

KADAR FENOLIK TOTAL DAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL BIJI PETAI CINA (*Leucaena leucocephala* (Lamk) de Wit) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* MENGGUNAKAN METODE CAKRAM DISK

Senja Mukti Lilan Sari

Prodi S1 Farmasi, STIKES Muhammadiyah Pekajangan Pekalongan
email: senjamukti_lilansari@yahoo.com

Abstract

The growth of Staphylococcus aureus can be avoided by phenol compound. Plant which has phenol compound is petai cina seeds. The purpose of this study is to specify a total phenolic content and know the activity of anti-bacteria ethanol extract of petai cina seeds toward Staphylococcus aureus bacteria. The first step is to know the active bacteria from extracting the ethanol extract of petai cina seeds, the second step is to specify a total phenolic content by the folin-ciocalteu method and the three step to know the activity of the anti-bacteria by disc diffusion method. The next step of the study used completely randomized design with the extract concentration in an amount of 12,5, 25, 50, 100 and 200 mg/mL. The extract of petai cina seeds in this study used maserasi method. The result of the study shows that ethanol extract of petai cina seeds has active compound, namely phenol, terpenoid and tannin. The ethanolic extract of petai cina seeds obtained total phenolic content of $0,2794 \pm 0,0048$ mg GAE/g of extract. The extraction of petai cina seeds is capable of avoiding Staphylococcus aureus bacteria in an amount of 8,46 mm in concentration 25 mg/mL. While in concentration 50 mg/mL shows the diameter of blocked zone in an amount of 13.74 mm, concentration 100 mg/mL shows diameter of blocked zone in an amount of 17,38 mm and concentration 200 mg/mL shows diameter of blocked zone in an amount of 20,44 mm. to conclude that the ethanol extract of petai cina seeds has a potential as anti-bacteria toward the growth of Staphylococcus aureus.

Keywords: *Petai cina , Phenolic total, Antibacteria*

1. PENDAHULUAN

Dalam upaya penanggulangan infeksi oleh mikroorganisme, diperlukan obat-obat yang mempunyai daya kerja optimal dan efek samping yang kecil. Penggunaan senyawa antibakteri alami lebih disarankan daripada penggunaan senyawa antibakteri sintetik karena dapat menimbulkan efek samping salah satunya menyebabkan resistensi terhadap bakteri (Refdanita, *et al.*, 2004). Senyawa antibakteri yang berasal dari bahan alami tidak bersifat karsinogenik dan dapat mengurangi biaya produksi apabila dibandingkan dengan senyawa antibakteri yang sintetik.

Tanaman merupakan salah satu sumber bahan alami yang sangat penting dalam upaya pengobatan dan mempertahankan kesehatan masyarakat. Petai cina adalah

salah satu tanaman yang memiliki potensi sebagai antibakteri (Usman, 2016).

Biji petai cina memiliki beberapa kandungan komponen aktif yaitu alkaloid, saponin, flavonoid, tanin dan asam amino serta memiliki kandungan mimosine, leukanin dan leukanol (Wijayakusuma, 2005). Menurut Usman (2016) biji petai cina memiliki kandungan senyawa fenolik yang berpotensi sebagai antioksidan dan antibakteri. Sehingga akan dilakukan perhitungan kadar fenolik total pada biji petai cina yang berpotensi sebagai antibakteri.

2. METODE PENELITIAN

A. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji petai cina yang diambil dari desa Kalijoyo, Kecamatan

Kajen, Kabupaten Pekalongan. Etanol 96%, FeCl_3 , serbuk magnesium, HCl, kloroform, H_2SO_4 , aquades, pereaksi Dragendroff, pereaksi Mayer, asam galat, reagen Folin-Ciocalteu, Na_2CO_3 10%, Nutrient Agar, Nutrient Broth, BaCl_2 , NaCl 0,9%, alkohol 70%, DMSO (*Dimethylsulfoxide*), kertas cakram, disk antibiotik kloramfenikol, aluminium foil, biakan bakteri *Staphylococcus aureus*.

B. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah botol maserasi, spektrofotometer UV-Vis (SHIMADZU), *rotary evaporator*, neraca analitik (OHAUZ), *oven*, *vortex*, *micropipet*, gelas beker, tip, cawan petri, tabung reaksi, kertas saring, kapas, jarum ose, autoklaf, inkubator, pinset, bunsen, mistar, pipet tetes, pipet volumetrik, erlenmeyer, spatula, corong, labu ukur.

C. Jalannya Penelitian

1. Determinasi Tanaman

Determinasi dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas MIPA Universitas Negeri Semarang. Proses determinasi dilakukan dengan menggunakan bagian tanaman seperti daun, biji, batang, akar dan bunga.

2. Pengambilan dan Pengolahan Sampel

Pengambilan sampel biji petai cina dilakukan di desa Kalijoyo, Kecamatan Kajen, Kabupaten Pekalongan dengan cara mengambil buah yang masih segar dan tua (warna masih tetap hijau) secara manual. Kemudian dikupas untuk memperoleh biji petai cina sebanyak 1000 g, selanjutnya biji disortasi basah untuk dipisahkan dari kotoran-kotoran dan bahan asing, kemudian dicuci dengan air mengalir hingga bersih, ditiriskan dan dikeringkan dengan cara dioven pada suhu 40°C . Setelah kering sampel

diserbukkan menggunakan *blender* dan diayak dengan ayakan mesh 40.

3. Pembuatan Ekstrak dengan Metode Maserasi

Biji petai cina yang telah diayak ditimbang sebanyak 250 g direndam dengan pelarut etanol 96% sebanyak 1,5 liter di dalam botol maserasi yang tertutup rapat dan dibiarkan selama 5 hari pada temperatur kamar, terlindung dari sinar matahari langsung sambil sesekali diaduk. Selanjutnya ekstrak disaring dengan kertas saring, ditampung dalam wadah bersih dan ampas dimaserasi kembali dengan etanol 96% sebanyak 1 liter selama 3 hari. Seluruh filtrat yang diperoleh dari proses maserasi digabung dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C dan dilanjutkan penguapan ekstrak menggunakan *oven* pada suhu 40°C sehingga diperoleh ekstrak kental dengan bobot konstan. Ekstrak yang diperoleh kemudian ditimbang dan dihitung rendemennya terhadap berat sampel awal.

4. Penapisan Fitokimia (Kualitatif)

a. Uji Fenol

Sebanyak 30 mg ekstrak etanol biji petai cina ditambahkan 10 tetes FeCl_3 1%. Ekstrak positif mengandung fenol apabila menghasilkan warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam pekat (Harborne, 1987).

b. Uji Flavonoid

0,5 gram ekstrak etanol biji petai cina ditambahkan dengan 1-2 mL air panas dan sedikit serbuk Mg. Kemudian ditambahkan 4-5 tetes HCl 37 % dan etanol 95% dengan volume yang sama kemudian dikocok. Apabila timbul warna merah, kuning atau jingga, maka ekstrak positif mengandung flavonoid.

c. Uji Saponin

Sebanyak 0,05 g ekstrak etanol biji petai cina dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Tambahkan 10 mL air panas, dinginkan dan kemudian kocok kuat selama 10 detik. Amati perubahan yang terjadi. Apabila terbentuk buih yang mantap selama tidak kurang dari 10 menit, setinggi 1 cm sampai 10 cm dan pada penambahan 1 tetes HCl 2 N, buih tidak hilang maka identifikasi menunjukkan adanya saponin.

d. Uji Terpenoid

Pada sejumlah 0,5 g ekstrak etanol biji petai cina ditambahkan 2 mL kloroform. Sebanyak 3 mL konsentrat H₂SO₄ hati-hati ditambahkan untuk membentuk lapisan. Terbentuknya warna coklat kemerahan pada permukaan menunjukkan adanya terpenoid (Ayoola, *et al.*, 2018).

e. Uji Tanin

Sebanyak 0,5 g ekstrak etanol biji petai cina direbus dalam 10 mL air dalam tabung reaksi dan kemudian disaring. Ditambahkan beberapa tetes FeCl₃ 0,1% dan diamati warna hijau kecoklatan atau biru kehitaman (Ayoola, *et al.*, 2018).

5. Penentuan Kandungan Fenolik Total

a. Pembuatan Kurva Kalibrasi Asam Galat

Sebanyak 50 mg asam galat, ditambahkan 1 mL etanol 96%, kemudian ditambahkan aquades sampai volume akhir 50 mL, sehingga diperoleh konsentrasi 1 mg/mL. Dari larutan induk asam galat konsentrasi 1 mg/mL dipipet sebanyak 0,25 mL; 0,5 mL; 1 mL; 1,5 mL; 2 mL dan 3 mL, lalu diencerkan dengan aquades sampai volume akhir 10 mL sehingga secara berturut-turut dihasilkan konsentrasi 25, 50, 100, 150, 200, 300 µg/mL asam galat. Dari masing-masing konsentrasi larutan asam galat dipipet 0,2 mL lalu ditambah 15,8 mL aquades dan 1 mL Reagen Folin-

Ciocalteu dan dikocok sampai homogen serta didiamkan selama 8 menit. Ditambahkan 3 mL larutan Na₂CO₃ 10% lalu dikocok homogen, dan selanjutnya didiamkan selama 2 jam pada suhu kamar. Ukur serapan pada panjang gelombang serapan maksimum 765 nm, lalu dibuat kurva kalibrasi hubungan antara konsentrasi asam galat (µg/mL) dengan serapan.

b. Penetapan Kandungan Total Fenol

Sebanyak 100 mg ekstrak etanol biji petai cina dilarutkan sampai 10 mL dengan aquades sehingga diperoleh konsentrasi 10 mg/mL. Dari konsentrasi 10 mg/mL dipipet 1 mL dan diencerkan dengan aquades hingga 10 mL dan diperoleh konsentrasi ekstrak 1 mg/mL. Dipipet 0,2 mL ekstrak, ditambahkan 15,8 mL aquades dan 1 mL reagen Folin-Ciocalteu lalu dikocok. Didiamkan selama 8 menit kemudian ditambahkan 3 mL Na₂CO₃ 10% kedalam campuran. Didiamkan larutan selama 2 jam pada suhu kamar. Diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang serapan maksimum 765 nm. Hasil kadar fenol yang diperoleh dinyatakan sebagai mg ekuivalen asam galat (GAE)/g sampel. Perhitungan kadar fenolik total menggunakan rumus :

$$TCP = \frac{C \times V \times Fp}{g}$$

Keterangan :

C = Konsentrasi Fenolik (nilai x)

V = Volume ekstrak (mL)

Fp = Faktor pengenceran

g = Berat sampel yang digunakan (g)

6. Uji Aktivitas Antibakteri

a. Sterilisasi Alat

Alat-alat yang akan digunakan dicuci bersih dan dikeringkan, kemudian dibungkus dengan kertas. Semua alat dan bahan disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah disterilisasi, disimpan dalam

Laminar Air Flow yang sebelumnya sudah disterilisasi dengan lampu UV selama 2 jam dan dibersihkan dengan alkohol 70% (Niswah, 2014).

b. Pembuatan Media

Serbuk Nutrient Agar ditimbang sebanyak 1,2 g dan dicampur dengan 60 mL aquades dalam erlenmeyer kemudian dipanaskan dan diaduk hingga larut. Dengan perlakuan yang sama, 40 mg Nutrient Broth dicampur dengan 5 mL aquades dalam erlenmeyer, kemudian dipanaskan dan diaduk hingga larut. Media disterilisasi dalam autoklaf 121°C selama 15 menit. Setelah disterilisasi, disimpan dalam Laminar Air Flow yang sebelumnya sudah disterilisasi dengan lampu UV selama 2 jam dan dibersihkan dengan alkohol 70% (Niswah, 2014).

c. Pembuatan Media Agar Miring

Media agar miring dibuat dengan media Nutrient Agar sebanyak 11,5 mg/5 mL aquades yang telah selesai dipanaskan, dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditutup menggunakan kapas dan aluminium foil. Disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit kemudian diletakkan dalam posisi miring selama 24 jam pada suhu ruang. (Putri, 2014).

d. Peremajaan Biakan Murni

Biakan murni bakteri diremajakan pada media padat Nutrien Agar miring dengan cara menggoreskan jarum ose yang mengandung bakteri *Staphylococcus aureus* secara aseptis yaitu dengan mendekatkan mulut tabung pada nyala api saat menggoreskan jarum ose. Kemudian tabung reaksi ditutup kembali dengan kapas dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dalam inkubator.

e. Pembuatan Suspensi Bakteri

- i. Komposisi larutan standar 0,5 Mc. Farland I adalah : BaCl_2 1% 0,5 mL

dan H_2SO_4 1% 99,5 mL (Anonim, 2001).

ii. Pembuatan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* :

Satu ose biakan bakteri yang telah diremajakan pada media Nutrient Agar disuspensikan ke dalam tabung berisi 5 mL media Nutrient broth dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C . Suspensi bakteri tersebut diencerkan menggunakan NaCl 0,9% steril sampai kekeruhannya setara dengan larutan standar 0,5 Mc. Farland I (biakan cair yang kekeruhannya setara dengan 0,5 Mc. Farland I mempunyai populasi 1×10^7 CFU/mL - 1×10^8 CFU/mL) (Nuria, 2010).

f. Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Uji

Pada penelitian ini seri konsentrasi ekstrak etanol biji petai cina yang digunakan adalah 200, 100, 50, 25 dan 12,5 mg/mL dengan pelarut dimetilsulfoksida (DMSO). Ekstrak uji 200 mg/mL dibuat dengan cara menimbang 400 mg ekstrak dan dilarutkan dalam 2 mL DMSO. Konsentrasi 100, 50, 25 dan 12,5 mg/mL dibuat dengan melakukan serial pengenceran ekstrak dengan DMSO. Kertas cakram steril dijenuhkan dengan 10 μL larutan ekstrak uji dan dikeringkan dalam cawan petri steril pada suhu ruangan (Niswah, 2014).

g. Kontrol Positif dan Kontrol Negatif

Kontrol positif yang digunakan adalah cakram antibiotik kloramfenikol 30 μg sedangkan kontrol negatif yang digunakan adalah pelarut DMSO (Natheer, *et al.*, 2012).

h. Prosedur Uji Antibakteri

Sebanyak 15 mL Nutrient Agar cair dimasukkan ke dalam cawan petri steril hingga padat, kemudian ditambahkan 1 mL suspensi bakteri secara aseptis, ratakan dengan

menggunakan lidi kapas. Proses ini dilakukan di dekat api bunsen dalam Laminar Air Flow. Setiap cawan petri dibuat diagram 6 bagian. Kertas cakram kontrol positif, kontrol negatif dan cakram yang telah dijenuhkan dengan larutan ekstrak biji petai cina diletakkan pada masing-masing bagian dan kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Uji antibakteri ini dilakukan pengulangan tiga kali. Area jernih (*Clear zone*) disekeliling cakram menunjukkan tidak adanya pertumbuhan

bakteri yang kemudian diukur menggunakan mistar.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. *Penapisan Fitokimia*

Penapisan fitokimia digunakan untuk mendeteksi senyawa tumbuhan berdasarkan golongannya sebagai informasi awal dalam mengetahui golongan senyawa kimia yang mempunyai aktivitas biologi dari suatu tanaman. Hasil penapisan fitokimia pada ekstrak etanol biji petai cina secara kualitatif disajikan pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Penapisan Fitokimia Ekstrak Etanol Biji Petai Cina

No	Uji Tabung	Pereaksi	Hasil	Keterangan
1	Fenol	FeCl ₃ 1%	+	Ungu pekat
2	Flavonoid	Mg dan HCl	-	Jingga
3	Saponin	Air + HCl	-	Tidak terbentuk buih
4	Terpenoid	Klorofom dan H ₂ SO ₄	+	Coklat kemerahan
5	Tanin	FeCl ₃ 0,1%	+	Biru kehitaman

Keterangan : + = Positif; - = negative

Berdasarkan tabel 1 diketahui bahwa hasil uji penapisan fitokimia ekstrak etanol biji petai cina terbukti mengandung senyawa fenol, terpenoid dan tanin.

B. *Penentuan Kadar Fenolik Total*

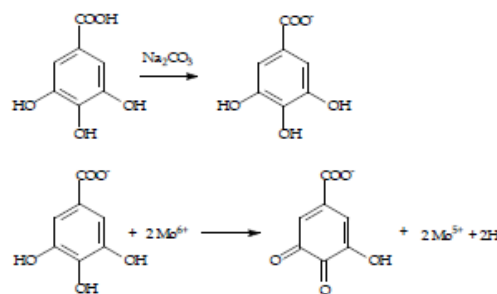
Potensi senyawa fenolik sebagai antibakteri disebabkan oleh keberadaan gugus hidroksil dalam senyawa fenol. Gugus hidroksil berfungsi untuk membentuk ikatan hidrogen dengan protein bakteri yang mengakibatkan struktur protein bakteri menjadi rusak dan enzim menjadi inaktif serta sebagai penyumbang ion H⁺ untuk menyerang gugus polar (gugus fosfat) bakteri sehingga molekul fosfolipid terurai menjadi asam fosfat, gliserol dan asam karboksilat. Kondisi ini menyebabkan membran sel bakteri akan bocor (Volk dan Wheeler, 1993).

Penetapan kadar fenolik total dilakukan dengan menggunakan reagen Folin-Ciocalteu. Reagen Folin-Ciocalteu digunakan karena senyawa fenolik dapat bereaksi dengan folin membentuk larutan berwarna yang dapat diukur absorbansinya (Alfian & Susanti, 2016). Menurut Hacı *et al.*, (2009), prinsip reaksi pada metode Folin Ciocalteu adalah ion fenolat akan mereduksi asam fosfomolibdat-fosfotungstat dalam reagen Folin-Ciocalteu dalam suasana basa selama proses oksidasi fenol menjadi senyawa kompleks *molybdenum-tungsten* berwarna biru yang dapat diukur pada panjang gelombang 765 nm. Senyawa fenolik bereaksi dengan reagen Folin-Ciocalteu hanya dalam suasana basa agar terjadi disosiasi proton pada senyawa fenolik menjadi ion fenolat (Alfian & Susanti, 2016). Untuk membuat kondisi basa digunakan Na₂CO₃ 10%.

Semakin besar konsentrasi senyawa fenolik maka ion fenolat yang terbentuk pun semakin banyak, sehingga semakin banyak ion fenolat yang mereduksi fosfomolibdat dan fosfotungstat menyebabkan warna biru yang terbentuk semakin pekat, hal ini menyebabkan absorbansi yang terukur pun akan semakin besar (Singleton & Rossi, 1985).

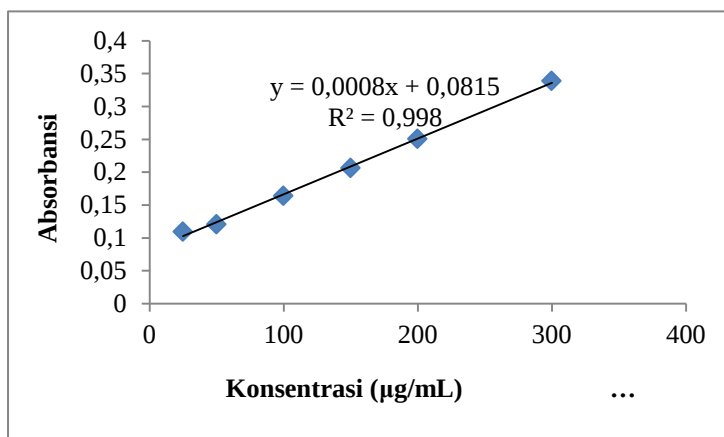
Kandungan fenolik total dalam ekstrak etanol biji petai cina yang diperoleh ditetapkan sebagai massa ekuivalen asam galat. Asam galat digunakan sebagai senyawa pembanding karena asam galat merupakan asam heteropoli yang mempunyai 3 gugus hidroksi fenolat (Wijayanti, 2016). Gugus hidroksi fenolat tersebut yang akan dioksidasi oleh reagen Folin-Ciocalteu dalam suasana basa. Reagen Folin-Ciocalteu akan mengoksidasi asam galat pada gugus hidroksi fenolatnya membentuk kompleks *molybdenum-tungsten* yang memiliki warna biru. Pada saat reaksi berlangsung terjadi

reduksi ion *molybdenum* (Mo^{6+}) menjadi Mo^{5+} yang menyebabkan perubahan warna larutan kuning menjadi biru (Prior, 2005).



Gambar 4. Reaksi asam galat dengan senyawa *molybdenum* dari reagen Folin-Ciocalteu

Pada penentuan kadar fenolik total, larutan standar yang digunakan adalah asam galat dengan variasi konsentrasi 25, 50, 100, 150, 200, 300 $\mu\text{g/mL}$. Gambar 5 menunjukkan grafik kurva baku asam galat dalam penetapan fenolik total.



Gambar 5. Grafik Kurva Baku Asam Galat dalam Penetapan Fenolik Total

Persamaan yang digunakan dalam menentukan kandungan fenolik total adalah $y = 0,0008x + 0,0815$ dengan linieritas sebesar 0,998. Nilai linieritas menunjukkan korelasi antara konsentrasi dan absorbansi yang dihasilkan. Semakin baik nilai linieritas (nilai r sama dengan 1

atau mendekati 1) maka korelasi juga semakin baik.

Tabel 3. Hasil Penentuan Jumlah Fenolik Total Ekstrak Etanol Biji Petai Cina

Replikasi	Abs	Kandungan fenolik total (mg GAE/g)	SD	Rata-rata Kandungan fenolik total (mg GAE/g)
1	0,112	38,125	0,721688	38,54167
2	0,113	39,375		
3	0,112	38,125		

Tabel 3 menunjukkan hasil pengukuran sampel uji untuk penentuan kandungan fenolik total. Hasil perhitungan menunjukkan bahwa ekstrak etanol biji petai cina memiliki nilai kandungan fenolik total rata – rata sebesar $38,54167 \pm 0,721688$ mg ekuivalen asam galat per gram ekstrak etanol biji petai cina.

C. Uji Aktivitas Antibakteri

Uji daya antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode kertas cakram dengan tujuan untuk mengetahui besarnya diameter zona hambat pertumbuhan bakteri. Zona hambat adalah zona bening yang terdapat di sekitar kertas cakram pada media yang sudah diinokulasi *Staphylococcus aureus*, menunjukkan zona yang tidak terdapat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Konsentrasi bakteri *Staphylococcus aureus* yang digunakan pada penelitian ini adalah 10^6 CFU/ml.

Pembuatan larutan stok ekstrak etanol biji petai cina ini dilakukan dengan mengencerkan ekstrak etanol biji petai cina dengan DMSO, agar ekstrak etanol biji petai cina larut secara sempurna. DMSO berfungsi sebagai pelarut yang cepat meresap ke dalam epitel ekstrak tanpa merusak sel-sel tersebut dan sering digunakan dalam bidang kedokteran (Alfath, *et al*, 2017). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol biji petai cina terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

Tabel 4. Ringkasan ANOVA *One way Test* tentang Pengaruh Ekstrak Ekstrak Etanol Biji Petai Cina terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*

SK	db	JK	KT	F hitung	F 5 %
Perlakuan	4	786,0483	196,5121	296,5832	3,48
Galat	10	6,62586			
Total	14	792,6741			

Keterangan : $296,5832 > 3,48 = H_0$ ditolak

Konsentrasi ekstrak yang digunakan pada penelitian ini yaitu 200 mg/mL, 100 mg/mL, 50 mg/mL, 25 mg/mL dan 12,5 mg/mL.

Hasil penelitian yang didapatkan kemudian dilakukan analisis data statistik. Untuk menguji data menggunakan ANOVA *one way test*, maka syaratnya data harus normal yaitu dengan menguji normalitasnya menggunakan *Kolmogorov-Smirnov test*, kemudian dilanjutkan dengan uji homogenitas. Setelah itu dilanjutkan dengan ANOVA *one way test* untuk melihat apakah ada perbedaan yang signifikan dari keseluruhan perlakuan. Bila terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$), maka dilanjutkan UJD/ *Duncan test* untuk melihat perbedaan setiap perlakuan.

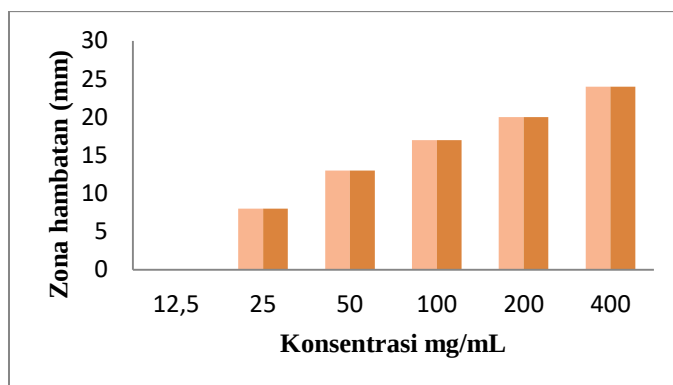
Uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov* menunjukkan nilai signifikansi $0,149 > p$ ($0,05$) yang artinya data berdistribusi normal. Setelah diketahui data normal, maka dilanjutkan uji homogenitas dan diperoleh signifikansi $0,058 > p$ ($0,05$) hal ini menunjukkan bahwa data homogen. Kemudian dilanjutkan dengan ANOVA *one way test*. Berdasarkan analisis statistik dengan ANOVA *one way test* diperoleh nilai signifikansi $0,000 < p$ ($0,01$). Hal ini menunjukkan bahwa, terdapat pengaruh perlakuan konsentrasi ekstrak etanol biji petai cina terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, disajikan pada tabel 4.

Setelah diketahui bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada pertumbuhan bakteri, maka dilanjutkan dengan *UJD/Duncan test* 5 %. Hasil uji menunjukkan bahwa pada perlakuan konsentrasi ekstrak etanol biji petai cina terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* terdapat perbedaan yang signifikan. Kontrol negatif ditunjukkan dengan notasi a, sedangkan pada konsentrasi 12,5 mg/mL juga menunjukkan notasi a, artinya kontrol negatif tidak berbeda nyata dengan konsentrasi 12,5 mg/mL. Sedangkan konsentrasi 25 mg/mL berbeda nyata dengan konsentrasi 50 mg/mL yang ditunjukkan

dengan notasi b dan c. Demikian halnya dengan konsentrasi 100 mg/mL yang berbeda nyata dengan konsentrasi 200 mg/mL yang ditunjukkan dengan notasi d dan e. Sedangkan kontrol positif ditunjukkan dengan notasi f, yang berarti berbeda nyata dengan konsentrasi lainnya. Dengan demikian dapat diketahui bahwa Kadar hambat minimum ekstrak etanol biji petai cina adalah konsentrasi 25 mg/mL karena pada konsentrasi tersebut sudah dapat menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dengan zona hambat sebesar 8,46 mm. Hasil *UJD/Duncan Test* dan kekuatan antibakteri disajikan pada tabel 5 dan gambar 6.

Tabel 5. Ringkasan *UJD/Duncan Test* dan Kekuatan Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Petai Cina Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

Perlakuan (mg/mL)	Rata-rata (mm)	Notasi	Kekuatan Antibakteri
Kontrol (-) (DMSO)	0	a	Sangat Lemah
12,5	0	a	Sangat lemah
25	8,46 ± 0,85	b	Sedang
50	13,5 ± 0,87	c	Kuat
100	17,4 ± 1,03	d	Kuat
200	20,6 ± 0,88	e	Sangat kuat
Kontrol Positif (+) (Kloramfenikol)	24,03 ± 0,08	f	Sangat kuat



Gambar 6. Diagram Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Eetanol Biji Petai Cina

Berdasarkan Tabel 5 zona hambat yang dihasilkan oleh ekstrak etanol biji petai cina lebih kecil dibandingkan dengan antibiotik kloramfenikol. Diameter zona hambat kloramfenikol terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* sangat kuat yaitu sebesar 24,03 mm. Pemilihan

Kloramfenikol sebagai kontrol positif didasari karena bakteri *Staphylococcus aureus* telah banyak mengalami resistensi terhadap beberapa antibiotik, selain itu antibiotik ini bersifat bakteriostatik dengan spektrum luas yang aktif terhadap bakteri gram negatif dan gram positif, mampu

menghambat perlekatan asam amino dari bakteri sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* (Suciari, *et al*, 2017). Kloramfenikol dikatakan resisten apabila diameter hambat pertumbuhan bakteri yang dihasilkan < 20 mm dan sensitif apabila hasil diameter hambat > 21 mm. Mekanisme kerja kloramfenikol sebagai antibakteri yaitu melalui penghambatan terhadap pembentukan ikatan peptida dan biosintesis protein pada siklus pemanjangan rantai asam amino, dengan cara mengikat subunit ribosom 50-S sel mikroba target (Ganiswara, 1995). Kontrol negatif yang digunakan dalam penelitian ini DMSO, hasil uji antibakteri menunjukkan bahwa tidak terdapat zona hambatan.

Davis Stout dalam Ambarwati (2007) mengemukakan bahwa ketentuan kekuatan antibakteri adalah sebagai berikut : daerah hambatan 20 mm atau lebih berarti sangat kuat, daerah hambatan 10-20 mm berarti kuat, 5-10 mm berarti sedang dan daerah hambatan 5 mm atau kurang berarti lemah. Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa, ekstrak etanol biji petai cina pada konsentrasi 12,5 mg/mL tidak menunjukkan adanya diameter zona hambat sehingga termasuk kategori lemah, konsentrasi 25 mg/mL menunjukkan diameter zona hambat sebesar 7,58 mm kategori sedang, konsentrasi 50 mg/mL menunjukkan diameter zona hambat sebesar 13,5 mm kategori kuat, konsentrasi 100 mg/mL menunjukkan diameter zona hambat sebesar 17,4 mm kategori kuat, dan konsentrasi 200 mg/ml diameter zona hambat juga terus mengalami kenaikan yaitu sebesar 20,6 mm kategori kuat.

. Berdasarkan Tabel 6 dan Gambar 6 terlihat bahwa dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak yang berarti semakin besar kadar bahan aktif yang berfungsi sebagai antibakteri, sehingga kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* juga semakin besar. Menurut Pelczar dan Chan (1988), semakin tinggi konsentrasi antibakteri yang digunakan

maka akan semakin cepat bakteri yang terbunuh.

Biji petai cina mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* karena mempunyai daya antibakteri. Daya antibakteri ekstrak etanol biji petai cina dikarenakan adanya senyawa aktif yaitu fenol, terpenoid dan tanin. Hal ini sesuai dengan penelitian Rachmatiah, dkk (2015), bahwa ekstrak etanol biji petai cina mengandung senyawa fenol, terpenoid dan tanin.

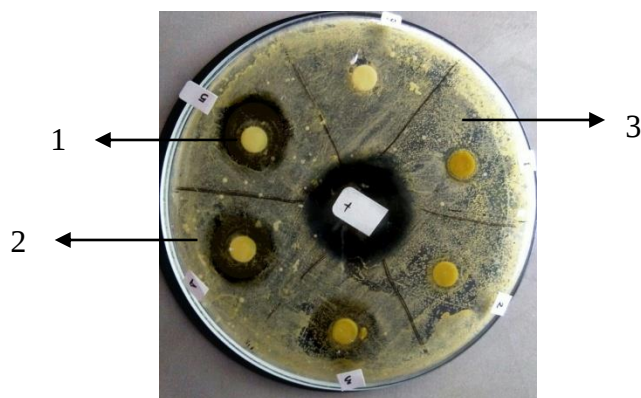
Mekanisme kerja senyawa fenol dalam membunuh sel bakteri ada 3 cara, yaitu mendenaturasi protein sel bakteri, menghambat sintesis dinding sel dan merusak membran sel bakteri. Senyawa fenol mendenaturasi protein sel bakteri dengan cara membentuk ikatan hidrogen dengan protein bakteri. Hal ini mengakibatkan struktur protein bakteri menjadi rusak dan enzim menjadi inaktif. Akibat terdenaturasinya protein sel bakteri, maka semua aktivitas metabolisme sel bakteri terhenti, karena semua aktivitas metabolisme sel bakteri dikatalisis oleh enzim yang merupakan protein (Lawrence dan Block, 1968). Mekanisme fenol dalam menghambat sintesis dinding sel bakteri dengan cara meracuni protoplasma dan memutuskan ikatan peptidoglikan (Naidu, 2003). Mekanisme fenol dalam merusak membran sel bakteri, dengan cara ion H⁺ dari senyawa fenol akan menyerang gugus polar (gugus fosfat) bakteri sehingga molekul fosfolipid terurai menjadi asam fosfat, gliserol dan asam karboksilat. Kondisi ini menyebabkan membran sel bakteri akan bocor (Volk dan Wheeler, 1993).

Tanin dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan 4 cara yaitu menghambat sintesis asam nukleat, menginaktivkan adhesin dan enzim sel mikroba, mengganggu transport protein serta merusak dinding sel bakteri. Penghambatan sintesis asam nukleat dengan cara menghambat enzim reverse transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk (Nuria, *et al.*, 2009). Selain itu, tanin memiliki kemampuan untuk

menginaktifkan adhesin dan enzim sel mikroba, serta mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel. Menurut Sari (2011), tanin juga merusak dinding sel bakteri dengan cara meracuni polipeptida dinding sel, hal ini menyebabkan terjadinya tekanan osmotik maupun fisik sel bakteri sehingga sel bakteri akan mati. Tanin dalam konsentrasi rendah mampu menghambat pertumbuhan bakteri, sedangkan pada konsentrasi tinggi tanin bekerja dengan membentuk ikatan yang stabil dengan protein bakteri sehingga protoplasma bakteri terkoagulasi.

Mekanisme terpenoid sebagai antibakteri adalah bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar

dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri yang akan mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati. Senyawa terpenoid mudah larut dalam lipid, sifat inilah yang mengakibatkan senyawa ini lebih mudah menembus dinding sel bakteri Gram positif dan sel bakteri Gram negatif (Rosyidah, *et al*, 2010). Zona hambat ekstrak etanol biji petai cina disajikan pada gambar 7.



Keterangan : 1= kertas cakram, 2= zona bening, 3= koloni bakteri *Staphylococcus aureus*
Gambar 7. Hasil uji antibakteri ekstrak etanol biji petai cina terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Gambar 7 menunjukkan diameter zona hambat ekstrak etanol biji petai cina lebih kecil dibandingkan dengan zona hambat kontrol positif (kloramfenikol) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Hal ini menunjukkan bahwa kekuatan antibakteri pada ekstrak etanol biji petai cina lebih lemah dibandingkan dengan kloramfenikol. Konsentrasi 25 mg/mL pada ekstrak etanol biji petai cina sudah mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar 8,46 mm. Pelczar dan Chan (1988) juga menjelaskan bahwa antimikroba yang baik adalah dalam keadaan konsentrasi yang rendah sudah mampu menghambat mikroorganisme. Menurut Lay (1992), bahan antimikroba bersifat menghambat bila

digunakan dalam konsentrasi kecil, namun bila digunakan dalam konsentrasi tinggi dapat mematikan mikroorganisme. Dengan demikian, ekstrak etanol biji petai cina memiliki potensi untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Hal ini ditunjukkan oleh masih adanya zona bening disekitar cakram yang berisi ekstrak dalam jangka waktu penyimpanan selama 3 hari. Sehingga untuk dapat diaplikasikan, perlu meningkatkan konsentrasi ekstrak etanol biji petai cina agar dapat menyamai kemampuan antibiotik kloramfenikol dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

4. SIMPULAN

1. Ekstrak etanol biji petai cina (*Leucaena leucocephala* (Lamk) de Wit) memiliki kandungan senyawa fenolik total sebesar $0,2794 \pm 0,0048$ mg ekivalen asam galat per gram ekstrak etanol biji petai cina.
2. Ekstrak etanol biji petai cina (*Leucaena leucocephala* (Lamk) de Wit) memiliki potensi sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Kadar hambat minimum yang dihasilkan oleh ekstrak etanol biji petai cina yaitu pada konsentrasi 25 mg/mL sebesar 8,46 mm.

5. REFERENSI

- Alfath, C., R., Yuliana V. & Sunnati, 2013. Antibacterial effect of Granati fructus extract on *Streptococcus mutans* in vitro. *Journal of Dentistry Indonesia*. **XX(1)**, p. 5-8.
- Alfian, R. & Susanti H., 2012 Penetapan kadar fenolik total ekstrak metanol bunga rosella merah (*Hibiscus sabdariffa* Linn) dengan variasi tempat tumbuh secara spektrofotometri. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*. **II(1)**, p. 73-80.
- Ambarwati. 2007. Efektivitas Zat Antibakteri Biji Mimba (*Azadirachta indica*) untuk Menghambat Pertumbuhan *Salmonella typhosa* dan *Staphylococcus aureus*. *Journal of Biodiversitas*. **Volume 8, No. 3**.
- Anonim, 2001. McFarlands standar. *PML Microbiologicals Inc., Wilsonville*, p. 1-2.
- Ayoola, G. A., Coker, H. A. B., Adesegun, S. A., Bello A. A., Obaweya, K., Ezzenia E. C., Atangbayila, T. O., 2018. Phytochemical screening and antioxidant activities of some selected medicinal plants used for malaria therapy in Southwestern Nigeria. *Tropical Journal of Pharmaceutival Research*, **VII(3)**, p. 1019-1024.
- Ganiswarna, V.H.S. 1995. *Farmakologi dan Terapi*, Edisi ke-4, Jakarta: Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Haci, I.A.E., Didi, A., Bekkara, F.A., Gherib, M., 2009, In Vitro Antioxidant Activity and Total Phenolic Contents in Methanol Crude Extracts From The Algerian Medicinal Plant *Limoniastrum feei*, *Scientific Study and Research*, **X(4)**, 329-336.
- Harborne, J. B., 1987. *Metode fitokimia penuntun cara modern menganalisis tumbuhan*. Bandung: Penerbit ITB.
- Lawrence, C. A. and S. S. Block. 1968. *Disinfection, Sterilization and Preservation*. Philadelphia: Lea and Febiger.
- Lay, B.W. dan Huston. 1992. *Mikrobiologi*. Jakarta: Rajawali Pers.
- Naidu, K.A. 2003. Vitamin C in Human Health and Disease is Still A Mystery, An Overview. *Noutrition J*. **2** : 7.
- Natheer, S. E., Sekar, C., Amutharaj, P., Rahman, M. S. A., Khan, K. F., 2012. Evaluation of antibacterial activity of *Morinda citrifolia*, *Vitex trifolia*, and *Chromolaena odorata*. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, **VI(11)**, p. 783-788.
- Niswah, L., 2014. Uji aktivitas antibakteri dari ekstrak buah parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) menggunakan metode difusi cakram. *Skripsi*, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Nuria, M.C., A. Faizatun., dan Sumantri. 2009. Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, dan *Salmonella typhi* ATCC 1408. *Jurnal Ilmu –ilmu Pertanian*. **5**: 26 –37.
- Pelczar, M. & Chan, E., 1988. *Dasar-dasar mikrobiologi I*. Penerjemah Ratna Siri Hadioetomo dkk. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Prior, R.L., Wu, X., Schaich, K., 2005, Standardized Methods for the

- Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements, *J. Agric. Food Chem.*, **53**, 4290-4302.
- Putri, N. D., 2014. Uji aktivitas antibakteri ekstrak metanol daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) terhadap bakteri *Salmonella typhi*. *Skripsi. UIN Malik Ibrahim : Malang*.
- Rachmatiah, T., Nurvita, H. & Triana, D., R., 2015. Potensi antidiabetes pada tumbuhan petai cina (*Leucaena leucocephala* (Lam) de wit). *Sainstech*. **25(1)**, p. 115-118.
- Refdanita, R, Maksum. A, Nurgani. & P, Endang., 2004. Pola kepekaan kuman terhadap antibiotik diruang intensif rumah sakit fatmawati tahun 2001-2002. *Makara Kesehatan*, **VIII(2)**, p. 41-48.
- Rosyidah, K. Nurmuhaimina, Komari, M.D., Astuti. 2010. Aktivitas antibakteri fraksi saponin dari kulit batang tumbuhan kasturi (*Mangifera casturi*). *Jurnal Bioscientiae*, **VII(2)**, p. 25-31.
- Sari, D.K., Wardhani, D.H., Prasetyaningrum, A., 2013, Kajian Isolasi Senyawa Fenolik Rumput Laut (*Euceuma Cottonii*) Berbantu Gelombang Micro Dengan Variasi Suhu dan Waktu, *Jurnal Teknik Kimia*, **3 (19)**, 38-43.
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A., 1965. Colorimetry of total phenolic with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagent. *Am. J. Enol. Vitic*, **16**, p. 144-58.
- Suciari, L., K., Mastra N., Widhya, C., D., 2017. Perbedaan zona hambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* pada berbagai konsentrasi rebusan daun salam (*Syzygium polyanthum*) secara in vitro. *Ejournal Poltekes Denpasar*, **V(2)**, p. 92-200.
- Usman, S. K., 2016. Aktivitas antioksidan dan antibakteri ekstrak biji lamtoro (*Leucaena leucocephala*). *Skripsi. Jember : Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Jember*.
- Wijayakusuma, H., 2004. *Bebas diabetes millitus ala Hembing*. Jakarta: Puspa Swara.
- Wijayanti, M. N., 2016. Uji aktivitas antioksidan dan penetapan kadar fenolik total ekstrak etanol buah buni (*Antidesma bunius* (L.) Spreng) dengan metode 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) dan metode Folin-Ciocalteu. *Skripsi. Fakultas Farmasi. Universitas Sanata Dharma*.