



Antibacterial activity test of ceremai leaf extract (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) against *Staphylococcus aureus*

Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) terhadap *Staphylococcus aureus*

Alya Nafis¹⁾, Dia Septiani¹⁾, Jekmal Malau¹⁾

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Singaperbangsa Karawang, Jawa Barat, Indonesia.

*e-mail author: dia.septiani@fikes.unsika.ac.id

ABSTRACT

Staphylococcus aureus is a bacterium capable of causing pneumonia. However, the frequent occurrence of antibiotic resistance necessitates the exploration of alternative plant-based antibiotics as natural antibacterial agents. This study aims to analyse the antibacterial activity and chemical compound classes in the ethanol and methanol extracts of *Phyllanthus acidus* (L.) Skeels leaves, commonly known as ceremai leaves, exhibit antibacterial properties. Chemical compound classes were determined using the TLC method. The 96% ethanol extract of ceremai leaves contained flavonoids, alkaloids, triterpenoids, steroids, and phenols. On the other hand, the methanol extract contained flavonoids, alkaloids, steroids, and phenols. The antibacterial activity was evaluated using the Kirby-Bauer agar diffusion method. The testing revealed that ethanol and methanol extracts of ceremai leaves at concentrations of 15%, 20%, 25%, 30%, 40%, and 50% exhibited antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* bacteria. The 50% concentration showed the highest inhibition zone value, with the ethanol extract (96%) measuring 3.86 ± 0.11 mm and the methanol extract measuring 2.73 ± 0.24 mm falling into the weak category.

Keywords: Ceremai Leaf; Antibacterial; TLC.

ABSTRAK

Staphylococcus aureus adalah salah satu bakteri yang dapat menyebabkan pneumonia. Namun, resistensi antibiotik yang sering terjadi mengakibatkan perlunya alternatif antibiotik dari tumbuhan sebagai agen antibakteri alami. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis aktivitas antibakteri dan golongan senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak etanol dan metanol daun ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) yang memiliki aktivitas antibakteri. Analisis golongan senyawa kimia menggunakan metode KLT. Ekstrak etanol 96% daun ceremai mengandung golongan flavonoid, alkaloid, triterpenoid, steroid dan fenol, sedangkan pada ekstrak metanol daun ceremai mengandung golongan senyawa kimia flavonoid, alkaloid, steroid dan fenol. Metode pengujian aktivitas antibakteri yang digunakan yaitu metode difusi agar kirby-bauer. Dari pengujian aktivitas antibakteri tersebut, didapatkan hasil ekstrak etanol dan metanol daun ceremai dengan konsentrasi 15%, 20%, 25%, 30%, 40% dan 50% memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Konsentrasi 50% memiliki nilai zona hambat tertinggi dengan ekstrak etanol 96% sebesar $3,86 \pm 0,11$ mm dan ekstrak metanol sebesar $2,73 \pm 0,24$ milimeter dalam kategori lemah.

Kata kunci: Daun Ceremai; Antibakteri; KLT

PENDAHULUAN

Infeksi merupakan penyebab penyakit yang terus berkembang dari waktu ke waktu akibat lingkungan yang kurang sehat dan gaya hidup yang kurang baik menyebabkan manusia selalu kontak dengan bakteri, virus, fungi, dan parasit lainnya yang dapat menimbulkan berbagai penyakit. Salah satu mikroba patogen yang dapat menyebabkan infeksi adalah *Staphylococcus aureus*. Bakteri *Staphylococcus aureus* adalah salah satu bakteri yang dapat menyebabkan pneumonia. Pneumonia merupakan penyakit infeksi akut yang mengenai jaringan paru-paru (alveoli) dengan gejala berupa batuk disertai napas cepat (frekuensi napas >50x/menit), sesak napas dan demam tinggi serta gejala lainnya (seperti sakit kepala dan nafsu makan berkurang). Pneumonia merupakan salah satu masalah kesehatan yang serius di dunia karena memiliki tingkat kematian yang tinggi. Berdasarkan data UNICEF (*The United Nations Internasional Children's Emergency Fund*) tahun 2015 terdapat 5,9 juta anak (15%) usia <5 tahun yang meninggal dunia. Dari jumlah tersebut, 15% atau 920.136 anak meninggal disebabkan oleh pneumonia (Amalia, 2019). Prevalensi pneumonia di Indonesia adalah sebanyak 4,5% pada tahun 2013 dan turun menjadi 4% pada tahun 2018 dengan Papua dan Nusa Tenggara Timur sebagai daerah penderita pneumonia paling banyak yaitu 7% dan Kepulauan Riau sebagai daerah penderita paling sedikit yaitu 2% (Riskesdas, 2018).

Salah satu pengobatan pneumonia adalah antibiotik. Namun, sering kali terjadinya resistensi terhadap antibiotik yang mengakibatkan tidak terhambatnya pertumbuhan bakteri dalam tubuh. Peningkatan resistensi bakteri penyebab pneumonia terhadap antibiotik akan menyebabkan kurangnya keefektifan terapi pneumonia yang dapat meningkatkan morbiditas dan mortalitas penyakit infeksi pneumonia (Kurniawan et al., 2015). Salah satu alternatif dalam pengobatan infeksi pneumonia yang dapat dilakukan oleh masyarakat Indonesia adalah memanfaatkan tanaman yang berada disekitarnya.

Indonesia memiliki sumber kekayaan alam yang berlimpah khususnya tanaman yang bisa dijadikan obat. Indonesia memiliki sekitar

30.000-50.000 jenis tumbuhan (LIPI, 2015). Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan untuk pengobatan penyakit infeksi adalah daun ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels). Daun ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) mempunyai manfaat yang dapat mengobati urus-urus, kegemukan, asma, sariawan, mual dan mencegah kanker serta mengandung senyawa flavonoid, tanin, saponin, polifenol dan alkaloid (Hariana, 2013). Ekstrak daun ceremai memiliki aktivitas antibakteri, antioksidan, analgesik, dan antiinflamasi (Angamuthu et al., 2016).

Daun ceremai bisa membatasi perkembangan bakteri, hal ini dibuktikan oleh penelitian tentang pengujian aktivitas antibakteri dan manfaat daun ceremai yaitu Marpaung et al., (2022) bahwa ekstrak etanol daun ceremai mengandung senyawa alkaloid, glikosida, saponin, tanin, steroid, dan flavonoid dan berperan sebagai antibakteri dalam membatasi berkembangnya bakteri *Streptococcus pyogenes* dan *Salmonella typhi*. Konsentrasi yang paling bagus dalam membatasi perkembangan bakteri *Streptococcus pyogenes* adalah konsentrasi 25% sebesar $11,46 \pm 0,26$ milimeter (kategori sedang), serta pada bakteri *Salmonella typhi* adalah konsentrasi 25% sebesar $11,43 \pm 0,20$ milimeter (kategori sedang). Selain itu, dibuktikan juga oleh penelitian Susanti dan Safitri (2019) yang melaporkan bahwa ekstrak etanol daun ceremai membatasi perkembangan bakteri *Streptococcus mutans* konsentrasi 30%, 50%, dan 60% dengan konsentrasi yang memberikan zona hambat terbesar yaitu 30% pada rata-rata diameter zona hambat sebesar 8 milimeter. Dalam penelitian ini, ekstrak etanol dan metanol daun ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) dilakukan analisis golongan senyawa kimia dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan digunakan dalam pengujian aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 metode difusi agar kirby-bauer dengan berbagai konsentersasi yang kemudian ditentukan zona hambatnya.

METODE PENELITIAN

Alat dan bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain alat-alat gelas laboratorium, alat maserasi, autoklaf, *Biological Safety Cabinet*

(BSC), blender, cotton swab steril, hotplate magnetic stirrer, inkubator *Shaker*, inkubator suhu, jangka sorong, lemari asam (Lokal®), lemari pendingin, ose bulat, oven, pembakar bunsen, penangas air, penggaris, pinset, *rotary evaporator*, spektrofotometer sinar ultraungu dan sinar tampak, dan timbangan analitik.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain agar, antibiotik Cefazolin 2,5%, asam sulfat (H₂SO₄) 1%, asam sulfat (H₂SO₄) 10%, *aqua pro injection*, *Barium Chlorida* (BaCl₂) 1%, *beef extract*, biakan murni mikroba *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *casein hydrolisate*, Dimetil Sulfoksida (DMSO) 10%, kertas saring, lempeng silica gel 60 GF₂₅₄, *Mueller Hinton Agar* (MHA), *Nutrient Agar* (NA), *Nutrient Broth*, *paper disk*, pelarut etanol 96%, pelarut metanol, reagen FeCl₃, reagen Dragendorf, reagen Liebermann-Burchard, reagen Sitroborat, sampel daun ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels), dan *startch*.

Identifikasi Tanaman

Identifikasi tanaman dilakukan di "Herbarium Bogoriense" Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI)-Bogor.

Pembuatan Simplisia Daun Ceremai

Sebanyak 5 kg daun ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) yang telah dipetik dilakukan pembuatan simplisia dengan disortasi basah dan dicuci, kemudian dilakukan perajangan pada daun tersebut. Setelah itu, dianginkan pada area yang tidak terkena sinar matahari secara langsung (ditutup kain hitam) hingga kering. Setelah kering, dilakukan sortasi kering dan diserbukan menggunakan blender (Conitaty et al., 2022).

Pemeriksaan Makroskopik

Pemeriksaan makroskopik dilakukan dengan cara pengamatan visual secara langsung dengan mengamati bentuk, aroma, warna dan rasa simplisia.

Pemeriksaan Karakteristik Simplisia

Pemeriksaan karakteristik simplisia meliputi: pemeriksaan makroskopik, kadar air, susut pengeringan, kadar sari larut dalam air, kadar sari larut dalam etanol, kadar abu total, dan kadar abu tidak larut asam.

Pembuatan Ekstrak Daun Ceremai

Sampel daun ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) yang telah diserbukan, dimasukkan kedalam wadah maserasi dan ditambahkan etanol 96% hingga terendam semua dan ditutup rapat, dibiarkan selama 24 jam ditempat yang terlindung dari sinar matahari langsung sambil diaduk sekali-sekali. Selanjutnya disaring, dipisahkan antara ampas dan filtrat. Ampas diekstraksi kembali dengan pelarut metanol yang baru. Hal ini dilakukan selama 3 x 24 jam. Hal yang sama dilakukan dengan menggunakan pelarut metanol. Filtrat yang dihasilkan dikumpulkan dan diuapkan dengan *rotary evaporator* sampai diperoleh ekstrak yang kental, lalu dihitung rendemennya (Nurlansi dan Jahidin, 2018).

Analisis Golongan Senyawa Kimia

Analisis golongan senyawa kimia terhadap ekstrak etanol 96% dan metanol dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) meliputi pemeriksaan golongan senyawa flavonoid, alkaloid, triterpenoid, steroid dan fenol.

Pewarnaan Gram

Pewarnaan gram bakteri *Staphylococcus aureus* melalui tahap fiksasi terlebih dahulu dimana teteskan aquades steril diatas kaca objek, selanjutnya koloni bakteri dioleskan diatas aquades steril dan sebarkan hingga merata dan diuapkan diatas bunsen. Kemudian tetesi larutan kristal violet, dibiarkan selama 1 menit, lalu cuci dengan aquades steril dalam botol semprot. Lalu tetesi iodin dan didiamkan dalam waktu 1 menit. Tetesi dengan etanol selama 30 detik, dicuci dengan aquades steril. Lalu tetesi larutan safranin, didiamkan 1 menit dan cuci dengan aquades steril pada botol semprot dan dikeringkan. Amati kaca objek dibawah mikroskop perbesaran 100x (Smith dan Hussey, 2005).

Pengujian Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri pada penelitian ini menggunakan metode difusi agar dengan cara Kirby-Bauer menggunakan medium *Mueller Hinton Agar* (MHA) dilakukan didalam *Biological Safety Cabinet* (BSC). *Mueller Hinton Agar* (MHA) dituang kedalam cawan petri dan didiamkan hingga memadat. Cawan petri distreak dengan suspensi mikroba menggunakan cotton

swab steril dengan metode swab dan didiamkan ±5 menit.

Pada uji skrining antimikroba menggunakan kontrol positif (antibiotik Cefazolin 2,5%), kontrol negatif (DMSO 10%), ekstrak etanol 96% dan metanol daun ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) dengan konsentrasi 15%, 20%, 25%, 30%, 40% dan 50%. *Paper disc* (diameter = 6 milimeter) direndam didalam larutan antibiotik, larutan DMSO 10% dan ekstrak daun ceremai masing-masing konsentrasi selama ±10 menit. Kemudian, *paper disc* diletakkan diatas medium yang sudah distreak dengan suspensi mikroba uji sebelumnya. Selanjutnya cawan petri dibungkus dengan *plastic*

wrap dan diinkubasi dalam waktu 24 jam temperatur 37°C. Selanjutnya, dilakukan pengamatan dan perhitungan zona hambat.

Pengukuran Zona Hambat Bakteri

Pengamatan dilakukan setelah 24 jam masa inkubasi. Diameter zona hambat ditunjukkan dengan zona bening yang dihasilkan disekitar kertas cakram, kemudian diukur menggunakan jangka sorong. Kategori zona hambat dapat diklasifikasikan berdasarkan hasil pengukuran diameter zona bening.

$$\text{Zona hambat (mm)} = \frac{(\text{d.vertikal zona bening} - \text{d.cakram}) + (\text{d.horizontal zona bening} - \text{d.cakram})}{2}$$

Tabel 2. 1 Klasifikasi zona hambat bakteri

Kategori	Zona Hambat (mm)
Sangat Kuat	≥21
Kuat	11-20
Sedang	6-10
Lemah	≤5

(Sumber: Davis & Stout, 1971)

HASIL DAN DISKUSI

Pada penelitian ini menggunakan daun ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels), daun tersebut dilakukan determinasi di Herbarium Bogoriense, Direktorat Pengelolaan Koleksi Ilmiah BRIN Cibinong. Hasil determinasi menunjukkan bahwa sampel tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Phyllanthus acidus* (L.) Skeels dari suku Phyllanthaceae. Selanjutnya daun yang telah diperoleh dibuat simplisia yang kemudian dilakukan pengamatan secara makroskopik, dilakukan dengan cara mencocokkan ciri-ciri morfologi yang terdapat pada daun ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) dengan Farmakope Herbal Indonesia Edisi II Tahun 2017 supaya kesalahan dalam pengumpulan bahan baku dapat dihindari. Hasil identifikasi tersebut menunjukkan bahwa daun tersebut merupakan daun ceremai (*Phyllanthus*

acidus (L.) Skeels). Karakterisasi simplisia daun ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) juga dilakukan meliputi penetapan kadar air, kadar abu total, kadar abu tidak larut asam, kadar sari larut dalam air, dan kadar sari larut dalam etanol, dapat dilihat pada **Tabel 1**. Penetapan kadar air simplisia bertujuan untuk memberikan batasan minimal atau rentang tentang besarnya kandungan air di dalam daun ceremai (Depkes RI., 2000), hasil karakterisasi simplisia daun ceremai penetapan kadar air sebesar 6,9%, kadar air yang melebihi 10% dapat tumbuhnya mikroba, jamur atau serangga, serta merusak mutu simplisia daun ceremai (Saifudin dkk, 2011). Penetapan susut pengeringan bertujuan untuk memberikan batasan maksimal (rentang) tentang besarnya senyawa yang hilang ketika proses pengeringan daun ceremai (Depkes RI., 2000), hasil karakterisasi penetapan susut pengeringan

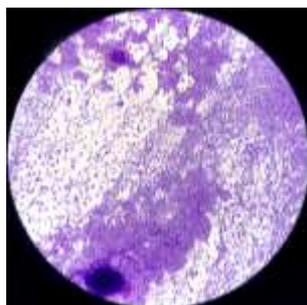
sebesar 0,19%. Penetapan kadar sari larut dalam air dan etanol bertujuan sebagai perkiraan kasar kandungan senyawa zat aktif daun ceremai yang bersifat polar (larut air) dan senyawa aktif yang bersifat semi polar-nonpolar (larut etanol) (Depkes RI., 2000), hasil karakterisasi penetapan kadar sari larut dalam air sebesar 81,5% dan penetapan kadar sari larut dalam etanol sebesar 10,7%. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa daun ceremai lebih banyak larut dalam air dibandingkan dengan etanol sehingga senyawa yang terkandung dalam daun ceremai lebih banyak senyawa yang polar dibandingkan senyawa nonpolar. Penetapan kadar abu total bertujuan untuk mengetahui kandungan mineral internal dan eksternal daun ceremai (Depkes RI., 2000), penetapan kadar abu tidak larut asam mencerminkan adanya kontaminasi mineral atau logam yang tidak larut asam dalam daun ceremai, tingginya kadar abu tidak larut dalam asam menunjukkan adanya kandungan silikat yang berasal dari tanah atau pasir, tanah dan unsur logam perak, timbal dan merkuri (Depkes RI., 2000). Hasil karakterisasi penetapan kadar abu total sebesar 7,8%, dan penetapan kadar abu tidak larut dalam asam sebesar 0,3%. Hasil karakterisasi simplisia yang telah dilakukan menunjukkan bahwa simplisia daun ceremai telah memenuhi persyaratan sesuai dengan Farmakope Herbal Indonesia Edisi II Tahun 2017.

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode maserasi. Maserasi memiliki keunggulan alat yang sederhana, mudah dilakukan, dan dapat menghindari rusaknya sampel yang bersifat termolabil (Mukhriani, 2014). Maserasi daun ceremai menggunakan pelarut etanol 96% dan metanol. Penggunaan pelarut etanol 96% ini didasarkan pada kenyataan bahwa etanol 96% bersifat universal sehingga dapat menarik senyawa polar, semipolar dan nonpolar, tidak toksik, kemampuan menyarinya tinggi dan lebih mudah berpenetrasi kedalam dinding sel sampel daun ceremai daripada etanol dengan konsentrasi lebih rendah (Wendersteyt et al., 2021). Penggunaan pelarut metanol dalam maserasi didasarkan pada kenyataan bahwa metanol bersifat polar sehingga dapat menarik

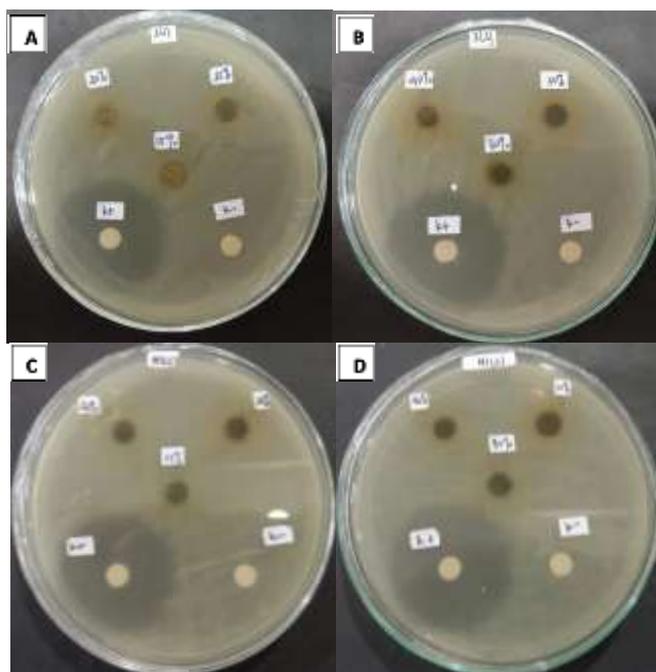
senyawa polar yang terkandung dalam metabolit sekunder daun ceremai. Pelarut metanol lebih polar dibandingkan etanol karena metanol terdapat jumlah atom C yang lebih sedikit dibandingkan etanol, sehingga senyawa aktif yang tertarik oleh kedua pelarut tersebut memiliki tingkat kepolaran yang berbeda (Wiraningtyas et al., 2019). Setelah didapatkan ekstrak kental metanol dan etanol 96% daun ceremai, lalu dihitung nilai rendemennya, dapat dilihat pada **Tabel 2**.

Ekstrak metanol dan etanol 96% daun ceremai dilakukan analisis golongan senyawa kimia dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) terlihat pada **Tabel 3**. dan **Tabel 4**. Berdasarkan hasil analisis golongan senyawa kimia baik ekstrak etanol 96% dan metanol daun ceremai, didapatkan bahwa ekstrak etanol 96% daun ceremai mengandung golongan senyawa kimia flavonoid, alkaloid, triterpenoid, steroid dan fenol, sedangkan pada ekstrak metanol daun ceremai mengandung golongan flavonoid, alkaloid, steroid dan fenol. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Muttaqin et al., (2019) dan Marpaung et al., (2022) bahwa golongan senyawa yang terdapat pada ekstrak etanol daun ceremai adalah flavonoid, polifenol, terpen, alkaloid, tanin, dan steroid. Serta penelitian yang dilakukan oleh Sara (2010) bahwa golongan senyawa yang terdapat pada ekstrak metanol daun ceremai adalah flavonoid, steroid, tanin dan saponin.

Bakteri yang digunakan dalam pengujian ini adalah *Staphylococcus aureus*. Bakteri *Staphylococcus aureus* dilakukan pewarnaan gram terlebih dahulu, dapat dilihat pada **Gambar 1**. Berdasarkan hasil pewarnaan gram, menunjukkan bahwa bakteri *Staphylococcus aureus* adalah bakteri gram positif karena menghasilkan warna ungu, berbentuk bulat (kokus), susunan bakteri bergerombol seperti buah anggur, dapat pula berpasangan atau satu-satu. Warna ungu yang dihasilkan bakteri gram positif disebabkan oleh bakteri yang mempertahankan warna kristal violet-yodium meskipun diberi decolorizer. Bakteri gram positif juga memiliki dinding sel yang mengandung lapisan peptidoglikan yang tebal (90% dari dinding sel) (Smith dan Hussey, 2005).



Gambar 1. Pewarnaan gram bakteri *Staphylococcus aureus*



Gambar 2. Aktivitas antibakteri daun ceremai dengan (A dan B) ekstrak etanol 96% dan (C dan D) ekstrak metanol

Tabel 1. Hasil karakterisasi simplisia

No.	Karakterisasi Simplisia	Hasil	Persyaratan FHI Edisi II Tahun 2017
1.	Kadar air	6,9%	≤10%
2.	Susut pengeringan	0,19%	≤10%
3.	Kadar sari larut dalam air	81,5%	≥16,2%
4.	Kadar sari larut dalam etanol	10,7%	≥10,6%
5.	Kadar abu total	7,8%	≥9,4%
6.	Kadar abu tidak larut asam	0,3%	≤1,2%

Tabel 2. Hasil rendemen ekstraksi

Sampel Daun Ceremai	Pelarut (ml)	Berat Simplisia (gr)	Berat Ekstrak Kental	Rendemen (%)
Etanol 96%	6.495	866	110,129	12,44
Metanol	5.497,5	1.166	67,821	5,81

Tabel 3. Hasil analisis senyawa golongan kimia ekstrak etanol 96%

Ekstrak Etanol 96%					
Golongan Senyawa	Penampak bercak	Rf	Warna noda	Hasil	
Universal	H ₂ SO ₄ 10%	0,93	Merah muda		
		0,93	Jingga		
		0,87	Merah muda		
		0,81	Merah muda		
		0,75	Hijau muda		
		0,67	Merah muda		+
		0,51	Hijau kehitaman		
		0,43	Hijau tua		
		0,2	Kuning kejinggaan		
		0,18	Hijau kehitaman		
		0,03	Merah ungu		
		Flavonoid	Sitroborat		0,81
0,57	Hijau berpendar				
0,51	Hijau kekuningan				
0,4	Kuning				
Alkaloid	Dragendroff	0,32	Kuning	+	
Triterpenoid	Liebermann-Burchardat	0,65	Merah ungu	+	
		0,55	Merah ungu		
		0,48	Merah ungu		
Steroid		0,87	Hijau	+	
		0,51	Hijau		
Fenol	FeCl ₃	0,67	Hijau kehitaman	+	

Hasil: (+) terdapat metabolit sekunder, (-) tidak terdapat metabolit sekunder

Tabel 4. Hasil analisis senyawa golongan kimia ekstrak metanol

Ekstrak Metanol					
Golongan senyawa	Penampak bercak	Rf	Warna noda	Hasil	
Universal	H ₂ SO ₄ 10%	0,98	Hijau tua		
		0,78	Tosca		
		0,5	Hijau kebiruan		
		0,46	Kuning		
		0,16	Hijau		
		0,12	Hijau		+
		0,1	Coklat kehitaman		
		0,02	Coklat		
		0,83	Hijau		
		Flavonoid	Sitroborat		0,6
0,38	Kuning				
0,27	Jingga				
Alkaloid	Dragendroff	0,27	Jingga	+	
Triterpenoid		Tidak tampak	Tidak tampak	-	
Steroid	Liebermann-Burchardat	0,86	Hijau	+	
		0,5	Hijau		
		0,35	Tosca		

Fenol	FeCl ₃	0,78	Hijau kehitaman	+
-------	-------------------	------	-----------------	---

Hasil: (+) terdapat metabolit sekunder, (-) tidak terdapat metabolit sekunder

Tabel 5. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol 96% dan metanol daun ceremai terhadap *Staphylococcus aureus*

Diameter Zona Hambat (mm)								
Ekstrak Etanol 96%								
Pengulangan	15%	20%	25%	30%	40%	50%	K+	K-
1	1,76	2,36	2,28	3,58	2,54	3,8	30	0
2	2,68	2,68	2,16	3,26	2,48	3,8	30,56	0
3	2,76	2,68	2,28	3,84	2,28	4	31,56	0
Total	7,2	7,72	6,72	10,68	7,3	11,6	92,12	0
Rata-rata±SD	2,4± 0,55	2,57± 0,18	2,24± 0,06	3,56± 0,29	2,43± 0,13	3,86± 0,11	30,7± 0,79	0
Diameter Zona Hambat (mm)								
Ekstrak Metanol								
Pengulangan	15%	20%	25%	30%	40%	50%	K+	K-
1	1,64	2	1,7	1,7	1,64	2,52	30,24	0
2	1,88	2,48	2,52	2	1,84	2,68	31,8	0
3	1,92	2,96	3,56	2	2,28	3	31,96	0
Total	5,44	7,44	7,78	5,7	5,76	8,2	94	0
Rata-rata±SD	1,81± 0,15	2,48± 0,48	2,59± 0,93	1,9± 0,17	1,92± 0,32	2,73± 0,24	31,33± 0,95	0

Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun ceremai menggunakan metode difusi cakram Kirby-bauer. Keuntungan metode difusi cakram adalah tidak membutuhkan alat khusus dan fleksibilitas yang lebih besar sehingga mudah dilakukan, serta memiliki tingkat kesesuaian 82%-100% (Fitriana et al., 2019). Media dalam pengujian ini ialah *Mueller Hinton Agar* (MHA) karena memiliki sifat yang netral sehingga tidak memberikan pengaruh terhadap prosedur uji dan memiliki kandungan nutrisi yang baik untuk kultur bakteri (Utomo et al., 2018).

Konsentrasi ekstrak metanol dan etanol 96% daun ceremai yang digunakan dalam pengujian ini adalah 15%, 20%, 25%, 30%, 40%, dan 50%. Tujuan dari variasi konsentrasi ekstrak yang dibuat yaitu untuk mengetahui konsentrasi mana yang memiliki aktivitas antibakteri yang baik.

Berdasarkan hasil nilai rata-rata diameter zona hambat pada **Tabel 5.**, didapatkan bahwa ekstrak etanol 96% dan metanol daun ceremai dengan konsentrasi 15%, 20%, 25%, 30%, 40%,

50% dapat menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dengan ditandai terbentuknya zona bening pada pengujian. Ada beberapa faktor yang dapat mempengaruhi terbentuknya zona hambat seperti kekeruhan suspensi bakteri. Jika suspensi bakteri lebih keruh daripada standarnya, maka diameter zona hambat yang dihasilkan akan lebih besar, begitu pula sebaliknya (Zeniusa et al., 2019). Pada penelitian ini dilakukan secara visual dengan menggunakan standar McFarland 0,5 sebagai pembanding. Suhu inkubasi juga dapat menjadi faktor terbentuknya zona hambat, suhu inkubasi yang kurang dari 35°C maka diameter zona hambat yang dihasilkan akan lebih besar. Suhu inkubasi yang optimal akan memperoleh pertumbuhan yang optimal pula (Zeniusa et al., 2019). Dalam penelitian ini suhu inkubasinya yaitu sebesar 37°C. Selain itu, ketebalan media agar juga dapat menjadi faktor terbentuknya zona hambat. Ketebalan medium yang efektif sebesar 4 mm, jika kurang dari 4 mm maka kecepatan difusi ekstrak akan semakin cepat, begitu pula sebaliknya (Zeniusa et al., 2019). Pada penelitian

ini tidak diketahui secara pasti ketebalan media agar karena tidak dilakukan pengukuran pada media agar.

Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol 96% dan metanol daun ceremai dengan konsentrasi 15%, 20%, 25%, 30%, 40%, 50% memiliki kategori lemah dalam kriteria penggolongan antibakteri dengan zona bening terbesar yang dihasilkan pada konsentrasi 50% ekstrak etanol 96% dan metanol daun ceremai. Pada umumnya, diameter zona hambat cenderung memberikan hasil yang besar selaras dengan tingginya konsentrasi ekstrak dan begitu pula sebaliknya. Namun, pada penelitian ini zona hambat yang dihasilkan tidak sebanding dengan konsentrasi ekstrak. Hal ini sesuai dengan studi yang dilakukan oleh Susanti dan Safitri (2019), dimana konsentrasi ekstrak daun ceremai yang tinggi menghasilkan zona hambat yang lebih kecil. Dewi (2010) juga mengalami penurunan diameter zona hambat yang dihasilkan pada beberapa konsentrasi ekstrak. Hal ini dapat diasumsikan bahwa diameter zona hambat yang dihasilkan tidak selalu mengalami peningkatan selaras dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak, dapat diakibatkan oleh perbedaan kecepatan difusi senyawa antibakteri pada medium tergantung pada jenis variasi konsentrasi senyawa serta lamanya waktu inkubasi tertentu juga memberikan diameter zona hambat yang berbeda-beda (Elifah, 2010).

Kontrol positif Cefazolin memiliki zona hambat dalam kategori sangat kuat. Cefazolin adalah antibiotik golongan sefalosporin generasi pertama dengan spektrum luas yang sangat aktif terhadap bakteri kokus gram positif *staphylococci*, *streptococci*, serta *pneumococci* (Deck dan Winston, 2012). Golongan sefalosporin bersifat antibakterial dengan mekanismenya dalam penghambatan sintesis dinding sel bakteri (Triono dan Purwoko, 2012). Kontrol negatif DMSO 10% tidak menunjukkan adanya zona bening, hal ini menunjukkan bahwa pelarut yang digunakan tidak memberikan aktivitas antibakteri dan tidak memberikan pengaruh terhadap kelompok kontrol.

KESIMPULAN

Ekstrak etanol 96% daun ceremai mengandung golongan senyawa kimia flavonoid, alkaloid, triterpenoid, steroid dan fenol,

sedangkan pada ekstrak metanol daun ceremai mengandung golongan flavonoid, alkaloid, steroid dan fenol. Ekstrak etanol 96% dan metanol daun ceremai memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi 15%, 20%, 25%, 30%, 40%, dan 50%. Konsentrasi 50% memiliki nilai zona hambat tertinggi dengan ekstrak etanol 96% sebesar $3,86 \pm 0,11$ mm dan ekstrak metanol sebesar $2,73 \pm 0,24$ mm.

REFERENSI

- A. W. Bauer, M. W. (1966). Antibiotic Susceptibility Testing By A Standardized Single Disk Method. *The American Journal of Clinical Phatology*, 45(4), 493-496.
- Amalia, L. (2019). Determinan Pneumonia Pada Anak Balitadi Puskesmas Pataruman Iii Kota Banjar Tahun 2018. *Jurnal Medika Hutama*, 1(1), 8–16.
- Amalia, A., Sari, I., Nursanty, R., Farmasi, J., Matematika, F., Pengetahuan, I., Universitas, A., Kuala, S., & Biologi, J. (2017). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Sembung (*Blumea balsamifera* (L.) DC.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA).
- Aryantini, D. (2020). Skrining Senyawa Antibakteri Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* secara KLT Bioautografi. *Jurnal Dunia Farmasi*, 4(3), 126–137. <https://doi.org/10.33085/jdf.v4i3.4677>
- Compean, K. L., & Ynalvez, R. A. (2014). Antimicrobial Activity of Plant Secondary Metabolites: A Review. *Reserach Journal of Medicinal Plant*, 8(5), 204–213.
- Efrida. (2017). Pneumonia Nosokomial: Hospital-Acquired, Ventilator-Associated, dan Health Care-Associated. *Jurnal Kedokteran Unila*, 1(3), 612–618. <http://jke.kedokteran.unila.ac.id/index.php/JK/article/view/1729>
- Hudzicki, J. (2009). Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol . *American Society for Microbiology*, 1-23.
- Humaida, R. (2014). Strategy To Handle Resistance of Antibiotics. *Rifka Humaida | Strategy To Handle Resistance Of Antibiotics J MAJORITY* |, 3, 113.

- Farmakope Herbal Indonesia Edisi II 2017
Kementerian Kesehatan Republik Indonesia
Kemenkes RI. (2018). Hasil Riset Kesehatan Dasar Tahun 2018. *Kementrian Kesehatan RI*, 53(9), 1689–1699.
- Kemenkes RI. (2016). Profil Kesehatan Indonesia.
LIPI. (2015). Indonesia Miliki 7.500 Tanaman Obat. *Lipi.Go.Id. Indonesia Miliki 7.500 Tanaman Obat*
- Marpaung, J. K., Situmorang, M., & Loi, A. (2022). Identifikasi Simplisia Dan Uji Aktivitas Aantibakteri Daun Ceremai (*Phyllanthus acidus* (L .) Skeels) Terhadap Bakteri *Streptococcus pyogenes* Dan Bakteri *Salmonella typhi*. 4(1).
- Miftah Muttaqin, D., Choesrina, R., & Prosiding Farmasi (2019) Vol 5 no 1. (n.d.). Prosiding Farmasi Uji Aktivitas Antifungi Ekstrak Etanol Daun Ceremai (*Phyllanthus Acidus* (L.) Skeels) terhadap *Candida Albicans* Antifungal Activity Of Gooseberry Leaf Aethanol Extract (*Phyllanthus Acidus* (L.) Skeels) Against.
- Nurfitri Arfani, S. S. M. S. (2021). Identifikasi Bakteri *Staphylococcus Aureus* Pada Kulit. PENERBIT KBM INDONESIA. <https://books.google.co.id/books?id=jmpKEAAAQBAJ>
- Nurlansi, & Jahidin. (2018). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Dan Fraksi Etilasetat Daun Ketepeng Cina (*Casia alata* L). 2(2), 13–18. <https://doi.org/10.14341/conf7-8.09.22-84>
- Smith, A., & Hussey, M. (2005). *Gram Stain Protocols*. www.asmscience.org
- Susanti, S. F., & Safitri, R. Z. (2019). Uji Efektifitas Daya Hambat Ekstrak Daun Cengkeh (*Syzigium aromaticum*) Dan Daun Ceremai (*Phyllanthus Acidus*) Dengan Variasi Konsentrasi Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans*. *Jurnal Sains*, 9(17), 25–33.
- Ulfa, E. U., Sari, D. S., & Wijaya, D. (2013). Aktivitas Antibakteri dan KLT Bioautografi Ekstrak Etanol Daun Sisik Naga (*Drymoglossum piloselloides*) terhadap *Streptococcus mutans*. *Stomatogantic (J.K.G Unej)*, 10(1), 39–43.
- World Health Organization. (2022, November 11). *Pneumonia in children*.