Utama, Jakarta. Halaman: 98-110.
- Haki, M. 2009. Efek Ekstrak Daun Talok (*Muntingia calabura L.*) terhadap Aktivitas Enzim SGPT pada Mencit Yang Diinduksi Karbon Tetraklorida. Skripsi S1, Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia Penentuan Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Institut Teknologi Bandung. Bandung. Halaman: 71-99, 151, 234-235.
- Hernani, W. C. dan Marwati, T. 2012. *Teknologi Pascapanen Tanaman Obat*. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian, Bogor. Halaman: 12-13 dan 39.
- Isnawati, A. dan R. Gitawati. 2009. Analisis Kuantitatif Artemisinin dari Ekstrak Metanol Tanaman *Artemisia annua L.* menggunakan Densitometer. *Jurnal Kefarmasian Indonesia* 1 (1): 35-45.
- Kumalasari, E. dan Sulistyani, N. 2011. Aktivitas antifungi ekstrak etanol batang binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen.) terhadap *Candida albicans* serta skrining fitokimia. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian* 1(2): 51-62.
- Kurniawan, D. W., Wijayanto, B. A. dan Iskandar, S. 2012. "Formulation and effectiveness of antiseptic hand gel preparations essential oils galangal (*Alpinia galanga*). *Asian Journal of Pharmaceutical & Biological Research* (AJBPR) 2(4): 245-249.

- Kusumawati, E. 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kerehau (*Callicarpa longifolia* Lam) Terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Manuntung* 2(2): 166-172.
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., Bender, K. S., Buckley, D. H., dan Stahl, D. A. 2015. *Brock Biology of Microorganisms Fourteenth Edition*. Pearson Education, Inc., Benjamin Cummings, San Fransisco. Hal: 176-813.
- Manik, D. F., Hertiani, T. dan Anshory, H. 2014. Analisis Korelasi Antara Kadar Flavonoid dengan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol dan Fraksi-Fraksi Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) terhadap *Staphylococcus aureus*. *Khazanah* 6(2): 1-11.
- Marliana, S. D., Suryanti, V., dan Suyono. 2005. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol. *Biofarmasi* 3(1): 26–31.
- Mulyani, S. dan Laksana, T. 2011. Analisis flavonoid dan Tannin dengan metoda mikroskopi-mikrokimiawi. *Majalah Obat Tradisional* 16(3): 109-114.
- Parhusip, A. J. N., Anugrahati, N. A., dan Nathalia, T. 2005. Aktivitas Antimikrobia Ekstrak Sereh (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf) Terhadap Bakteri Patogen. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*. 3(2):24-25.
- Prastianto, B. A. 2016. Optimasi *Gelling Agent* Carbopol 940 dan Humektan Sorbitol dalam Formulasi Sediaan Gel Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). *Skripsi S-1*. Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta.
- Puspitasari, A. D dan Proyogo, L. S. 2016. Perkembangan Metode Maserasi dan Sokhletasi terhadap Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.). *Jurnal Ilmu Farmasi dan Farmasi Klinik* 13(2): 16-23.
- Sarah., Putra, S. R., dan Putro, H. S. 2010. Isolasi α -Amilase Termostabil Dari Bakteri Termofilik *Bacillus stearothermophilus*. *Prosiding*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya.
- Silhavy, T. J., Kahne, D., dan Walker, S. 2010. The Bacterial Cell Envelope. *Cold Spring Harbor Laboratory* 2(1): 1-16.
- Simaremare, E. S. 2014. Skrining Fitokimia Etanol Daun Gatal (*Laportea decumana* (Roxb.) Wedd). *Pharmacy* 11(1): 98–107.
- Suprianto. 2008. Potensi Ekstrak Sereh Wangi (*Cymbopogon nardus* L.) Sebagai Anti *Streptococcus mutans*. *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Volk, W. A ., dan Wheeler, M. F. 1993. *Mikrobiologi Dasar* Jilid 1. Erlangga. Jakarta. Halaman: 87-89.
- Waluyo, L. 2010. *Teknik dan Metode Dasar Dalam Mikrobiologi*. UMM Press. Malang. Halaman: 130.
- Widyasanti, A., Hajar, S., dan Rohdiana, D. 2015. Aktivitas antibakteri ekstrak teh putih terhadap bakteri Gram positif dan negatif. *Jurnal Penelitian Teh dan Kina* 18(1):55-60.