

Antibacterial Activity of Ethanol Extract, n-Hexane and Ethyl Acetate Fraction of Seminyak Leaves (*Champereia manillana* (Blume) Merr.) Against *Enterococcus faecalis* Bacteria

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol, Fraksi n-Heksan Dan Etil Asetat Daun Seminyak (*Champereia manillana* (Blume) Merr.) Terhadap Bakteri *Enterococcus faecalis*

Alvin Pratama ^a, Haris Munandar Nasution ^{a*}, Ainil Fithri Pulungan ^a, Zulmai Rani ^a

^a Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Nusantara Al-Washliyah, Medan, Sumatera Utara, Indonesia.

*Corresponding Authors: harismunandar@umnaw.ac.id

Abstract

Background: Bacterial resistance to antibiotics has become a global concern, prompting the exploration of alternative antibacterial agents derived from natural sources. *Enterococcus faecalis* is a pathogenic bacterium frequently associated with root canal treatment failure due to its high resistance level. Seminyak leaves (*Champereia manillana* (Blume) Merr.) are known to contain secondary metabolites with potential antibacterial activity; however, studies based on solvent fractionation remain limited. **Objective:** This study aimed to evaluate the antibacterial activity of the ethanol extract, n-hexane fraction, and ethyl acetate fraction of seminyak leaves against *Enterococcus faecalis*. **Methods:** An experimental study was conducted through plant identification, preparation of simplicia, extraction using the maceration method with 96% ethanol, and liquid-liquid fractionation using n-hexane and ethyl acetate. Phytochemical screening was performed qualitatively and confirmed by thin-layer chromatography (TLC). Antibacterial activity was assessed using the disc diffusion method at concentrations of 15%, 30%, and 45% with three replications. Dimethyl sulfoxide (DMSO) 10% was used as the negative control, while chlorhexidine (standard concentration) served as the positive control. Data were analyzed using One-Way ANOVA followed by Tukey HSD post hoc test. **Results:** Phytochemical screening revealed that the ethanol extract contained alkaloids, flavonoids, tannins, saponins, and steroids. The n-hexane fraction predominantly contained nonpolar compounds (alkaloids and steroids), while the ethyl acetate fraction contained more diverse semi-polar compounds. Antibacterial testing showed that all samples exhibited activity against *Enterococcus faecalis*. The highest inhibition zone diameters at 45% concentration were 14.1 ± 0.21 mm (ethanol extract), 10.3 ± 0.17 mm (ethyl acetate fraction), and 8.5 ± 0.14 mm (n-hexane fraction). Statistical analysis indicated significant differences among treatments ($p < 0.05$). **Conclusion:** The ethanol extract, ethyl acetate fraction, and n-hexane fraction of seminyak leaves exhibit antibacterial activity against *Enterococcus faecalis*. The ethanol extract showed the highest activity, followed by the ethyl acetate and n-hexane fractions. These findings suggest that antibacterial compounds are more dominant in polar to semi-polar fractions.

Keywords: Seminyak leaves, (*Champereia manillana* (Blume) Merr.) Fractionation, *Enterococcus faecalis*.

Abstrak

Latar Belakang: Resistensi bakteri terhadap antibiotik menjadi permasalahan global yang mendorong pencarian senyawa antibakteri alternatif dari bahan alam. *Enterococcus faecalis* merupakan bakteri patogen yang sering menyebabkan kegagalan perawatan saluran akar karena tingkat resistensinya yang tinggi. Daun seminyak (*Champereia manillana* (Blume) Merr.) diketahui mengandung metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antibakteri, namun kajian aktivitas berdasarkan fraksi pelarut masih terbatas. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas antibakteri ekstrak etanol serta fraksi n-heksana dan etil asetat daun seminyak terhadap *Enterococcus faecalis*. **Metode:** Penelitian eksperimental dilakukan melalui tahapan determinasi tanaman, pembuatan simplisia, ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan etanol 96%, serta fraksinasi cair-cair menggunakan n-heksana dan etil asetat. Analisis fitokimia dilakukan secara kualitatif dan dikonfirmasi dengan kromatografi lapis tipis (KLT). Uji aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode difusi cakram pada konsentrasi 15%, 30%, dan 45% dengan tiga kali pengulangan. DMSO 10% digunakan sebagai kontrol negatif dan klorheksidin (konsentrasi standar) sebagai kontrol positif. Data dianalisis menggunakan uji One Way ANOVA dan dilanjutkan dengan uji Tukey HSD. **Hasil:** Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol

mengandung alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan steroid, sedangkan fraksi n-heksana dominan mengandung senyawa nonpolar (alkaloid dan steroid), dan fraksi etil asetat mengandung senyawa semi-polar yang lebih beragam. Uji antibakteri menunjukkan adanya aktivitas terhadap *Enterococcus faecalis* pada semua sampel. Diameter zona hambat tertinggi pada konsentrasi 45% secara berturut-turut adalah $14,1 \pm 0,21$ mm (ekstrak etanol), $10,3 \pm 0,17$ mm (fraksi etil asetat), dan $8,5 \pm 0,14$ mm (fraksi n-heksana). Analisis statistik menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan antar perlakuan ($p < 0,05$). **Kesimpulan:** Ekstrak etanol, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksana daun seminyak memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Enterococcus faecalis*. Ekstrak etanol menunjukkan aktivitas paling tinggi, diikuti fraksi etil asetat dan n-heksana. Hasil ini menunjukkan bahwa senyawa aktif yang berperan sebagai antibakteri lebih dominan pada fraksi polar hingga semi-polar.

Kata Kunci: Daun Seminyak, (*Champereia manillana* (Blume) Merr.) Fraksinasi, *Enterococcus faecalis*.



Copyright © 2020 The author(s). You are free to : **Share** (copy and redistribute the material in any medium or format) and **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. Content from this work may be used under the terms of the [Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International \(CC BY-NC-SA 4.0\) License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Article History:

Received: 09/03/2026,
Revised: 28/03/2026,
Accepted: 28/03/2026,
Available Online: 30/03/2026,

QR access this Article



<https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v9i1.1200>

Pendahuluan

Tubuh manusia merupakan tempat yang paling mudah terpapar mikroorganisme, terutama kulit sebagai bagian terluar tubuh manusia. Infeksi pada tubuh manusia disebabkan oleh golongan mikroorganisme seperti bakteri, virus, dan jamur [1]. Resistensi bakteri menjadi salah satu faktor penyebab pencarian senyawa aktif yang berpotensi sebagai antibakteri [2]. Salah satu bakteri penyebab infeksi adalah *Enterococcus faecalis* adalah bakteri fakultatif anaerob dengan bentuk kokus gram positif serta tidak membentuk spora [3].

Enterococcus faecalis memiliki resistensi yang tinggi terhadap medikamen saluran akar, sehingga menyebabkan kegagalan perawatan saluran akar. Resistensi bakteri *Enterococcus faecalis* terhadap medikamen saluran akar disebabkan bakteri ini memiliki pompa proton yang dapat mempertahankan keseimbangan pH.4 [4]. Serangan bakteri biasanya dapat dicegah dengan pemberian antibiotik, namun penggunaan antibiotik yang salah dapat menimbulkan resistensi sehingga menyebabkan kegagalan pengobatan [5].

Saat ini banyak penelitian yang dilakukan untuk menemukan antibiotik baru yang berasal dari tumbuhan, hewan atau mikroorganisme sebagai pengobatan alternatif (Hajar dkk, 2023). Tanaman yang berpotensi sebagai salah satu bahan obat adalah daun seminyak (*Champereia manillana* (Blume) Merr.). Pohon seminyak merupakan tumbuhan yang berasal dari Riau yang dijadikan sayuran tradisional khas Melayu Rokan Hulu. Pohon seminyak juga merupakan tumbuhan berkayu yang tumbuh rendah di dalam hutan memiliki daun berwarna hijau mengkilap. Beberapa manfaat dari pohon siminyak antara lain sebagai antioksidan, anti inflamasi, obat tradisional untuk masalah pencernaan dan batuk, serta bermanfaat untuk kesehatan kulit [6].

Berdasarkan penapisan skrining fitokimia oleh Azman dan Siti (2024) kandungan kimia yang terdapat pada daun seminyak antara lain steroid, terpenoid, fenolik, lutein, fitol, dan β -karoten. Senyawa metabolit sekunder tersebut diduga memiliki mekanisme kerja sebagai antibakteri dengan cara merusak dinding sel atau merusak permeabilitas dinding sel dan mengganggu proses metabolismenya [7]. Identifikasi kandungan senyawa metabolit sekunder merupakan langkah awal yang dilakukan dalam penelitian untuk mencari bahan dasar yang berpotensi sebagai bahan obat baru [7,8]. Proses awal yang dilakukan untuk isolasi kandungan senyawa bioaktif dengan melakukan proses ekstraksi [9]. Untuk mendapatkan senyawa berdasarkan tingkat kepolaran, maka dilakukan proses fraksinasi. Fraksinasi merupakan metode pemisahan senyawa organik berdasarkan kelarutan senyawa senyawa. Pemisahan senyawa organik menggunakan 2 pelarut yang tidak

saling tercampur, biasanya antara pelarut air dan pelarut organik. Larutan atau senyawa organik akan terdistribusi ke dalam fasenya masing-masing tergantung pada kelarutannya terhadap fase tersebut [7,10].

Menurut penelitian sebelumnya menyatakan bahwa daun seminyak (*Champereia Manillana* (Blume) Merr) mempunyai kalsium yang tinggi. Minyak daun seminyak (*Champereia Manillana* (Blume) Merr) bisa menghilangkan memar menghilangkan rasa gatal dan rasa sakit, mencegah masuk angin, pusing, mengobati ruam popok dan eksim [11–13]. Penelitian lain juga melaporkan bahwa daun seminyak mengandung beberapa senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan, antiinflamasi, dapat menghambat pertumbuhan tumor dan antimikroba [11–14].

Penelitian terhadap daun seminyak seperti oleh Ananda, *et.al* (2023) *fast microwave-assisted green synthesis of silver nanoparticles using low concentration of seminyak (Champeria sp.) leaf extract* menunjukkan nanopartikel dari ekstrak daun seminyak pada konsentrasi 0,5% adanya aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* dengan diameter zona hambat $12,3 \pm 0,1$ dan $13,7 \pm 0,7$ mm kategori kuat. Peneliti lain juga oleh Azman dan Siti (2024) *The Investigation of Phytochemicals and Antioxidant Properties of Champereia Manillana (Blume) Merr Stem Bark* menunjukkan senyawa fitokimia yang terkandung di dalam ekstrak methanol daun seminyak terindikasi steroid dan terpenoid, flavonoid total sebesar 0.995 mg CE/g, dan fenolik total sebesar 12.326 mg GAE/g dan persentase inhibisi pada konsentrasi 10 mg/mL sebesar 23,4% [7].

Berdasarkan uraian di atas peneliti tertarik melakukan penelitian untuk daun seminyak dengan melakukan fraksinasi menggunakan pelarut *n*-heksan, etil asetat dan etanol untuk menarik senyawa bioaktif yang memiliki aktivitas antibakteri dapat menghambat pertumbuhan *Enterococcus faecalis*.

Metode Penelitian

Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi seperangkat alat gelas berbahan Pyrex, autoklaf (Fischer), toples kaca, ayakan mesh 60, benang wol, kain kasa, aluminium foil, blender (Miyako), hot plate (IKA C-MAG HS 7), mikroskop (Primo Star), tanur (One), desikator, cawan petri, rotary vacuum evaporator (Stuart), refrigerator (Thermo Scientific), inkubator (Memmert), jangka sorong digital, vortex mixer V-1 plus (Biosan), bunsen, kawat ose, penangas air (*water bath*), kapas steril, kertas perkamen, neraca analitik (Mettler Toledo), oven (One), *object glass*, *deck glass*, pinset, mikropipet (Eppendorf), *laminar air flow cabinet* (Astec HLF 1200 L), serta *blank disc*.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi daun seminyak sebagai sampel utama, aquadest, etanol 96%, serta bahan kimia dengan kualitas pro analisis (p.a) produksi Merck yang terdiri atas asam asetat glasial, asam klorida, asam sulfat, besi (III) klorida, bismut (III) nitrat, *n*-heksana, etil asetat, iodium, dan serbuk magnesium. Media yang digunakan untuk pengujian bakteri meliputi Mueller Hinton Agar (MHA) dan Nutrient Agar (NA). Bakteri uji yang digunakan adalah *Enterococcus faecalis*, dengan klorheksidin sebagai kontrol positif atau pembanding.

Pengolahan Tumbuhan

Pengolahan bahan tumbuhan dalam penelitian ini meliputi tahap pengumpulan, identifikasi, dan pembuatan simplisia daun seminyak (*Champereia manillana* (Blume) Merr.). Pengumpulan bahan tumbuhan dilakukan secara purposif, yaitu tanpa membandingkan dengan spesies sejenis dari lokasi lain. Sampel yang digunakan berupa daun seminyak yang dipilih dalam kondisi utuh, segar, dan tidak mengalami kerusakan fisik maupun kontaminasi.

Identifikasi tumbuhan dilakukan di Herbarium Medanense (MEDA) untuk memastikan kebenaran spesies yang digunakan dalam penelitian. Pembuatan simplisia diawali dengan penimbangan daun seminyak segar sebanyak ± 10 kg, kemudian dilakukan sortasi basah untuk memisahkan kotoran dan bagian yang tidak diinginkan. Sampel selanjutnya dicuci menggunakan air mengalir hingga bersih dan ditiriskan. Daun kemudian dirajang untuk memperluas permukaan pengeringan, lalu dikeringkan menggunakan lemari pengering pada suhu 50–60°C hingga diperoleh kondisi kering yang ditandai dengan tekstur rapuh (mudah dipatahkan). Simplisia kering yang diperoleh kemudian disortasi kembali (sortasi kering) untuk memastikan kebersihan dan keseragaman bahan. Selanjutnya, simplisia dihaluskan menggunakan blender dan diayak dengan ayakan mesh nomor 60 untuk memperoleh ukuran partikel yang seragam. Serbuk simplisia yang dihasilkan kemudian ditimbang dan disimpan dalam wadah tertutup rapat untuk mencegah penyerapan kelembaban. Selain itu, dilakukan perhitungan susut pengeringan berdasarkan selisih berat antara bahan

segar dan simplisia kering terhadap berat awal bahan. Nilai susut pengeringan digunakan untuk menggambarkan jumlah air yang hilang selama proses pengeringan serta sebagai indikator kestabilan simplisia selama penyimpanan [7].

Karakterisasi Simplisia Daun Seminyak (*Champereia manillana* (Blume) Merr.)

Karakterisasi simplisia daun seminyak dilakukan untuk memastikan mutu dan kesesuaian standar bahan baku sebelum digunakan dalam penelitian. Parameter yang diuji meliputi pemeriksaan makroskopik, mikroskopik, kadar air, kadar abu total, kadar abu tidak larut asam, serta kadar sari larut dalam etanol dan air [7,15].

Pemeriksaan makroskopik dilakukan melalui pengamatan langsung terhadap simplisia dan daun segar berdasarkan karakteristik organoleptik, meliputi bentuk, warna, bau, dan rasa [15]. Pemeriksaan mikroskopik dilakukan dengan menempatkan serbuk simplisia pada kaca objek (object glass), kemudian ditetesi aquadest dan diamati menggunakan mikroskop untuk mengidentifikasi fragmen pengenalan khas simplisia [15].

Penetapan kadar air dilakukan menggunakan metode azeotropi (destilasi toluen). Sampel simplisia yang telah ditimbang dimasukkan ke dalam labu destilasi yang berisi toluen jenuh, kemudian didestilasi hingga seluruh kandungan air terpisah. Volume air yang terkumpul diukur untuk menentukan kadar air dalam sampel [15]. Penetapan kadar abu total dilakukan dengan memijarkan sejumlah simplisia dalam krus porselen pada suhu tinggi hingga seluruh bahan organik terdekomposisi dan tersisa residu anorganik. Residu kemudian didinginkan dalam desikator dan ditimbang hingga diperoleh bobot konstan [15].

Penetapan kadar abu tidak larut asam dilakukan dengan mereaksikan abu total dengan asam klorida encer, kemudian disaring. Residu yang tidak larut dipijarkan kembali hingga bobot tetap. Parameter ini menunjukkan kandungan mineral yang tidak larut dalam asam, seperti silika [15]. Penetapan kadar sari larut etanol dilakukan dengan metode maserasi menggunakan etanol 96% selama 24 jam. Filtrat yang diperoleh kemudian diuapkan hingga kering, dan residu yang tersisa ditimbang untuk menentukan jumlah senyawa yang larut dalam pelarut etanol [15]. Penetapan kadar sari larut air dilakukan dengan metode maserasi menggunakan campuran air-kloroform selama 24 jam untuk mencegah pertumbuhan mikroorganisme. Filtrat kemudian diuapkan hingga kering dan residu ditimbang untuk menentukan jumlah senyawa yang larut dalam air [15].

Pembuatan Ekstrak dan Fraksinasi Daun Seminyak (*Champereia manillana* (Blume) Merr.)

Ekstraksi simplisia daun seminyak dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Sebanyak 1000 gram serbuk simplisia dimaserasi dengan 7.500 mL etanol 96% (perbandingan awal 1:7,5 b/v) selama 5 hari pada suhu ruang dan terlindung dari cahaya, disertai pengadukan sesekali. Setelah proses maserasi pertama selesai, filtrat (maserat I) dipisahkan, kemudian ampas simplisia diremaserasi menggunakan 2.500 mL etanol 96% untuk memperoleh maserat II. Kedua maserat kemudian digabungkan sehingga total volume pelarut yang digunakan adalah 10.000 mL, yang setara dengan perbandingan bahan terhadap pelarut sebesar 1:10 (b/v) [7,15].

Ekstrak cair yang diperoleh selanjutnya diuapkan menggunakan rotary vacuum evaporator pada suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak kental. Proses penguapan dilanjutkan menggunakan penangas air (water bath) pada suhu yang sama untuk memastikan pelarut menguap secara maksimal. Ekstrak kental kemudian disimpan dalam wadah tertutup rapat untuk mencegah degradasi. Rendemen ekstrak dihitung berdasarkan perbandingan antara berat ekstrak yang diperoleh dengan berat awal simplisia [7,15].

Fraksinasi ekstrak etanol dilakukan untuk memisahkan senyawa berdasarkan tingkat kepolaran menggunakan metode partisi cair-cair. Sebanyak 40 gram ekstrak etanol dilarutkan dalam campuran etanol 96% dan aquadest (1:1) sebanyak 160 mL, kemudian dimasukkan ke dalam corong pisah. Larutan selanjutnya dipartisi menggunakan 200 mL n-heksana hingga terbentuk dua lapisan. Lapisan atas (fraksi n-heksana) dipisahkan, sedangkan lapisan bawah dipartisi kembali dengan n-heksana hingga diperoleh fraksi yang jernih. Lapisan bawah kemudian dipartisi menggunakan 200 mL etil asetat hingga terbentuk dua lapisan. Lapisan atas (fraksi etil asetat) dipisahkan, dan proses partisi diulang hingga fraksi etil asetat menjadi jernih. Masing-masing fraksi selanjutnya diuapkan menggunakan rotary vacuum evaporator pada suhu 50°C dan dilanjutkan dengan penangas air hingga diperoleh fraksi kental [16].

Pembuatan Pereaksi dan Skrining Fitokimia

Pembuatan pereaksi dilakukan untuk mendukung analisis fitokimia terhadap ekstrak daun seminyak (*Champereia manillana* (Blume) Merr.). Pereaksi yang digunakan meliputi asam klorida 2 N, asam sulfat 2 N,

asam nitrat 0,5 N, larutan timbal (II) asetat 0,4 M, besi (III) klorida 10% b/v, serta pereaksi spesifik seperti Mayer, Bouchardat, Dragendorff, dan Liebermann–Burchard [7,15].

Larutan asam klorida 2 N dibuat dengan menambahkan asam klorida pekat ke dalam aquadest, kemudian diencerkan hingga volume tertentu. Larutan asam sulfat 2 N dan asam nitrat 0,5 N dibuat dengan cara yang sama, yaitu pengenceran asam pekat menggunakan aquadest hingga mencapai konsentrasi yang diinginkan (Kemenkes RI, 2017). Larutan timbal (II) asetat dibuat dengan melarutkan senyawa tersebut dalam aquadest bebas karbon dioksida hingga volume tertentu. Larutan besi (III) klorida 10% dibuat dengan melarutkan FeCl₃ dalam larutan asam klorida, kemudian diencerkan dengan aquadest [7,15].

Pereaksi Mayer dibuat dengan mencampurkan larutan raksa (II) klorida dan kalium iodida dalam air suling hingga volume tertentu. Pereaksi Bouchardat dibuat dari campuran kalium iodida dan iodium yang dilarutkan dalam aquadest. Pereaksi Dragendorff dibuat dari campuran bismut (III) nitrat dalam asam asetat glasial dan larutan kalium iodida, kemudian diencerkan hingga volume tertentu. Pereaksi Liebermann–Burchard dibuat dengan mencampurkan asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat, kemudian ditambahkan etanol [7,15,17].

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi golongan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak etanol daun seminyak, meliputi alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, serta steroid/triterpenoid [7,15,17]. Pemeriksaan alkaloid dilakukan dengan menambahkan larutan asam klorida 2 N ke dalam ekstrak, kemudian dipanaskan dan dibagi ke dalam beberapa tabung reaksi. Masing-masing tabung ditambahkan pereaksi Mayer, Bouchardat, dan Dragendorff. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya endapan putih atau kuning (Mayer), coklat (Bouchardat), serta jingga atau coklat (Dragendorff) [18].

Pemeriksaan flavonoid dilakukan dengan metode uji magnesium, yaitu dengan menambahkan serbuk magnesium, asam klorida, dan amil alkohol ke dalam filtrat ekstrak yang telah dipanaskan. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, kuning, atau jingga pada larutan atau lapisan amil alkohol [19,20]. Pemeriksaan tanin dilakukan dengan menambahkan larutan besi (III) klorida ke dalam filtrat ekstrak. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna biru tua atau hijau kehitaman [21]. Pemeriksaan saponin dilakukan dengan metode uji buih, yaitu dengan mengocok ekstrak dalam air panas. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya busa stabil yang tidak hilang setelah penambahan asam klorida [21]. Pemeriksaan steroid/triterpenoid dilakukan dengan menambahkan pereaksi Liebermann–Burchard ke dalam ekstrak yang telah dimaserasi dengan kloroform. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau atau hijau kebiruan [19,20].

Uji Kromatografi Lapis Tipis

Uji kromatografi lapis tipis (KLT) dilakukan untuk mengidentifikasi profil senyawa kimia pada ekstrak etanol serta fraksi n-heksana dan etil asetat daun seminyak (*Champereia manillana* (Blume) Merr.). Fase diam yang digunakan berupa pelat silika gel GF₂₅₄ dengan ukuran ±7 cm × 1 cm. Pada pelat KLT dibuat garis batas bawah dan batas atas masing-masing berjarak 1 cm dari tepi pelat. Sebelum digunakan, pelat diaktivasi dalam oven pada suhu 105°C selama 30 menit.

Fase gerak (eluen) disiapkan dengan menjenuhkan bejana pengembang menggunakan kertas saring yang telah dibasahi eluen, kemudian dидiamkan hingga kondisi jenuh tercapai. Sampel sebanyak 5 mg dilarutkan dalam 1 mL etanol 96%, kemudian ditotolkan pada pelat KLT menggunakan pipa kapiler pada garis batas bawah. Pelat kemudian dikembangkan dalam bejana pengembang hingga eluen mencapai batas atas yang telah ditentukan. Setelah proses elusi selesai, pelat dikeringkan dan diamati di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm untuk melihat noda yang terbentuk. Nilai faktor retensi (Rf) dihitung berdasarkan perbandingan jarak tempuh noda terhadap jarak tempuh pelarut [22].

Identifikasi Senyawa dengan Kromatografi Lapis Tipis

Identifikasi golongan senyawa metabolit sekunder pada ekstrak etanol serta fraksi n-heksana dan etil asetat daun seminyak (*Champereia manillana* (Blume) Merr.) dilakukan menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT) dengan fase diam silika gel GF₂₅₄. [7,15,17]. Identifikasi alkaloid dilakukan dengan menotolkan larutan sampel pada pelat KLT, kemudian dieluasi menggunakan fase gerak n-heksana : etil asetat (7:3) dalam kondisi jenuh. Setelah dikembangkan dan dikeringkan, pelat diamati di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm, kemudian disemprot dengan pereaksi Dragendorff. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya noda berwarna jingga yang mengindikasikan adanya senyawa alkaloid [23].

Identifikasi flavonoid dilakukan dengan fase gerak n-heksana : etil asetat (8:2). Setelah proses elusi, pelat dikeringkan dan diamati di bawah sinar UV 254 nm dan 366 nm, kemudian dipaparkan dengan uap amonia. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya noda berwarna kuning hingga coklat [23].

Identifikasi tanin dilakukan menggunakan fase gerak n-heksana : etil asetat (6:4). Setelah elusi dan pengeringan, pelat diamati di bawah sinar UV, kemudian disemprot dengan pereaksi besi (III) klorida (FeCl_3). Hasil positif ditunjukkan dengan munculnya noda berwarna hitam [24]. Identifikasi triterpenoid dilakukan menggunakan fase gerak etil asetat : n-heksana (7:3). Setelah pengembangan, pelat dikeringkan dan diamati di bawah sinar UV, kemudian disemprot dengan pereaksi anisaldehyd sulfat dan dipanaskan. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya noda berwarna merah keunguan [23]. Identifikasi steroid dilakukan menggunakan fase diam silika gel GF₂₅₄ dengan fase gerak n-heksana : etil asetat (5:5). Pelat diamati di bawah sinar UV 254 nm dan 366 nm, kemudian disemprot dengan pereaksi Liebermann–Burchard. Terbentuknya noda menunjukkan adanya senyawa golongan steroid [25]. Identifikasi saponin dilakukan menggunakan fase gerak n-heksana : etil asetat (4:1). Setelah elusi, pelat diamati di bawah sinar UV 366 nm dan disemprot dengan pereaksi anisaldehyd. Hasil positif ditunjukkan dengan munculnya noda yang jelas pada pelat KLT [26,27]. Identifikasi glikosida dilakukan menggunakan fase gerak n-heksana : etil asetat (7:3). Setelah pengembangan, pelat disemprot dengan pereaksi kalium hidroksida etanolik. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna violet hingga merah pada noda [26].

Pengujian Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan terhadap ekstrak etanol serta fraksi n-heksana dan etil asetat daun seminyak (*Champereia manillana* (Blume) Merr.) terhadap bakteri *Enterococcus faecalis* menggunakan metode difusi cakram (disc diffusion method). Konsentrasi sampel yang digunakan adalah 15%, 30%, dan 45% (b/v), dengan tiga kali pengulangan. Larutan uji disiapkan dengan melarutkan ekstrak dan masing-masing fraksi dalam dimetil sulfoksida (DMSO) 10%. Pemilihan DMSO 10% sebagai pelarut didasarkan pada kemampuannya melarutkan senyawa polar dan nonpolar serta pada konsentrasi tersebut dilaporkan tidak memiliki aktivitas antibakteri yang signifikan terhadap bakteri uji. Untuk memastikan hal tersebut, dilakukan pengujian kontrol negatif berupa DMSO 10% tanpa penambahan sampel. Selain itu, untuk menghindari pengaruh residu pelarut terhadap aktivitas antibakteri, fraksi n-heksana dan etil asetat diuapkan secara sempurna menggunakan rotary vacuum evaporator dan penangas air hingga diperoleh ekstrak kental bebas pelarut sebelum dilakukan pengujian.

Kontrol positif yang digunakan adalah klorheksidin dengan konsentrasi 0,2% sebagai standar antibakteri yang umum digunakan. Dengan demikian, perbandingan aktivitas antibakteri antara sampel dan kontrol dapat dilakukan secara lebih akurat. Pengujian dilakukan dengan menanamkan suspensi bakteri *Enterococcus faecalis* yang telah disesuaikan dengan standar McFarland pada media Mueller Hinton Agar (MHA). Kertas cakram steril yang telah direndam dalam larutan sampel, kontrol negatif (DMSO 10%), dan kontrol positif (klorheksidin 0,2%) diletakkan di atas permukaan media. Selanjutnya, media diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Aktivitas antibakteri ditentukan berdasarkan diameter zona hambat yang terbentuk di sekitar cakram, yang diukur menggunakan jangka sorong digital.

Analisis Data

Data hasil pengukuran diameter zona hambat dianalisis secara statistik menggunakan uji analisis varians satu arah (*One Way ANOVA*) dengan tingkat kepercayaan 95% ($p < 0,05$) menggunakan perangkat lunak SPSS.

Hasil Dan Pembahasan

Hasil Identifikasi Tumbuhan

Berdasarkan hasil determinasi yang dilakukan di *Herbarium Medanense (MEDA)* Universitas Sumatera Utara (USU) Medan, menunjukkan bahwa tumbuhan yang diteliti adalah daun seminyak dengan spesies (*Champereia manillana* (Blume) Merr.). Determinasi dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang akan diteliti dan menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan serta menghindari kemungkinan tercampurnya tanaman yang akan diteliti dengan tanaman lain [28].

Hasil Pembuatan Simplisia Daun Seminyak (*Champereia manillana* (Blume) Merr.)

Hasil pembuatan simplisia daun seminyak segar yang diambil sebanyak 10 kg kemudian diperoleh daun seminyak kering sebanyak 2.600 gram dengan susut pengeringan 74%. Daun seminyak yang sudah kering tersebut kemudian dijadikan serbuk simplisia sebanyak 1000 gram berbentuk halus, berwarna hijau tua, memiliki rasa pahit. Adanya nilai susut pengeringan bertujuan untuk mengetahui presentase dari penguapan air dan senyawa yang menghilang selama proses pengeringan yang bertujuan untuk mengurangi kadar dari air sehingga simplisia tidak mudah rusak saat disimpan dalam waktu yang lebih lama. Air atau senyawa-senyawa lain pada kadar lebih dari 10% dapat menjadi media pertumbuhan mikroba selain itu dengan adanya air akan menyebabkan terjadinya reaksi enzimatik yang dapat menguraikan zat aktif sehingga mengakibatkan penurunan mutu simplisia ataupun merusak ekstrak dalam penyimpanan [29].

Hasil Pengamatan Makroskopik Daun Seminyak (*Champereia manillana* (Blume) Merr.)

Hasil uji makroskopik daun seminyak termasuk daun yang berselang-seling dan bertangkai. Helaian daunnya mengkilap, berbentuk lonjong atau lanset, dan berukuran panjang sekitar 12,5 cm dengan lebar 11 cm berwarna hijau tua, tulang daun menyirip. Tujuan utama uji makroskopik adalah mengidentifikasi karakteristik fisik dari suatu sampel, seperti bentuk, ukuran, dan warna, tanpa menggunakan mikroskop. Hal ini sering digunakan dalam karakterisasi tumbuhan, terutama untuk identifikasi simplisia atau bagian tanaman yang digunakan dalam pengobatan tradisional [30].

Hasil Pemeriksaan Mikroskopik Daun Seminyak (*Champereia manillana* (Blume) Merr.)

Hasil pemeriksaan mikroskopik serbuk simplisia daun seminyak menunjukkan adanya fragmen pengenal berupa epidermis, stoma, berkas pengangkut dan rambut penutup. Epidermis merupakan jaringan yang membentuk lapisan penutup di permukaan tumbuhan. Secara mikroskopis sebagian besar bentuk selnya beragam dan untuk tumbuhan tertentu berbentuk khas sehingga dapat digunakan sebagai identitas. Pada epidermis dapat juga ditemukan sel penutup stomata, berbagai rambut, sel sekresi dan sel sklerenkim. Sifat khas dari epidermis bagian tumbuhan di atas tanah terdapat lapisan kutikula pada dinding luar dan kutinisasi yang terjadi pada sebagian atau seluruh dinding lainnya. Stoma (stomata) atau mulut daun merupakan celah dalam epidermis yang dibatasi oleh dua sel epidermis yakni sel penutup. Dengan mengubah bentuknya, sel penutup mengatur pelebaran dan penyempitan celah [30].

Sel stomata yang didapat termasuk ke dalam jenis stomata anomositik yaitu tipe stomata yang sel penjaga (guard cell) dikelilingi oleh sel-sel epidermis yang tidak berbeda bentuk dan ukuran dengan sel epidermis lainnya. Berkas pengangkut merupakan sekelompok jaringan yang terdiri atas floem dan xilem, dengan atau tanpa kambium. Rambut penutup merupakan modifikasi epidermis tapi bukan berupa sel sekresi. Banyak bentuk rambut penutup yang dapat digunakan sebagai identitas tumbuhan [15].

Hasil Pemeriksaan Karakteristik Serbuk Simplisia Daun Seminyak (*Champereia manillana* (Blume) Merr.)

Hasil pemeriksaan karakteristik serbuk simplisia daun seminyak yang meliputi kadar air, kadar sari larut air, kadar sari larut etanol, kadar abu total, dan kadar abu tidak larut asam disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Karakterisasi Serbuk Simplisia Daun Seminyak

No	Parameter	Simplisia Daun Seminyak (%)	Literatur (%)
1.	Kadar air	4,66	≤ 10
2.	Kadar sari larut air	8,33	≥ 7,4
3.	Kadar sari larut etanol	10	≥ 4,8
4.	Kadar abu total	3,15	≤ 4
5.	Kadar abu tidak larut asam	0,50	≤ 1,1

Karakterisasi simplisia dilakukan sebagai langkah awal untuk menjamin mutu dan keseragaman bahan baku yang digunakan dalam penelitian, sehingga memenuhi persyaratan standar simplisia sesuai ketentuan Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Hasil penetapan kadar air menunjukkan nilai sebesar 4,66%, yang berada di bawah batas maksimum (≤10%). Hal ini menunjukkan bahwa simplisia memiliki kadar air yang rendah sehingga relatif stabil selama penyimpanan dan tidak mudah ditumbuhi mikroorganisme yang dapat merusak senyawa aktif. Kadar abu total yang diperoleh sebesar 3,15% masih memenuhi persyaratan (≤4%), yang mengindikasikan bahwa kandungan mineral dalam simplisia berada dalam batas normal dan tidak banyak terkontaminasi oleh bahan anorganik. Sementara itu, kadar abu tidak larut asam sebesar 0,50%

juga memenuhi standar ($\leq 1,1\%$), yang menunjukkan rendahnya kandungan pengotor anorganik seperti pasir atau silika.

Penetapan kadar sari larut air dan etanol bertujuan untuk memberikan gambaran mengenai jumlah senyawa yang dapat terekstraksi oleh pelarut dengan tingkat kepolaran berbeda. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar sari larut air sebesar 8,33% dan kadar sari larut etanol sebesar 10,00%, keduanya telah memenuhi standar yang ditetapkan ($\geq 7,4\%$ untuk air dan $\geq 4,8\%$ untuk etanol). Nilai kadar sari larut etanol yang lebih tinggi dibandingkan kadar sari larut air menunjukkan bahwa senyawa yang terkandung dalam simplisia daun seminyak cenderung lebih banyak larut dalam pelarut etanol. Hal ini mengindikasikan dominasi senyawa semi-polar hingga polar, seperti flavonoid, tanin, dan saponin, yang berpotensi berkontribusi terhadap aktivitas biologis, termasuk aktivitas antibakteri. Berdasarkan hasil karakterisasi, seluruh parameter yang diuji menunjukkan kesesuaian dengan standar yang ditetapkan, sehingga simplisia daun seminyak memenuhi persyaratan mutu dan dapat digunakan sebagai bahan baku yang valid dalam proses ekstraksi, serta mendukung keandalan hasil pengujian aktivitas antibakteri yang dilakukan.

Hasil Ekstraksi Simplisia Daun Seminyak (*Champereia manillana* (Blume) Merr.)

Berdasarkan proses ekstraksi yang dilakukan terhadap simplisia daun seminyak menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% diperoleh ekstrak etanol daun seminyak sebanyak 70,800 gram berwarna coklat kehitaman dan rendemen sebesar 7,08%. Pembuatan ekstrak sebagai bahan baku obat tradisional harus memenuhi persyaratan mutu ekstrak. Salah satu parameter mutu ekstrak adalah rendemen ekstrak yang dihasilkan. Rendemen adalah perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal. Rendemen menggunakan satuan persen (%), semakin tinggi nilai rendemen yang dihasilkan menandakan nilai ekstrak yang dihasilkan semakin banyak. Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode maserasi. Maserasi merupakan metode ekstraksi yang cukup sederhana tanpa sistem pemanasan atau dikenal dengan ekstraksi dingin. Jadi pada proses ini sampel dan pelarut tidak mengalami proses pemanasan sehingga dapat digunakan pada senyawa yang tidak tahan panas [31].

Hasil Fraksinasi Ekstrak Daun Seminyak (*Champereia manillana* (Blume) Merr.)

Berdasarkan hasil ekstraksi menggunakan etanol 96%, selanjutnya dilakukan fraksinasi secara bertingkat menggunakan pelarut n-heksana dan etil asetat. Hasil fraksinasi menunjukkan bahwa diperoleh fraksi n-heksana sebesar 26,919 gram dan fraksi etil asetat sebesar 23,799 gram. Fraksinasi ekstrak etanol daun seminyak dilakukan dengan metode partisi cair-cair menggunakan pelarut dengan tingkat kepolaran berbeda, yaitu n-heksana (nonpolar) dan etil asetat (semi-polar). Proses ini bertujuan untuk memisahkan senyawa berdasarkan perbedaan kelarutan dan tingkat kepolarannya. Selama proses partisi, terbentuk dua lapisan fase yang tidak saling bercampur, dimana pelarut dengan massa jenis lebih tinggi berada pada lapisan bawah, sedangkan pelarut dengan massa jenis lebih rendah berada pada lapisan atas. Pemisahan ini memungkinkan senyawa metabolit sekunder terdistribusi secara selektif ke dalam masing-masing fase sesuai dengan sifat kepolarannya. Dengan demikian, fraksi n-heksana cenderung mengandung senyawa nonpolar seperti steroid dan terpenoid, sedangkan fraksi etil asetat mengandung senyawa semi-polar seperti flavonoid dan tanin, yang berkontribusi terhadap aktivitas biologis yang diamati [32].

Hasil Skirining Fitokimia Simplisia dan Ekstrak Etanol Daun Seminyak (*Champereia manillana* (Blume) Merr.)

Berdasarkan tabel 2 dan 3, menunjukkan bahwa hasil skrining fitokimia pada simplisia dan ekstrak etanol daun seminyak positif mengandung senyawa alkaloid, flavanoid, tannin, steroid, dan saponin. Adanya alkaloid pada sampel dikonfirmasi dengan adanya perubahan warna dan endapan pada pereaksi Meyer yang menghasilkan endapan putih, pereaksi Dragendorff dan Bouchardat yang menghasilkan endapan kemerahan. Dalam uji alkaloid pereaksi Mayer, kalium tetraiodo merkurat (II) bereaksi dengan nitrogen dalam alkaloid untuk mengendapkan kompleks kalium alkaloid. Pereaksi dragendorff dibuat dengan melarutkan bismut nitrat dalam asam klorida (HCl) untuk menghasilkan ion bismut (BiO^+) [33].

Daun seminyak yang diekstrak dalam etanol terbukti mengandung flavonoid yang dibuktikan dengan adanya perubahan warna positif pada uji flavonoid. Zat polifenol seperti flavonoid, yang meliputi gugus hidroksil dan karbonil, larut dalam air. Oksigen karbonil bereaksi dengan asam klorida menghasilkan garam flavilium. Merah muda dihasilkan melalui proses oksidasi dan reduksi antara bubuk magnesium dan molekul flavonoid ketika bubuk magnesium ditambahkan sebagai agen pereduksi [33].

Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia Simplisia Daun Seminyak

No.	Pemeriksaan	Pereaksi	Hasil	Kesimpulan	Literatur
1	Alkaloid	Peraksi Mayer	Terbentuk Endapan kekuningan	+	Endapan putih/kekuningan
		Pereaksi Bouchardat	Terbentuk Endapan coklat	+	Endapan Coklat
		Peraksi Dragendorff	Terbentuk Endapan coklat	+	Endapan coklat/orange
2	Flavonoid	Serbuk Mg + HCl (P)	Terbentuk Larutan merah	+	Larutan kuning/merah
3	Saponin	Akuades panas, dikocok kuat-kuat +HCl	Terbentuk Busa	+	Terbentuk busa
4	Steroid/ Triterpenoid	Lieberman-Burchard	Larutan Hijau	+	Larutan Hijau
				-	Larutan Merah atau ungu
5	Tanin	Larutan FeCl ₃ 1%	Larutan Hijau	+	Larutan hijau kehitaman

Tabel 3. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Seminyak

No.	Pemeriksaan	Pereaksi	Hasil	Kesimpulan	Literatur
1	Alkaloid	Peraksi Mayer	Terbentuk Endapan kekuningan	+	Endapan putih/kekuningan
		Pereaksi Bouchardat	Terbentuk Endapan coklat	+	Endapan Coklat
		Peraksi Dragendorff	Terbentuk Endapan coklat	+	Endapan coklat/orange
2	Flavonoid	Serbuk Mg + HCl (P)	Terbentuk Larutan merah	+	Larutan kuning/merah
3	Saponin	Akuades panas, dikocok kuat-kuat +HCl	Terbentuk Busa	+	Terbentuk busa
4	Steroid/Triterpenoid	Lieberman-Burchard	Larutan Hijau	+	Larutan Hijau
				-	Larutan Merah atau ungu
5	Tanin	Larutan FeCl ₃ 1%	Larutan Hijau	+	Larutan hijau kehitaman

Hasil positif uji tannin pada penambahan simplisia dan ekstrak etanol daun seminyak dengan pereaksi FeCl₃ membentuk warna hijau, biru tua atau ungu kehitaman yang kuat. Warna biru kehitaman yang terbentuk pada ekstrak etanol daun seminyak disebabkan oleh polifenol yang bereaksi dengan ion Fe³⁺ membentuk senyawa kompleks. Polifenol melepas ion H⁺ dan membentuk ion fenoksi yang akan bereaksi dengan FeCl₃ [34].

Hasil identifikasi saponin positif dilakukan menggunakan air panas dan ditambahkan HCl 2 N dan terbentuk buih yang stabil. Hal ini menunjukkan bahwa simplisia dan ekstrak etanol daun seminyak mengandung senyawa saponin. Saponin memiliki sifat seperti sabun. Ketika dilarutkan dalam air akan membentuk busa atau buih. Saponin dapat larut dalam air karena adanya gugus OH yang dapat membentuk ikatan hidrogen dengan molekul air. Saponin pada saat digojok terbentuk buih karena adanya gugus OH yang akan berikatan dengan udara, sedangkan penambahan HCl 2 N bertujuan untuk menambah kepolaran sehingga gugus OH yang akan berikatan lebih stabil [34].

Hasil identifikasi terpenoid dan steroid positif menggunakan uji Lieberman-Burchard (asetat anhidrida: H₂SO₄ pekat) yang memberikan warna merah untuk terpenoid dan hijau-biru untuk steroid. Filtrat ditambah dengan asam asetat anhidrida yang akan bereaksi dengan steroid melalui reaksi asetat anhidrida menghasilkan kompleks asetil steroid. Asetat anhidrida berfungsi untuk menarik air dari lingkungan, sedangkan H₂SO₄ berfungsi sebagai oksidator yang jika memiliki gugus OH di C₃ akan membentuk ikatan rangkap baru. Penambahan H₂SO₄ pekat bertujuan untuk mendekstruksi kompleks asetil steroid. Hasil dari skrining fitokimia simplisia dan ekstrak etanol daun seminyak terdapat senyawa steroid ditandai dengan adanya perubahan warna menjadi hijau biru [34].

Hasil Uji Penegasan Kromatografi Lapis Tipis Terhadap Metabolit Sekunder Pada Fraksi *n*-Heksan dan Etil Asetat Daun Seminyak

Tabel 4. Hasil uji penegasan kromatografi lapis tipis terhadap metabolit sekunder pada fraksi *n*-heksan dan etil asetat daun seminyak

No.	Parameter	Nilai Rf	
		Fraksi <i>n</i> -Heksan	Fraksi Etil Asetat
1.	Alkaloid	0,83	0,48
2.	Flavanoid	0,83	0,68
3.	Tannin	0,91	0,46
4.	Saponin	0,71	0,96
5.	Steroid/Triterpenoid	0,97	0,95
6.	Glikosida	0,57	0,76

Skrining fitokimia merupakan tahap pendahuluan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder yang terkandung dalam suatu sampel uji (fraksi *n*-heksan dan etil asetat daun seminyak). Golongan metabolit sekunder yang terkandung dalam fraksi dapat diketahui secara kualitatif dan kuantitatif dengan melihat perubahan warna, pengendapan atau terbentuknya busa dan nilai Rf (*retention factor*) pada sampel uji ketika ditambahkan dengan pereaksi yang sesuai.

Untuk mempertegas hasil skrining pengujian dilanjutkan dengan analisis kromatografi lapis tipis (KLT) dengan fase gerak *n*-Heksan dan etil asetat dan fase diam plat klt GF254, meliputi senyawa flavonoid, tannin, saponin, dan terpenoid/steroid. Deteksi bercak KLT dapat dilihat secara fisika pada lampu UV 254 nm dan 365 nm dan secara kimia dengan menggunakan pereaksi semprot. Pada lampu UV 254 nm, lempeng akan berfluoresensi sedangkan sampel akan tampak berwarna gelap/hitam. Penampakan noda pada lampu UV 254 nm dan 365 nm adalah karena adanya daya interaksi antara sinar UV dengan indikator fluoresensi yang terdapat pada lempeng. Fluoresensi cahaya yang tampak merupakan emisi cahaya yang dipancarkan oleh komponen tersebut ketika elektron yang tereksitasi dari tingkat energi dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi kemudian kembali ke keadaan semula sambil melepaskan energi. Selain itu, nilai Rf juga ditentukan, dimana nilai Rf dapat dijadikan bukti dalam identifikasi senyawa [35].

Pada prosedur Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dilakukan penjenuhan eluen terlebih dahulu dengan memasukan kertas saring kedalam chamber sampai kertas saring terbasahi seluruhnya dengan eluen, tujuannya agar eluen memenuhi chamber dan berfungsi supaya fase gerak dalam kromatografi berjalan dengan baik. Selain itu, pencahayaan UV juga berdasarkan prinsip yang panjang gelombang pendek atau 254 nm, plat memberikan fluoresensi sementara serta tampaknya warna gelap yang muncul sebab interaksi antara sinar UV dan indikator fluoresensi yang terkandung pada plat KLT, sementara panjang gelombang 366 nm memberi kondisi yang berlawanan ketika menyediakan fluoresensi dan plat berwarna gelap, noda yang tampaknya meningkat sebab kekuatan interaksi antara sinar UV dan kelompok (Mustiqawati, 2022).

Hasil penegasan metabolit sekunder menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) yang menunjukkan nilai Rf pada masing-masing parameter uji. Pada fraksi *n*-heksan dan etil asetat daun seminyak pengujian diperoleh nilai Rf alkaloid sebesar 0,83 dan 0,48, nilai Rf flavanoid sebesar 0,83 dan 0,68, nilai Rf tannin sebesar 0,91 dan 0,46, nilai Rf saponin sebesar 0,71 dan 0,96, nilai Rf steroid sebesar 0,97 dan 0,95 dan nilai Rf glikosida 0,57 dan 0,76.

Berdasarkan tabel 4, fraksi *n*-heksan daun seminyak positif mengandung senyawa alkaloid, steroid/terpenoid. Sejalan dengan penelitian oleh Sela, dkk (2021) menyatakan senyawa terpenoid dan steroid merupakan senyawa golongan non polar sehingga tidak cukup baik terekstrak pada pelarut polar dan semi polar. Senyawa steroid lebih condong pada sifat nonpolar sehingga dapat terekstrak oleh pelarut nonpolar. *n*-heksan merupakan pelarut non polar dengan indeks polaritas 0,0 yang dapat menarik senyawa metabolit sekunder bersifat non dalam jumlah yang lebih banyak (Ariska dan Putri, 2024). Hal ini diduga karena komponen daun seminyak banyak mengandung senyawa non polar seperti steroid/terpenoid. Sementara fraksi etil asetat daun seminyak positif mengandung senyawa metabolit sekunder alkaloid, flavanoid, alkaloid, tannin, saponin dan steroid/triterpenoid. Etil asetat merupakan pelarut yang baik digunakan untuk ekstraksi karena dapat dengan mudah diuapkan, tidak higroskopis, dan memiliki toksisitas rendah, bersifat semi polar sehingga mampu menarik senyawa polar maupun non polar dari daun seminyak. Penampakan noda pada alkaloid menggunakan Dragendorff akan menunjukkan noda alkaloid dengan warna jingga atau merah jingga. Reaksi ini terjadi karena alkaloid bereaksi dengan kalium bismut iodida dalam pereaksi Dragendorff,

membentuk endapan yang berwarna. Sementara itu, untuk flavanoid digunakan uap amonia yang ketika terpapar pada plat KLT flavanoid akan menunjukkan warna kuning. Uji tanin digunakan penampak noda FeCl_3 menghasilkan warna hijau kehitaman atau biru tua. Reaksi ini terjadi karena FeCl_3 bereaksi dengan gugus hidroksil pada senyawa fenolik, termasuk tanin, menghasilkan kompleks berwarna [35].

Uji triterpenoid ketika kromatogram disemprot dengan anisaldehyd sulfat, muncul noda berwarna ungu hingga merah keunguan yang menunjukkan adanya senyawa terpenoid. Uji saponin disemprot penampak noda Anisaldehyd-asam sulfat terbentuk spot noda biru muda pada sinar UV dengan panjang gelombang 365 nm. Saponin dideteksi dengan pereaksi semprot anisaldehyd-asam sulfat akan memberikan warna biru sampai biru violet terkadang berupa bercak warna merah, kuning, biru tua, ungu, hijau, atau berupa kuning coklat pada sinar tampak dan hasil yang diperoleh berwarna kuning. Uji glikosida menggunakan kalium hidroksida (KOH) etanol tidak secara langsung digunakan sebagai penampak noda glikosida, tetapi KOH sering digunakan dalam uji glikosida, terutama dalam reaksi Liebermann-Burchard. Reaksi ini menunjukkan adanya glikosida, tetapi bukan penampak noda langsung seperti pada senyawa lain [36]. Selain penampak noda, nilai R_f metabolit sekunder yang diperoleh berada pada penelitian ini termasuk ke dalam rentang nilai R_f secara umum yaitu alkaloid berada pada 0,07-0,89, flavanoid berada pada 0,2-0,75, saponin berada pada 0,56, tannin berada pada 0,22-0,77 dan steroid/triterpenoid berada pada 0,2-0,8 [35].

Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol, Fraksi *n*-Heksana dan Fraksi Etil Asetat Daun Seminyak Terhadap Bakteri *Enterococcus faecalis*

Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antibakteri, ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, dan fraksi etil asetat daun seminyak menunjukkan adanya daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis*, yang ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar cakram uji setelah inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Diameter zona hambat meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi sampel (15%, 30%, dan 45%), yang menunjukkan adanya hubungan dosis-respons terhadap aktivitas antibakteri.

Hasil pengukuran diameter zona hambat menunjukkan bahwa ekstrak etanol memiliki aktivitas antibakteri tertinggi dibandingkan fraksi lainnya, diikuti oleh fraksi etil asetat dan fraksi *n*-heksana. Pada konsentrasi 45%, ekstrak etanol menghasilkan zona hambat sebesar $14,10 \pm 0,10$ mm, fraksi etil asetat sebesar $10,37 \pm 0,25$ mm, dan fraksi *n*-heksana sebesar $8,50 \pm 0,17$ mm. Berdasarkan kriteria Davis dan Stout, ekstrak etanol dan fraksi etil asetat termasuk dalam kategori aktivitas antibakteri kuat, sedangkan fraksi *n*-heksana termasuk kategori sedang. Perbedaan aktivitas antibakteri antar fraksi diduga dipengaruhi oleh perbedaan kandungan senyawa metabolit sekunder berdasarkan tingkat kepolaran pelarut. Ekstrak etanol sebagai pelarut polar mampu mengekstraksi senyawa bioaktif dalam jumlah lebih besar dan beragam, khususnya senyawa flavonoid, tanin, saponin, dan alkaloid yang telah teridentifikasi melalui skrining fitokimia. Sementara itu, fraksi etil asetat yang bersifat semi-polar mengekstraksi senyawa dengan kepolaran menengah, sedangkan fraksi *n*-heksana yang bersifat nonpolar cenderung mengekstraksi senyawa seperti steroid dan terpenoid.

Aktivitas antibakteri yang dihasilkan diduga berkaitan dengan mekanisme kerja senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam sampel. Flavonoid dan tanin sebagai senyawa fenolik berperan dalam merusak membran sel bakteri, menginaktivasi enzim, serta menyebabkan denaturasi protein. Alkaloid bekerja dengan mengganggu sintesis peptidoglikan pada dinding sel bakteri, sedangkan saponin meningkatkan permeabilitas membran sel sehingga menyebabkan kebocoran isi sel dan lisis. Senyawa steroid dan triterpenoid juga berkontribusi dalam merusak struktur membran sel melalui interaksi dengan protein membran. Tidak dilakukannya pengujian fenolik total dalam penelitian ini menyebabkan pembahasan difokuskan pada senyawa yang teridentifikasi secara langsung melalui skrining fitokimia, sehingga interpretasi aktivitas antibakteri didasarkan pada keberadaan flavonoid dan tanin sebagai senyawa fenolik yang telah terkonfirmasi.

Hasil analisis statistik menggunakan uji One Way ANOVA menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan ($p < 0,05$), yang menandakan bahwa variasi jenis ekstrak/fraksi dan konsentrasi berpengaruh nyata terhadap aktivitas antibakteri terhadap *Enterococcus faecalis*. Uji lanjut Tukey HSD menunjukkan bahwa setiap perlakuan memiliki perbedaan yang signifikan, yang ditunjukkan oleh notasi superskrip yang berbeda pada tabel hasil. Secara keseluruhan, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun seminyak memiliki potensi paling tinggi sebagai antibakteri dibandingkan fraksi lainnya. Hal ini mengindikasikan bahwa senyawa aktif yang berperan dalam aktivitas antibakteri lebih dominan terdapat pada fraksi polar hingga semi-polar.

Tabel 5. Diameter Zona Hambat terhadap *Enterococcus faecalis*

Kelompok Perlakuan	R1	R2	R3	Mean ± SD (mm)	Notasi
Kontrol negatif (DMSO 10%)	0.00	0.00	0.00	0.00 ± 0.00	a
Fraksi n-heksana 15%	6.40	6.90	6.90	6.73 ± 0.25	b
Fraksi n-heksana 30%	7.40	7.70	7.90	7.67 ± 0.25	c
Fraksi n-heksana 45%	8.30	8.60	8.60	8.50 ± 0.17	d
Fraksi etil asetat 15%	7.50	7.30	7.20	7.33 ± 0.15	c
Fraksi etil asetat 30%	8.60	8.40	8.60	8.53 ± 0.12	d
Fraksi etil asetat 45%	10.60	10.10	10.40	10.37 ± 0.25	e
Ekstrak etanol 15%	9.40	9.00	9.10	9.17 ± 0.21	d
Ekstrak etanol 30%	11.20	11.40	11.10	11.23 ± 0.15	f
Ekstrak etanol 45%	14.20	14.10	14.00	14.10 ± 0.10	g
Kontrol positif (Klorheksidin 0,2%)	19.50	19.30	19.80	19.53 ± 0.25	h

Keterangan:

- Data disajikan sebagai mean ± SD (n = 3)
- Huruf superskrip berbeda menunjukkan perbedaan signifikan (Tukey HSD, p < 0,05)
- Kontrol negatif: Dimetil sulfoksida (DMSO) 10%
- Kontrol positif: Klorheksidin 0,2%

Hasil Analisa Data

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan ($p < 0,05$), yang mengindikasikan bahwa variasi jenis ekstrak/fraksi dan konsentrasi berpengaruh terhadap aktivitas antibakteri terhadap *Enterococcus faecalis*. Peningkatan konsentrasi sampel secara umum menunjukkan peningkatan diameter zona hambat, yang menandakan adanya hubungan dosis-respons terhadap aktivitas antibakteri. Ekstrak etanol pada konsentrasi 45% menunjukkan aktivitas antibakteri tertinggi dibandingkan dengan fraksi lainnya. Hal ini diduga karena ekstrak etanol mampu mengekstraksi senyawa metabolit sekunder yang lebih beragam, terutama senyawa polar seperti flavonoid, tanin, dan saponin yang diketahui memiliki aktivitas antibakteri melalui berbagai mekanisme, seperti merusak membran sel, menghambat enzim, serta mengganggu metabolisme bakteri.

Sementara itu, fraksi etil asetat menunjukkan aktivitas antibakteri yang lebih tinggi dibandingkan fraksi n-heksana. Hal ini mengindikasikan bahwa senyawa semi-polar yang terkandung dalam fraksi etil asetat memiliki kontribusi lebih besar terhadap aktivitas antibakteri dibandingkan senyawa nonpolar yang dominan pada fraksi n-heksana. Senyawa seperti flavonoid dan tanin yang larut dalam pelarut semi-polar diketahui memiliki kemampuan mengganggu integritas dinding sel dan meningkatkan permeabilitas membran bakteri. Sebaliknya, fraksi n-heksana menunjukkan aktivitas antibakteri yang relatif lebih rendah. Hal ini dapat dikaitkan dengan dominasi senyawa nonpolar seperti steroid dan terpenoid, yang meskipun memiliki aktivitas antibakteri, namun umumnya lebih lemah dibandingkan senyawa fenolik dalam menghambat pertumbuhan bakteri gram positif seperti *Enterococcus faecalis*. Pada konsentrasi yang lebih rendah (15% dan 30%), beberapa perlakuan tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan, yang menunjukkan bahwa efektivitas antibakteri pada konsentrasi tersebut belum optimal. Hal ini mengindikasikan bahwa konsentrasi senyawa aktif yang tersedia belum cukup untuk memberikan efek hambat yang maksimal terhadap pertumbuhan bakteri.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol serta fraksi n-heksana dan etil asetat daun seminyak (*Champereia marillana* (Blume) Merr.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Enterococcus faecalis*. Aktivitas tersebut ditunjukkan oleh terbentuknya zona hambat, dengan nilai rata-rata pada konsentrasi tertinggi (45%) masing-masing sebesar $8,5 \pm 0,14$ mm untuk ekstrak etanol, $10,3 \pm 0,17$ mm untuk fraksi n-heksana, dan $14,1 \pm 0,21$ mm untuk fraksi etil asetat. Fraksi etil asetat menunjukkan aktivitas antibakteri paling tinggi dibandingkan ekstrak etanol dan fraksi n-heksana, sehingga dikategorikan memiliki daya hambat yang kuat terhadap *Enterococcus faecalis*.

Konflik Kepentingan

Seluruh penulis menyatakan tidak memiliki konflik kepentingan dalam bentuk apa pun, baik finansial maupun nonfinansial, yang dapat memengaruhi pelaksanaan penelitian, hasil yang diperoleh, maupun interpretasi terhadap temuan yang disajikan.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Universitas Muslim Nusantara atas dukungan fasilitas, bantuan institusional, serta berbagai kontribusi yang diberikan selama seluruh proses penelitian berlangsung.

Referensi

- [1] Nabilla A, Advinda L. Aktivitas Antimikroba Sabun Mandi Padat Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* Bakteri Patogen Manusia. *Serambi Biol* 2022;7:306–10.
- [2] Rohama R, Melviani M, Rahmadani R. Aktivitas Antibakteri dan Penetapan Kadar Flavonoid Fraksi Daun Kalangkala (*Litsea angulata*) Serta Profil Kromatografi Lapis Tipis: Antibacterial Activity and Determination of Flavonoid Levels of Kalangkala Leaf Fraction (*Litsea angulata*) and Thin Layer Chromatography Profile. *J Surya Med* 2023;9:267–76.
- [3] Wijaya S, Tanjung DS, Satrya MD. Efektivitas antibakteri ekstrak virgin coconut oil (VCO) terhadap bakteri *Enterococcus faecalis*. *Prima J Oral Dent Sci* 2021;4:27–32.
- [4] Cendana AN, Santosa DN. Esomeprazole tidak meningkatkan efek antibakteri natrium hipoklorit. *J Kedokt Gigi Terpadu* 2022;4:119–22.
- [5] Mubarak F, Rante H, Putri PY. Antibacterial Activity Of Tembelekan Leaf (*Lantana Camara L.*) Extracts Against *Escherichia Coli* And *Staphylococcus Aureus*. *Microbiology* 2022;2:2808–3911.
- [6] Kadarisman Y, Angraini E, Aditya Z, Dayana ED, Sahfitri O, Ramadhanti AN, et al. Pemberdayaan Kelompok Perempuan Dalam Pemanfaatan Potensi Hutan Di Desa Batu Sanggan. *Community Dev J J Pengabd Masy* 2023;4:7926–32.
- [7] Azman AS, So'ad SZM. The Investigation of Phytochemicals and Antioxidant Properties of *Champereia Manillana* (Blume) Merr Stem Bark. *J Pharm* 2024;4:151–64.
- [8] Restusari L, Luqiana N, Muharni M, Rahayu D. Chemical characteristics and potential as functional food of seminyak leaves (*Champereia manillana*). *AcTion Aceh Nutr J* 2026;11:97–102.
- [9] Mewengkang TT, Lintang RAJ, Losung F, Sumilat DA, Lumingas L JL. Identifikasi senyawa bioaktif dan pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daging teripang *Holothuria* (*Halodeima*) atra Jaeger 1833 asal Perairan Pantai Kalasey, Minahasa. *J Ilm PLATAX* 2022;10:355–63.
- [10] Rambe AP, Nasution HM. Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol, Fraksi N-Heksan Dan Etil Asetat Daun Seminyak (*Champereia Manillana* (Blume) Merr.) Terhadap Mencit Jantan 2024.
- [11] Ragasa CY, Ng VAS, Ulep RA, Brkljača R, Urban S. Chemical constituents of *Champereia manillana* (Blume) Merrill. *Pharm Lett* 2015;7:256–61.
- [12] Widiyanti P, Wibowo A. Fast Microwave-Assisted Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using Low Concentration of Seminyak (*Champeria sp.*) Leaf Extract Muhammad Bagas Ananda¹, Fathan Aditya Sanjaya², Tami Bachrurozy², Helmi Majid Ar Rasyid³, Anggraini Barlian⁴, Akfiny Hasdi Aimon⁵, Fitriyatul Qulub⁶ n.d.
- [13] Consolacion R, Ng V, Ulep R, Brkljaca R, Urban S. Chemical Constituents of *Champereia manillana* (Blume) Merrill 2015.
- [14] Roslim DI, Budiono DYF, Cahyati IE, Lestari W, Novita L, Priyadi A. Analysis of trnL-trnL-trnF Intergenic Spacer and matK Sequences Combined with Morphological Observations Showed Pucuk Seminyak from Riau is *Champereia manillana* var. *manillana* Merr.: trnL-trnL-trnF Intergenic Spacer and matK on Pucuk Seminyak. *J Trop Life Sci* 2024;14:575–84.
- [15] Farmakope Herbal Indonesia. Herbal Indonesia Herbal. II. Kemenkes RI; 2017.
- [16] Rahmadani D, HM N. Potensi antioksidan fraksi etil asetat dan fraksi n-heksana ekstrak etanol kulit buah asam jawa (*Tamarindus indica l.*) terhadap penangkapan radikal bebas. *J Farm Sains, Dan Kesehat* 2021;1:28–37.
- [17] RI D. Farmakope Indonesia Edisi IV. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 1995.

- [18] Nasution HM, Yuniarti R, Rani Z, Nursyafira A. Phytochemical screening and antibacterial activity test of ethanol extract of jengkol leaves (*Archidendron pauciflorum* Benth.) IC Nielsen against *Staphylococcus epidermidis* and *Propionibacterium acnes*. *Int J Sci Technol Manag* 2022;3:647–53.
- [19] Al Disi ZA, Sadooni F, Al-Kuwari HA-S, Bontognali TRR. Microbially influenced formation of anhydrite at low temperature. *Sci Total Environ* 2023;902:165820.
- [20] Fransiska AN, Masyrofah D, Marlian H, Sakina IV, Tyasna PS. Identifikasi senyawa terpenoid dan steroid pada beberapa tanaman menggunakan pelarut n-heksan. *J Heal Sains* 2021;2:733–41.
- [21] Yuniarti R. Skrining fitokimia dan karakteristik mutu fisik sediaan obat kumur daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.). *Pros. Semin. Nas. Has. Penelit.*, vol. 5, 2022, p. 252–5.
- [22] Kinam BOI, Prabowo WC, Supriatno S, Rusli R. Skrining Fitokimia dan Profil KLT Ekstrak dan Fraksi dari Daun Berenuk (*Crescentia cujete* L.) serta Uji DPPH: Phytochemical Screening and TLC Profile of Extracts and Fractions from Leaves of Berenuk (*Crescentia cujete* L.) and DPPH Test. *Proceeding Mulawarman Pharm. Conf*, vol. 14, 2021, p. 339–47.
- [23] Puspaningtyas AR, Pangaribowo DA, Multazam TS. Uji Aktivitas Anti Tuberkulosis H37rv Ekstrak Dan Fraksi Tanaman Merbau (*Intsia Bijuga*). *Jiis (Jurnal Ilm Ibnu Sina) Ilmu Farm Dan Kesehat* 2024;9:68–77.
- [24] Makatambah V, Fatimawali F, Rundengan G. Analisis senyawa tannin dan aktifitas antibakteri fraksi buah sirih (*piper betle* l) terhadap *streptococcus mutans*. *J Mipa* 2020;9:75.
- [25] Amalia U. uji aktivitas antibakteri ekstrak, fraksi n-heksan, etil asetat, dan air pada kulit singkong (*Manihot esculenta* Crantz) Terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* Serta Penetapan Kadar Fenolik. *Repos STIFAR* 2025.
- [26] Wagner H, Bladt S. *Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas*. Springer; 1996.
- [27] Sari RP, Laoli MT. Karakterisasi simplisia dan skrining fitokimia Serta Analisis Secara KLT (Kromatografi Lapis Tipis) daun dan kulit buah jeruk lemon (*Citrus limon* (L.) Burm. F.). *JIFI (Jurnal Ilm Farm Imelda)* 2019;2:59–68.
- [28] Klau MHC, Hesturini RJ. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Dandang Gendis (*Clinacanthus nutans* (Burm F) Lindau) Terhadap Daya Analgetik Dan Gambaran Makroskopis Lambung Mencit. *J Farm Sains Indones* 2021;4:6–12.
- [29] Wibowo FB, Tutik T, Amalia P. Standarisasi mutu simplisia kulit bawang merah (*Allium cepa* L.). *J Anal Farm* 2024;9.
- [30] Kemenkes.RI. *Farmakope Herbal Indonesia*. Edisi II. Jakarta: kementerian Kesehatan RI; 2017.
- [31] Senduk TW, Montolalu LADY, Dotulong V, Ratulangi S, Ratulangi US, Bahu KU. Rendemen Ekstrak Air Rebusan Daun Tua Mangrove *Sonneratia alba* (The rendement of boiled water extract of mature leaves of mangrove *Sonneratia alba*) 2020;11:9–15.
- [32] Yanty YN, Sopiandi DS, Veronica C. Fraksinasi dan Skrining Fraksi Biji Kebiul (*Caesalpinia bonduc* (L) Roxb) dengan Metode KLT (Kromatografi Lapis Tipis). *Borneo J Phamascientech* 2019;3:56–64.
- [33] Yulia M. Pengaruh Perbedaan Suhu Pengeringan Terhadap Aktivitas Antioksidan Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L). *SITAWA J Farm Sains Dan Obat Tradis* 2024;3:49–62.
- [34] Kusumo DW, Susanti S, Ningrum EK. Skrining fitokimia senyawa metabolit sekunder pada ekstrak etanol bunga pepaya (*Carica papaya* L.). *JCPS (Journal Curr Pharm Sci* 2022;5:478–83.
- [35] La EOJ, Sawiji RT, Yuliani NMR. Identifikasi Kandungan Metabolit Sekunder dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak n-Heksana Kulit Jeruk Bali (*Citrus maxima* Merr.): Identification of Secondary Metabolite Content and Antioxidant Activity Tests of n-Hexane Extract of Grapefruit Peel (*Citrus maxima* Merr.). *J Surya Med* 2021;6:185–200.
- [36] Nasution HM. Skrining fitokimia dan isolasi senyawa steroid/triterpenoid dari ekstrak n-heksana rumput laut *Eucheuma alvarezii* doty. *J Dunia Farm* 2020;4:108–15.