

Uji Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Gayam (*Inocarpus Fargifer L*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Epidermidis*

Nur Avni Kaisupy¹, Djulfikri Mewar^{1*}, Jarmil Soulisha¹

¹Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Maluku Husada, Maluku, Indonesia

*Koresponden: Djulfikar Mewar, email: djulfikar@gmail.com

Submitted: October 10, 2024 -Revised: November 5, 2024 -Accepted: November 20, 2024

ABSTRACT

(*Inocarpus fargifer L*) can be traditionally used as a skin medicine, dysentery, urinary tract infections and insect bite swelling. The purpose of this study was to determine the content of secondary metabolite compounds and antibacterial activity. The method in this study was experimental using the well diffusion method. The results of this study indicate that the ethanol extract of gayam leaves (*inocarpus fargifer L*) contains secondary metabolite compounds, namely alkaloids, flavonoids, tannins, and saponins. Antibacterial activity with a concentration of 25% with an average inhibition zone of 19.2 ± 4.08 mm, 50% of 29.5 ± 7.83 mm, 75% of 34.4 ± 10.49 mm, positive control chloramphenicol of 42.5 ± 12.47 mm, and negative control, namely distilled water, has no inhibition zone. The conclusion is that the ethanol extract of gayam leaves has secondary metabolite compounds, namely alkaloids, flavonoids, tannins, and saponins which can inhibit the growth of *Staphylococcus Epidermis* bacteria at concentrations of 25%, 50%, 75% with a positive control of chloramphenicol and the most effective concentration is at a concentration of 75% with an average inhibition zone of 34.4 ± 10.49 mm.

Keywords: *inocarpus fargifer L*; antibacterial; *staphylococcus epidermis*

ABSTRAK

(*Inocarpus fargifer L*) secara tradisional dapat digunakan sebagai obat kulit, disentri, infeksi saluran kencing dan pembengkakan gigitan serangga. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder dan aktivitas antibakteri. Metode dalam penelitian ini adalah eksperimental dengan menggunakan metode difusi sumuran. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun gayam (*inocarpus fargifer L*) mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, flavanoid, tanin, dan saponin. Aktivitas antibakteri dengan konsentrasi 25% dengan rata-rata zona hambat sebesar $19,2 \pm 4,08$ mm, 50% sebesar $29,5 \pm 7,83$ mm, 75% sebesar $34,4 \pm 10,49$ mm, control positif kloramfenikol sebesar $42,5 \pm 12,47$ mm, dan control negatif yaitu aquadest tidak memiliki zona hambat. Kesimpulan ekstrak etanol daun gayam memiliki senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, flavanoid, tanin, dan saponin yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus Epidermis* pada konsentrasi 25%, 50%, 75% dengan control positif kloramfenikol dan konsentrasi yang paling efektif yaitu pada konsentrasi 75% dengan rata-rata zona hambat sebesar $34,4 \pm 10,49$ mm.

Kata kunci: *inocarpus fargifer L*; antibakteri; *staphylococcus epidermis*

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan Negara dengan berbagai macam keanekaragaman tumbuhan yang dapat dimanfaatkan oleh manusia. Keanekaragaman hayati yang melimpah berpotensi dalam penyediaan kebutuhan sumber daya manusia yaitu sebagai bahan baku dalam pembuatan obat tradisional⁽¹⁾. Obat tradisional pada saat ini banyak digunakan karena menurut beberapa penelitian tidak terlalu menyebabkab efek samping, karena masih bisa dicerna oleh tubuh².

Staphylococcus Epidermidis adalah salah satu mikroorganisme yang terletak pada kulit manusia dan permukaan mukosa dengan kemampuan menyebabkan infeksi nosokomial karena penggunaan yang luas dari implan dan perangkat medis. *Staphylococcus Epidermidis* dianggap sebagai patogen oportunistik yaitu tidak menyebabkan penyakit pada orang dengan sistem kekebalan tubuh yang normal, akan tetapi dapat menyerang orang dengan sistem kekebalan tubuh yang lemah. Penyakit yang dapat ditimbulkan dari bakteri ini meliputi infeksi saluran kencing, infeksi pada implan protesa di dalam tubuh, sepsis, *endokarditis*, dan *endophtalmitis*³.

Selama ini pengobatan penyakit akibat bakteri *Staphylococcus Epidermidis* menggunakan antibiotik. Namun ada beberapa kasus resistensi pada antibiotik. Selain karena resistensi, pengguna antibiotik memerlukan biaya yang belum tentu dapat dicapai oleh masyarakat umum. Resistensi merupakan kemampuan bakteri dalam menetralkan dan melemahkan daya kerja antibiotik, artinya pertumbuhan bakteri tidak terhambat⁴. Beberapa faktor yang menjadi penyebab meningkatnya resistensi terhadap antibiotik. Peresepan antibiotik yang tidak rasional atau berlebihan, dimana sebanyak 30 – 50% tidak sesuai dengan indikasi pengobatan, durasi terapi antibiotik dan jenis antibiotik yang dipilih⁵.

Daun gayam merupakan salah satu obat tradisional yang digunakan di masyarakat sebagai obat. Bagian dari tumbuhan ini yang sudah dimanfaatkan sebagai obat disentri, obat infeksi saluran kencing, dan pembengkakan akibat gigitan serangga. Namun kurangnya penelitian daun gayam (*Inocarpus fagifer* L) sehingga peneliti tertarik ingin mengidentifikasi kandungan metabolit sekunder dengan metode Thin layer chromatography (TLC). Dan untuk melihat daya hambat antibakteri ekstrak daun gayam (*Inocarpus fagifer* L) terhadap bakteri *Staphylococcus Epidermidis* dengan menggunakan perbandingan konsentrasi yang berbeda yaitu 25%, 50% dan 75%.

Senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam tumbuhan merupakan zat bioaktif yang berkaitan dengan kandungan kimia dalam tumbuhan, sehingga sebagian tumbuhan dapat digunakan sebagai bahan obat. Tanpa adanya suatu senyawa bioaktif dalam tumbuhan secara umum tumbuhan tersebut tidak dapat digunakan sebagai obat. ekstrak daun gayam (*Inocarpus Fagifer Fosb*) dengan uji pereaksi warna dan Kromatografi Lapis Tipis warna menunjukkan hasil uji positif adanya senyawa alkaloid, flavonoid, terpenoid, dan saponin⁶.

Bakteri merupakan salah satu golongan mikroorganisme prokariotik (bersel tunggal) yang hidup berkoloni dan tidak mempunyai selubung inti namun mampu hidup dimana saja. Menurut klasifikasinya bakteri dibagi menjadi 2 yaitu bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. Beberapa bakteri gram positif dan bakteri gram negatif merupakan flora normal pada tubuh manusia. Flora normal adalah mikroorganisme yang menempati suatu daerah tanpa menimbulkan penyakit pada inang yang ditempati. Bakteri adalah sel prokariotik yang khas yang bersifat uniseluler dan tidak mengandung struktur yang terbatas dalam membran di dalam sitoplasmanya, sel bakteri berbentuk khas seperti bola, batang atau spiral yang umunya bakteri berdiameter 0,5-10 µm dan panjang antara 1,5- 2,5 µm dengan struktur luarnya berupa flagella, pili dan kapsul⁷.

Sel bakteri *Staphylococcus Epidermidis* berbentuk sferis dengan diameter sekitar 1µm dan tersebar dalam kelompok iregular. Koloni *Staphylococcus Epidermidis* memiliki penampakan bulat halus timbul dan mengkilap, berwarna abu-abu hingga putih, bersifat nonmotil dan tidak membentuk spora. *Staphylococcus* tumbuh optimal pada suhu 37°C dalam media aerob atau mikroaerofilik dan membentuk pigmen terbaik pada suhu 200°C - 250°C⁸.

Bakteri ini tumbuh pada suhu optimum 37°C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar (20-25°C). Koloni pada perbenihan padat berwarna abu-abu sampai kuning keemasan, berbentuk bundar, halus, menonjol, dan berkilau. Lebih dari 90% isolat klinik menghasilkan *S. aureus* yang mempunyai kapsul polisakarida atau selaput tipis yang berperan dalam virulensi bakteri. *Staphylococcus Aureus* merupakan bakteri koagulasi positif, dan memfermentasi mannitol, hal ini yang membedakan *Staphylococcus Epidermidis* dengan spesies *Staphylococcus* lainnya. Koloni *Staphylococcus* pada medium padat berbentuk halus, bulat, meninggi, dan berkilau. Koloni berwarna abu-abu hingga kuning keemasan. *Staphylococcus Epidermidis* juga menghasilkan hemolisis pada pertumbuhan optimalnya⁹. Aktivitas antibakteri dapat diuji dengan menggunakan beberapa metode, yaitu metode dilusi (pengenceran), difusi agar, dan metode difusi dilusi. Metode difusi adalah metode yang umum digunakan untuk menganalisis aktivitas antibakteri. Metode dilusi dapat digunakan untuk menentukan kemampuan suatu senyawa antibakteri secara kualitatif dan kuantitatif, sedangkan metode difusi khusus menentukan kemampuan senyawa antibakteri secara kuantitatif³.

Faktor – faktor yang mempengaruhi aktivitas antibakteri terdiri dari, yaitu : (a) Konsentrasi atau intensitas zat antibakteri semakin tinggi konsentrasi zat antibakterinya, maka kemungkinan akan semakin banyak bakteri yang terbunuh dalam waktu yang lebih cepat. (b) Jumlah mikroorganisme semakin banyak jumlah mikroorganisme yang ada, maka semakin lama pula waktu yang diperlukan untuk membunuh bakteri. (c) Kenaikan suhu dapat meningkatkan keaktifan dari desinfektan atau bahan antimikroba. Hal ini disebabkan zat kimia merusak mikroorganisme melalui reaksi kimia dapat dipercepat dengan meningkatkan suhu. (d) Spesies mikroorganisme menunjukkan ketahanan yang berbeda terhadap suatu bahan kimia tertentu. (e) Adanya bahan organik asing dapat menurunkan keefektifan zat kimia antibakteri dengan cara menonaktifkan bahan kimia tersebut. (f) Keasaman (pH) atau kebasahan (POH), Mikroorganisme yang hidup pada pH asam akan lebih mudah dibasmi pada

suhu rendah 27°C dan dalam waktu yang singkat bila dibandingkan dengan mikroorganisme yang hidup pada pH basah¹⁰.

Aktivitas antibakteri dinyatakan positif apabila terbentuk zona hambat berupa zona bening di sekeliling kertas cakram. Bagian yang dihitung dengan jangka sorong adalah diameter dari zona hambat yang terbentuk. Aktivitas daya hambat bakteri dinyatakan berdasarkan zona hambat. Bening yang dihasilkan disekitar *paper disk*. Diameter zona hambat pertumbuhan bakteri diukur dalam satuan mm dan dijadikan ukuran kuantitatif untuk ukuran zona hambat aktivitas tersebut dikelompokkan menjadi 4 kategori yaitu¹⁰.

METODE

Jenis penelitian yang dilakukan yaitu studi eksperimental laboratorium dengan design penelitian *factorial design*, yaitu suatu tindakan terhadap suatu variabel atau lebih yang dimanipulasi agar dapat mempelajari pengaruh setiap variabel terikat atau pengaruh yang diakibatkan adanya interaksi antar beberapa variabel. Penelitian ini akan dilaksanakan di Laboratorium bahan alam program studi Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan (STIKes) Maluku Husada.

Populasi dalam penelitian ini adalah bakteri *Staphylococcus Epidermidis* yang diperoleh dari Balai Kesehatan Daerah Provinsi Maluku. Pohon tumbuhan gayam (*Inocarpus fagifer* L) dan diambil sebanyak 2 kg yang terdapat di Dusun Waitasi, Kecamatan Kairatu, Kabupaten Seram Bagian Barat. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu bakteri *Staphylococcus Epidermidis* yang mendapatkan perlakuan ekstrak daun gayam sebanyak 300 gram dengan berbagai konsentrasi. Penelitian ini menggunakan lima kelompok perlakuan yaitu; (1) Kelompok kontrol negatif (aquades) (K0), (2) Kelompok daun gayam konsentrasi 25%(K1), (3) Kelompok daun gayam konsentrasi 50% (K2), (4) Kelompok daun gayam konsentrasi 75% (K3), (5) Kelompok kontrol positif (kloramfenikol) (K4), (6) dan bakteri *Staphylococcus Epidermidis*.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu simplisia daun gayam, *Staphylococcus Epidermidis*, aquadest, etanol 70%, n-Heksana, Etil Asetat, Kloroform, Etil, Dragendroff, pereaksi AlCl_3 1%, Lieberman-Burchard, FeCl_3 5 % dan HCL 2 N, Nutrien agar (NA), dan kloramfenikol. Daun gayam (*Inocarpus fagifer* L) kemudian dilakukan sortasi basah, kemudian dicuci dengan air mengalir, ditiriskan kemudian dirajang. Simplisia yang telah dilakukan perajangan kemudian sampel diangin-anginkan dengan tujuan untuk mengurangi kadar air pada simplisia, setelah kering sampel disortasi kering, kemudian dihaluskan lalu disaring atau ditapis dan ditimbang berat keringnya.

Pembuatan ekstrak daun gayam (*Inocarpus fagifer* L) dilakukan dengan cara serbuk dan gayam (*Inocarpus fagifer* L) ditimbang 300 gram, kemudian diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi perendaman. Sampel yang telah ditimbang kemudian dimasukkan kedalam bejana maserasi ditambahkan etanol 70% sebanyak 3 liter hingga semua serbuk terendam, dan dimaserasi selama 3 x 24 jam, diaduk setiap hari selama 15 menit hingga homogen. Setelah itu disaring dengan menggunakan kertas alat vakum dan diuapkan rotary evaporator hingga didapatkan ekstrak kental.

Dalam penelitian ini, pelarut yang dipilih dan dianggap sesuai dengan yaitu pelarut etanol 70%, karena pelarut etanol 70% sebagai pelarut polar. Etanol memiliki kelebihan dibandingkan dengan air dan metanol. Senyawa kimia yang mampu disari dengan etanol lebih banyak dibandingkan dengan penyari methanol dan air¹¹.

Identifikasi senyawa metabolit sekunder pada ekstrak daun gayam (*Inocarpus fagifer*) dengan menggunakan Thin layer *chromatography*. Sampel yang digunakan ekstrak metanol, ekstrak fraksi n-heksana, ekstrak fraksi etil asetat, dan ekstrak fraksi air (H_2O). Penyiapan fase diam Silica gel G60 F254 atau plat KLT dengan panjang 8 cm dan lebar 3 cm [4], kemudian direndam dengan pelarut aseton, lalu diaktivasi dengan oven pada suhu 105oC selama 30 menit. Sebanyak 10 mg ekstrak dilarutkan dalam 1 ml dengan pelarut yang sesuai, kemudian ditotolkan pada fase diam lalu dielusi¹².

Plat KLT yang telah ditotolkan dengan ekstrak etanol daun gayam (*Inocarpus fagifer* L) dielusi dengan fase gerak n-Heksana: Etil Asetat (7:3), (1:1) dan Kloroform:Etil asetat (7:3), dengan penampak noda reagen Dragendroff. Reaksi positif ditunjukkan dengan adanya perubahan warna orange atau merah. ⁽¹²⁾ Plat KLT yang telah ditotolkan dengan ekstrak daun gayam (*Inocarpus fagifer* L) dielusi fase gerak n-Heksana : Etil Asetat (7:3), (1:1) dan Kloroform : Etil asetat (7:3), dengan penampak noda pereaksi AlCl_3 1%. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya noda berwarna kuning kecokelatan¹².

Plat KLT yang telah ditotolkan dengan ekstrak etanol daun gayam (*Inocarpus fagifer* L) Tanin Fase gerak metanol-air (6:4), dengan penampak noda Pereaksi FeCl_3 5 %. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya noda berwarna hitam¹³. Identifikasi senyawa Saponin diambil 2 ml ekstrak daun gayam dimasukan kedalam tabung reaksi, ditambahkan air panas secukupnya, dikocok selama 15 menit dan ditambahkan 2 tetes HCL 2 N bila terbentuk buih permanen selama kurang lebih 10 menit

maka memberikan indikasi adanya saponin¹⁴. Alat- alat yang telah dicuci dikeringkan dan dibungkus dengan menggunakan kertas. Dimasukan ke dalam *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15 menit.

Media bakteri dibuatkan terlebih dahulu sebelum dilakukan pembiakan bakteri. Media ini berfungsi sebagai tempat untuk membiakkan bakteri yang akan diuji. Pada penelitian ini media bakteri yang dibuatkan adalah media Nutrient Agar. Pembuatan Nutrient Agar (NA) dengan ditimbang 3,3 gram NA, dilarutkan dalam 165 ml aquadest, dipanaskan, kemudian disterilkan diautoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C. Media NA siap digunakan untuk pertumbuhan bakteri *Staphylococcus Epidermidis* jika media belum digunakan media disimpan di dalam kulkas. Jika akan digunakan, media dipanaskan kembali hingga mendidih lalu dituangkan ke dalam cawan petri dan ditunggu sampai dingin.

Medium nutrien agar (NA) yang telah dibuat, dimasukan ke dalam tabung reaksi lalu dimiringkan setelah NA memadat diambil 1-2 ose bakteri *Staphylococcus Epidermis* menggunakan ose kemudian digoreskan pada permukaan medium NA lalu diinkubasi selama 1x 24 jam. Biakan bakteri *Staphylococcus Epidermis* yang telah diremajakan diambil 1-2 ose dan disuspensikan kedalam 2 ml larutan NaCl 0,9% dan dihomogenkan. Dimasukan 1 tetes bakteri *Staphylococcus Epidermis* dan di sebarakan ke permukaan media menggunakan pipet tetes agar suspensi tersebar merata pada media kemudian didiamkan selama 10 menit agar suspensi tersebar pada media selanjutnya dibuat sumuran pada cawan petri. Setelah 1 x 24 jam, diamati zona hambat yg terbentuk di sekitar kertas cakram kemudian diukur zona hambat secara horisontal dan vertikal dengan menggunakan mistar berkala. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan aplikasi *Graphpad Prism* data hasil uji daya hambat dianalisis dengan uji *One Way Anova*, untuk perbandingan masing kelompok dilanjutkan dengan uji *Tukey's*.

HASIL

Dalam Pembuatan ekstrak etanol daun gayam dilakukan dengan cara maserasi. Sampel ditimbang sebanyak 300 gram dan dimasukan ke dalam toples kaca kemudian ditambahkan pelarut etanol 96% Sebanyak 2 liter sampai sampel terendam kemudian didiamkan selama 3 x 24 jam. Setelah itu disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan filtrat dan residunya. Residu daun gayam dibuang dan filtrat yang diperoleh kemudian diuapkan dengan menggunakan *hairdrayer* untuk mendapatkan ekstrak kental. Ekstrak kental yang dihasilkan ini kemudian disimpan dan ekstak yang diperoleh ini kemudian dihitung rendemennnya. Rendemen ekstrak total dihitung dengan membandingkan berat awal simplisia dan berat ekstrak yang dihasilkan.

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam etanol daun gayam (*Inocarpus Fargifer L.*). Uji skrining fitokimia pada penelitian ini menggunakan lempeng TIC (*Thing Layer Chromatograph*). Pada ekstrak etanol daun gayam (*Inocarpus Fargifer L.*).didapatkan % rendamen sebanyak 10%. Dilakukan skrining fitokimia dengan hasil positif dari senyawa metabolit sekunder yang menggunakan lbeberapa pereaksi di tunjukan pada Tabel berikut :

Tabel 1. ekstrak daun gayam (*Inocarpus Fargifer L.*)

No	Senyawa Metabolik Sekunder	Perubahan	Hasil
1.	Alkaloid	Merah	+
2.	Flavanoid	Kuning kecoklatan	+
3.	Tanin	Noda berwarna hitam	+
4.	Saponin	Berbusa	+

Keterangan:

(+) = Positif mengandung senyawa metabolik sekunder

(-) = Negatif mengandung senyawa metabolik sekunder

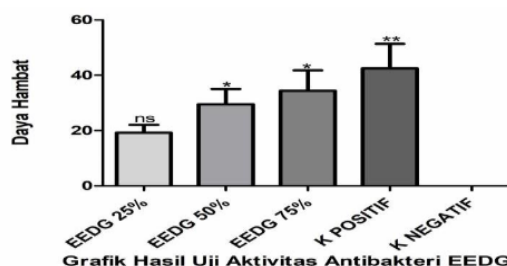
Berdasarkan tabel 1 hasil skrining fitokimia ekstrak etanol daun gayam (*Inocarpus Fargifer L.*) mengandung senyawa alkaloid, flavanoid, tanin, dan saponin. Aktivitas antibakteri ekstrak Daun gayam (*Inocarpus Fargifer L.*) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus Epidermis* menggunakan metode difusi sumuran, didapatkan rata-rata diameter zona hambat pengamatan 24 jam dapat dilihat pada table berikut :

Table 2 uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol gayam (*Inocarpus Fargifer L.*)

Nama Bakteri Uji	Konsentrasi Ekstrak	Hasil Pengukuran Zona Hambat (Mm)			Rata-rata diameter zona hambat $\pm$ SD	Keterangan
		P1	P2	P3		
<i>Staphylococcus Epidermis</i>	25%	24,2	14,2	19,2	19,2 $\pm$ 4,08	Kuat
	50%	31,2	19,2	38,2	29,5 $\pm$ 7,83	Sangat kuat
	75%	39,2	19,8	44,2	34,4 $\pm$ 10,49	Sangat kuat
	Kloramfenikol	59,2	39,2	29,2	42,5 $\pm$ 12,47	Sangat kuat
	Aquadest	0	0	0	0 $\pm$ 0	-

Keterangan:
Sangat Kuat : > 20 mm
Kuat : 10-20 mm
Sedang : 5-10 mm
Lemah : < 5 mm

Berdasarkan tabel 2 hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol gayam (*Inocarpus Fargifer L.*) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus Epidermis* dilakukan pengujian sebanyak 3 kali dan didapatkan hasil rata-rata diameter zona hambat yaitu pada konsentrasi 25% memiliki daya hambat pertumbuhan bakteri sebesar 19,2 $\pm$ 4,08 mm, konsentrasi 50% sebesar 29,5 $\pm$ 7,83 mm, konsentrasi 75% sebesar 34,4 $\pm$ 10,49 mm, kontrol pembanding yaitu antibiotik kloramfenikol diameter zona hambatnya sebesar 42,5 $\pm$ 12,47 mm dan kontrol negatifnya yaitu aquades tidak terdapatnya zona hambat.



Gambar 1 Grafik Hasil Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Gayam

Berdasarkan grafik hasil uji ekstrak etanol daun gayam pada gambar terhadap bakteri uji dengan analisis data anova di lanjutkan uji Tukey's menunjukkan bahwa tidak ada hasil yang signifikan pada konsentrasi 25% dengan 50%, konsentrasi 25% dengan 75%, konsentrasi 25% dengan kontrol positif, dan konsentrasi 25% dengan kontrol negatif. Sedangkan pada konsentrasi 50% menunjukkan tidak adanya hasil yang signifikan 75%, dan konsentrasi 50% dengan kontrol positif. Pada konsentrasi 50% dengan kelompok kontrol negatif menunjukkan hasil yang signifikan dengan nilai p -value = 0,04. Konsentrasi 75% dengan kelompok kontrol positif tidak ada perbedaan yang signifikan, sedangkan pada konsentrasi 75% dengan kontrol negatif ada perbedaan yang signifikan.

Tujuan penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder yang ada pada ekstrak etanol daun gayam menggunakan metode *Thin Layer Chromatography* (TLC), dan untuk mengetahui ekstrak etanol daun gayam (*Inocarpus fagifer L.*) dengan konsentrasi 25%, 50%, dan 75%. Proses ekstraksi dilakukan bertujuan untuk menarik semua zat aktif dan komponen kimia yang terdapat dalam simplisia. Prinsip ekstraksi didasarkan pada perpindahan masa komponen zat yang terlarut kedalam pelarut sehingga terjadi perpindahan pada lapisan antar muka dan berdifusi masuk ke dalam pelarut¹⁵. Pelarut yang digunakan adalah etanol 70% karena pelarut ini memiliki sifat non toksik, juga lebih efektif untuk menarik senyawa kimia serta mampu membunuh mikroba/mencegah pertumbuhan mikroba dalam sampel, selain itu etanol 70% bersifat polar, universal dan mudah didapat¹⁶.

Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi. Metode ini lebih mudah, sederhana dan tanpa pemanasan. Karena jika menggunakan pemanasan dapat membuat kadar senyawa yang terkandung dalam simplisia berkurang. Maserasi dilakukan selama 3x24 yaitu agar senyawa yang terkandung di dalam suatu herbal dapat tertarik dengan sempurna. Selama proses perendaman, sampel disimpan di dalam wadah tertutup dan terlindung dari cahaya matahari langsung untuk mencegah terjadinya perubahan warna¹⁵. Ekstrak yang diperoleh dipekatkan dengan evaporator sampai diperoleh ekstrak yang kental berwarna hijau tua, kemudian dihitung rendamennya. Rendamen total dihitung dengan membandingkan berat awal simplisia dan ekstrak yang dihasilkan dan dikalikan dengan 100, hasil rendamen yang didapatkan yaitu 10%. Tujuan penetapan rendamen

simplicia adalah untuk mengetahui perkiraan jumlah simplicia yang diperlukan dalam pembuatan ekstrak kental selain itu nilai rendamen juga berkaitan dengan banyaknya kandungan bioaktif yang terkandung dalam simplicia¹⁶.

Berdasarkan hasil skrining fitokimia ekstrak etanol daun gayam (*Inocarpus Fargifer* L.) mengandung senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavanoid, saponin, dan tanin. Penelitian ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang telah dilakukan dimana hasil dari uji pereaksi warna menggunakan metode TLC (*Thin Layer Chromatography*) atau KLT (Kromatografi Lapis Tipis) menunjukan hasil positif adanya senyawa alkaloid, flavanoid, tanin dan saponin pada ekstrak etanol daun gayam (*Inocarpus Fargifer* L.)¹⁷.

Analisa kualitatif senyawa alkaloid bertujuan untuk mengetahui keberadaan senyawa alkaloid dalam sampel daun gayam. Hasil uji menunjukkan hasil positif dengan terbentuknya warna merah . ekstrak daun gayam (*Inocarpus Fargifer* L.) positif mengandung alkaloid, yang ditandai dengan terbentuknya warna merah. Hal ini disebabkan karena warna merah yang terbentuk pada ekstrak disebabkan oleh fase gerak kloroform dan metanol 8:2. Alkaloid diisolasi berdasarkan prinsip ekstraksi asam-basa. Alkaloid memiliki sifat basa dari atom nitrogen penyusunnya. Umumnya alkaloid di dalam tumbuhan terikat dengan asam organik membentuk garam. Kloroform dan metanol dapat melarutkan alkaloid dengan baik dan telah umum digunakan dalam proses isolasi. Kloroform dan metanol memiliki sifat semipolar sehingga dapat dengan baik mengikat alkaloid. Hasil positif uji alkaloid menggunakan reagen *Dragendorff* yaitu terbentuk warna merah pada lempeng TLC. Warna yang terbentuk tersebut juga merupakan kalium alkaloid. Salah satu komponen penyusun reagen *Dragendorff* yaitu bismut nitrat yang mengandung garam bismut. Garam bismut ini mengandung ion Bi^{3+} yang mudah terhidrolisis membentuk menjadi ion bismutit (BiO^+). Agar proses hidrolisis ini tidak terjadi, maka bismut nitrat dilarutkan menggunakan HCl, sehingga kesetimbangan bergeser ke arah kiri yang menyebabkan reaksi hidrolisis tidak terjadi. Reaksi yang terjadi antara Ion Bi^{3+} dari bismut nitrat dengan kalium iodida membentuk endapan hitam Bismut (III) iodida yang terlarut ke dalam kalium iodida berlebih membentuk kalium tetraiodobismutat. Pada uji alkaloid dengan reagen *dragendorff*, nitrogen digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan k^+ yang merupakan ion logam¹⁸.

Alkaloid berkhasiat sebagai antidiare, antidiabetes, antibakteri dan antimalaria. Mekanisme kerja senyawa ini sebagai antibakteri adalah dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut, selain itu komponen alkaloid diketahui sebagai interkelator DNA dan menghambat enzim topoisomerase sel bakteri¹⁹.

Analisa kualitatif senyawa flavonoid bertujuan untuk mengetahui keberadaan senyawa flavonoid dalam sampel daun gayam. Hasil uji menunjukkan hasil positif dengan terbentuknya warna kuning kecoklatan. Ekstrak daun gayam (*Inocarpus Fargifer* L.) positif mengandung flavanoid, yang ditandai dengan adanya perubahan berwarna kuning kecoklatan. Dalam uji menggunakan fase gerak kloroform dan metanol 8:2. Senyawa flavanoid yang teridentifikasi dengan adanya warna kuning kecoklatan disebabkan oleh kloroform dan metanol karena flavanoid juga termasuk dalam senyawa fenol yang apabila direaksikan dengan basa akan terbentuk warna akibat terjadinya sistem konjugasi dari gugus aromatik. Hasil positif uji flavanoid menggunakan FeCl_3 yaitu terbentuk warna kuning kecoklatan lempeng TLC. Karena FeCl_3 bereaksi dengan gugus $-\text{OH}$ berwarna yang terbentuk diduga sebagai besi (III) heksafenolat. Ion Fe^{3+} mengalami hibridisasi orbital sehingga ion Fe^{3+} memiliki 6 orbital kosong yang diisi oleh pendonor pasangan elektron, yaitu atom oksigen pada senyawa fenolik yang memiliki pasangan electron bebas²⁰.

Flavonoid pada tumbuhan memiliki berbagai peranan yang penting, seperti sebagai pemberi warna dan aroma pada bunga dan buah, sebagai signaling molecules, dan sebagai agen detoksifikasi. Selain itu, flavonoid juga berperan untuk melindungi tumbuhan dari cekaman biotik maupun abiotik, juga untuk menyaring sinar UV, menyebabkan flavonoid banyak ditemukan pada organ daun tumbuhan. Mekanisme kerja flavonoid sebagai antimikroba dapat dibagi menjadi 3 yaitu menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membrane sel dan menghambat metabolisme energi²⁰.

Analisa kualitatif senyawa tanin bertujuan untuk mengetahui keberadaan senyawa tanin dalam sampel daun gayam. Hasil uji menunjukkan hasil positif dengan terbentuknya noda berwarna hitam. Ekstrak etanol daun gayam (*Inocarpus Fargifer* L.) positif mengandung tanin, ditandai dengan adanya perubahan dengan terbentuknya noda berwarna hitam. Pada uji senyawa tanin menggunakan fase gerak metanol dan air 6:4, hal ini disebabkan oleh adanya ikatan kovalen antara methanol dengan aquades, senyawa tanin yang melepaskan atom H dan menghasilkan senyawa kompleks berwarna hitam. Uji kandungan tanin dilakukan dengan menentukan keberadaan senyawa fenol dengan cara menyempatkan FeCl_3 pada lempeng TLC. Adanya gugus fenol dalam ekstrak dibuktikan dengan

terbentuknya noda berwarna hitam . Dengan uji ini maka dimungkinkan pada ekstrak daun mengandung tanin yang merupakan kelompok senyawa polifenol. Terbentuknya senyawa kompleks antara Reaksi antara tanin dengan FeCl_3 mampu membentuk senyawa kompleks. Hal ini dikarenakan ion Fe^{3+} pada FeCl_3 berperan sebagai atom pusat dan tanin memiliki atom O dengan pasangan elektron bebas yang mampu berkoordinasi sebagai ligan. Ion Fe^{3+} memiliki kemampuan untuk mengikat tiga tanin yang memiliki 2 atom O yang berperan sebagai atom donor pada posisi 4' dan 5' dihidroksi, sehingga pada atom pusat dapat dikoordinasikan sebanyak enam pasang elektron bebas. Atom O pada posisi 4' dan 5' dihidroksi memungkinkan menjadi ligan karena energi yang dimiliki merupakan yang paling rendah dalam proses pembentukan senyawa kompleks²⁰.

Tanin berkhasiat sebagai antidiare, antioksidan, astringen, dan antibakteri. Mekanisme kerja tanin membuat membran sel bakteri menyusut, yang membuat sel lebih permeabel. Karena itu, metabolisme bakteri menjadi kacau, yang menyebabkan lisis dan kematian²¹.

Analisa kualitatif senyawa saponin bertujuan untuk mengetahui keberadaan senyawa saponin dalam sampel daun gayam. Hasil uji menunjukkan hasil positif dengan terbentuknya warna jingga. Ekstrak daun gayam (*Inocarpus Fargifer L.*) positif mengandung saponin, ditandai dengan adanya busa. Saponin memiliki dua gugus berbeda sifat yaitu gugus hidrofilik dan gugus hidrofobik. Penambahan HCl pada pengujian saponin menyebabkan meningkatnya kepolaran senyawa saponin sehingga terjadi perubahan letak gugus penyusunannya. Dalam keadaan tersebut, gugus yang bersifat polar (hidrofilik) akan menghadap ke luar dan gugus non-polar (hidrofobik) menghadap ke dalam dan membentuk struktur yang disebut struktur misel. Keadaan ini membentuk busa yang menjadi tanda adanya senyawa saponin dalam ekstrak²⁰.

Saponin berkhasiat sebagai antioksidan, antivirus, antibakteri, dan antikarsinogenik. Mekanisme kerja saponin pada daun kayu manis dapat membunuh bakteri dengan cara merusak membran sel bakteri tersebut dan sel akan mati²¹. Setelah uji skrining fitokimia, dilanjutkan dengan uji aktivitas antibakteri. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan beberapa konsentrasi yaitu 25%, 50%, dan 75%. Tujuan digunakan tiga varian konsentrasi ini untuk mengetahui konsentrasi berapakah ekstrak yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus Epidermis*, kontrol pembanding yang digunakan adalah kontrol negatifnya menggunakan aquades. Alasan penggunaan aquades karena termasuk dalam senyawa netral yang tidak berefek terhadap pertumbuhan bakteri sehingga aktivitas antibakteri tidak akan terjadi atau aquades tidak menghambat pertumbuhan bakteri dan kontrol positifnya menggunakan antibiotik kloramfenikol. Alasan penggunaan kloramfenikol karena kloramfenikol merupakan antibiotik bakteriostatik berspektrum luas yang aktif terhadap organisme-organisme aerobik dan anaerobik gram positif maupun gram negatif. Alasan menggunakan aquades sebagai pembanding untuk melihat ada atau tidaknya pengaruh pelarut pertumbuhan bakteri²².

Penelitian ini menggunakan metode difusi dengan cara sumuran. Alasan penggunaan metode difusi dengan cara sumuran yaitu ekstrak langsung dimasukkan di setiap lubang maka efek untuk menghambat bakteri lebih kuat dan ekstrak bekerja tidak hanya pada permukaan media namun bekerja sampai ke bawah media sehingga mempermudah ketika mengukur daya hambat pertumbuhan bakteri. Pada metode sumuran terjadi proses osmolaritas dari konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi dari metode difusi disk, setiap lubang di isi dengan konsentrasi ekstrak maka osmolaritas terjadi lebih menyeluruh dan lebih homogen serta konsentrasi ekstrak lebih kuat dan lebih tinggi untuk menghambat bakteri²³.

Bakteri *Staphylococcus Epidermis* dalam penelitian ini digunakan karena salah satu penyebab infeksi pada kulit. Bakteri ini secara alami hidup di membran kulit, membran mukosa manusia, dan merupakan bakteri gram positif, serta bersifat anaerob fakultatif yang bisa tumbuh dengan respirasi aerobik atau dengan fermentasi²⁴. Bakteri *Staphylococcus epidermis* ini merupakan bakteri yang umumnya resisten terhadap antibiotik seperti kloramfenikol, penisilin, dan metisilin. Pemberian antibiotik memang berpotensi menyebabkan bakteri patogen menjadi resisten selain itu obat-obatan jenis antibiotik relatif lebih mahal. Sehingga perlu diketahui bahan alami yang berpotensi mempunyai pengaruh sebagai antibakteri yang diharapkan lebih efektif, efisien, dan aman dalam upaya menghambat dan membunuh pertumbuhan bakteri *Staphylococcus Epidermidis*²⁴.

Hasil penelitian uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun gayam (*Inocarpus Fargifer L.*) asal Dusun Waitasi terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus Epidermidis* bahwa diameter zona hambat yang terbentuk dimulai dari konsentrasi 25% memiliki daya hambat pertumbuhan bakteri sebesar $19,2 \pm 4,08$ mm, konsentrasi 50% memiliki daya hambat pertumbuhan bakteri sebesar $29,5 \pm 7,83$ mm, dan pada konsentrasi 75% memiliki daya hambat pertumbuhan bakteri sebesar $34,4 \pm 10,49$ mm. Sedangkan perlakuan kontrol positif yang berisi antibiotik kloramfenikol memiliki daya hambat yang terbentuk yaitu sebesar $42,5 \pm 12,47$ mm dan untuk kontrol negatifnya aquades tidak

terdapat zona hambat. Penelitian ini dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali agar mendapatkan hasil yang lebih akurat.

Berdasarkan hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi yang digunakan maka semakin besar daya hambat pertumbuhan bakteri uji. Penentuan kriteria ini berdasarkan klasifikasi zona hambat bakteri sebagai berikut : daerah hambatan 20 mm atau lebih termasuk sangat kuat, daerah hambatan 10-20 mm kategori kuat, daerah hambatan 5-10 mm kategori sedang, dan daerah hambatan 5 mm atau kurang termasuk kategori lemah²⁵.

Penelitian ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang menemukan bahwa ekstrak etanol 96% daun gayam (*Inocarpus Fargifer L.*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermis* yang sangat kuat yaitu pada konsentrasi 20% sebesar 7,6 mm, konsentrasi 40% sebesar 9,3 mm, konsentrasi 60% sebesar 11,6 mm, dan pada konsentrasi 80% sebesar 17 mm, dan 100% sebesar 21,3 sedangkan pada penelitian ini pada konsentrasi 25% sebesar 19,2 mm, konsentrasi 50% sebesar 19,5 mm, dan 75% sebesar 34,4 mm. Dapat menghambat pertumbuhan bakteri yaitu sebesar 17,33 mm dan pada konsentrasi 90% sebesar 22,67 mm²⁶.

Asumsi peneliti pada penelitian ini adalah ada beberapa faktor yang dapat mempengaruhi aktivitas antibakteri, yaitu konsentrasi ekstrak, dimana jika semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin besar pula diameter zona hambatnya, Semakin banyak kandungan senyawa metabolit sekunder yang menghambat pertumbuhan bakteri maka semakin besar pula zona hambatnya, dan perbedaan tempat penelitian juga dapat mempengaruhi karena pada setiap tempat memiliki suhu, intensitas cahaya, pH dan kandungan unsur hara tanah yang berbeda²⁷.

KESIMPULAN

Daun Gayam (*Inocarpus Fargifer L.*) Dusun Waitasi Kecamatan Kairatu Kabupaten Seram Bagian Barat positif mengandung alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin. Ekstrak etanol daun gayam (*Inocarpus Fargifer L.*) memiliki pengaruh aktivitas antibakteri *Staphylococcus Epidermis* pada konsentrasi 50% dan 75 %. Diharapkan penelitian selanjutnya agar melakukan penelitian dengan menggunakan konsentrasi yang lebih tinggi seperti konsentrasi 10%, 15%, dan 20 dan menggunakan bakteri yang berbeda seperti *Staphylococcus Aureus*, *Sallmonela Thypi*, *Escherichia Coli*.

REFERENSI

1. Inayah. Keanekaragaman hayati sebagai sumber bahan baku obat tradisional. 2019.
2. Parwata I. Penggunaan obat tradisional dan efek sampingnya terhadap tubuh manusia. 2021.
3. Wahyuni. (2017). *Poltekkes kemenkes yogyakarta*. 9–23
4. Aisha. Daya hambat ekstrak pandan wangi (*pandanus amaryllifolius roxb.*) Terhadap pertumbuhan bakteri *staphylococcus epidermidis*, pp. 15–16.(2018). Available at: <http://repository.unhas.ac.id/bitstream/handle/123456789/15733/fix.pdf?sequence=1>. 3(2), 17–26. <https://doi.org/10.55724/j.biofar.trop.v3i2.280>.
5. Ventola. *The antibiotic resistance crisis part 1 : causes and threats, a peer reviewed journal for formulary management*, 40 (4), 277–283. 7(10), 79–89. (2015).
6. Zainuddin, R. *Identifikasi senyawa metabolit sekunder pada ekstrak daun gayam (inocarpus fagifer fosb) dengan menggunakan klt identification of secondary metabolite compounds on the extract of gayam leaves (inocarpus fagifer fosb) using tlc abstrak metode penelitia*.2021
7. Radiena. *Aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat alga hijau silpau (dictyosphaeria versluysii) terhadap bakteri escherichia coli, pseudomonas aeruginosa dan staphylococcus epidermidis*. (2015).
8. Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. *Mikrobiologi Kedokteran*. 24 ed. Jakarta: EGC; 2010.
9. Dwi Latifa Sari. *Karakterisasi Staphylococcus epidermidis pada media pertumbuhan dengan variasi waktu inkubasi*. Yogyakarta: Universitas Ahmad Dahlan; 2018.
10. Aprilia. *Analysis factors of bacteria in the refill water at semarang district*. Public health perspectives journal ,biota,vol.6 no.1. March, 1–19. (2018).
11. Gina. *Perbandingan menggunakan untuk maserasi pelarut etanol 70%*. *Pharmacon*, 9(3), 404. (2021). <https://doi.org/10.35799/pha.9.2020.30025>
12. Brigita, R. *Skrining fitokimia dan profil klt ekstrak dan fraksi dari daun berenuk (crescentia cujete l.) Serta uji dpqh phytochemical*. 339–347. (2021)
13. Putu, e. *Skrining fitokimia dan analisis kromatografi lapis tipis ekstrak tanaman patikan kebo (euphorbia hirta l.)*. 3(2), 61–70. (2019).
14. Lestari A. *Uji fitokimia senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak tumbuhan*. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada; 2021.

15. Hasan, H., Thomas, N.A., Taupik, M., Potabuga, G. Efek Entelmintik Ekstrak Metanol Kuli Batang Nangka (*Artocarpus Heterophyllus*) Terhadap Cacing *Ascaris Lumbricoides*. journal syifa science and clinical research. E-ISSN; 2556-9612; P-ISSN; 2656-8187. (2022).
16. Astika, R.Y., Sani, F.K., Elisma. Uji Aktivitas Anti Inflamasi Ekstrak Etanol Daun Kayu Manis (*Cinnamomum Burmanni*) Pada Mencit Putih Jantan. Jurnal Ilmiah Manuntung: Sains Farmasi Dan Kesehatan. P-ISSN..2442-115x; E-ISSN.2477-1821. (2022).
17. Rohama & Zainudin Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Pada Ekstrak Daun Gayam (*Inocarpus Fagifer Fosb*) Dengan Menggunakan KLT. Jurnal Surya Medika (JSM) vol 6 no 2, Pge 125-129. (2021)
18. Tjandra, R.F., Fatimawali., Datu, O.S. Senyawa Alkaloid Dan Uji Daya Hambat Ekstrak Buah Siri (*Piple Betle L.*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Epidrmidis*. Jurnal Penguatan Riset Dan Pengembangan:8(2):1723-179. (2020).
19. Gultom Endang Sulistyarini, Nurhasanah, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Daun Kirinyuh (*Chromolaena Odorata*) Terhadap Bakteri Mdr (*Multi Drug Resistant*) Dengan Metode Klt Bioautografi. Jurnal Biosains Vol. 6 No. 2 Agustus 2020. Universitas Negeri Medan. 2020.
20. Khafid M. Interaksi ion logam dengan senyawa fenolik: mekanisme dan aplikasi. Yogyakarta: Universitas Negeri Yogyakarta; 2023.
21. Siregar Reja Aulia, Ira Cinta Lestari, Irma Yanti Rangkuti, Siti Kemala Sari,. Uji efektivitas antibiotik ekstrak etanol daun kayu manis (*cinnamomum burmannii*) terhadap *Staphylococcus Aureus* secara *in vitro*. Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sumatera Utara. 2023
22. Umar Cut Bidara Panita, Pia Batmomolin, Arga Rizqiati Wahid, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Batang Santigi (*Pemphisacidula*) Terhadap Bakteri *Escherichia Coli* Dengan Metode Difusi Cakram. Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Maluku Husada. JURNAL JIKKI Vol 2 No. 2 JULI (2022) Hal 143-152, P-ISSN : 2809-7181 E-ISSN : 2809-7173. 2022
23. Pattipeilohy R, Manuain YP, Welerubun A. Pengaruh konsentrasi ekstrak terhadap daya hambat bakteri. *Jurnal Biologi dan Sains Kesehatan*. 2022;10(2):123–30.
24. Rahayu, I.K., Hardiani E., Hidayatunnadiya, R., Hayyu, G.P., Firdausi, Z., Rahmawati, R.P. Antibacterial Effects Of Cayenne Pepper Leavis Extract (*Capsicum Frutescens L.*) Againsts The Responsibility *Staphylococcus Epidermidis*. Journal Urecol University Research Colloquium; e-ISSN;2621-0584. (2021).
25. Aisyah, N. Analisis Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Bidara (*Ziziphus Mauritiana L.*) Terhadap *Esherichiacoli* Dan *Staphylococcusaureus*. Uin ArRaniry. (2021).
26. Hayati S, Nurhayati E, Ramadhani R. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol 96% daun gayam (*Inocarpus fagifer L.*) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Biologi Farmasi*. 2023;15(1):45–52.
27. Abdominal, P., Exercise, S., Penurunan, T., & Nyeri, I. Fakumi medical journal. 2(5), 359-367. (2022).