

Antibacterial Activity Test of Ceremai Leaf Ethanol Extract (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) Against Bacteria Causing Skin Infections by TLC-Bioautography and Agar Diffusion

Tadjuddin Naid¹, Herwin¹, Nurul Insani Muldin²

¹Department of Microbiology, Faculty of Pharmacy, Universitas Muslim Indonesia, Makassar, South Sulawesi, 90231, Indonesia

²Faculty of Pharmacy, Universitas Muslim Indonesia, Makassar, South Sulawesi, 90231, Indonesia

Article info
Received: 16/07/2024

Available online: 21/05/2025

Corresponding Author:
Tadjuddin Naid
Department of Microbiology
Faculty of Pharmacy, Universitas
Muslim Indonesia, Makassar,
South Sulawesi, Indonesia
email: tadju1946@gmail.com

ABSTRACT

Ceremai leaves (Phyllanthus acidus) are known for their medicinal properties, including the treatment of infectious diseases. This study aims to evaluate the antibacterial activity of ethanol extract from Ceremai leaves against skin infection-causing bacteria using Thin Layer Chromatography-Bioautography (TLC-Bioautography) and agar diffusion methods. The study began with an antibacterial screening test, followed by TLC-Bioautography, and then determination of the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) at various concentrations (0.125% to 16%). The agar diffusion method was used to further assess antibacterial activity. Screening results showed antibacterial activity at a concentration of 1%. TLC-Bioautography with a chloroform: methanol: water (20:2:0.5) eluent revealed active spots with Rf values of 0.8, 0.54, 0.36, and 0.29. The MIC values were 0.25% for P. acnes and S. aureus, and 0.5% for P. aeruginosa and S. epidermidis. The MBC values were 0.5% for P. acnes and S. aureus, and 1% for P. aeruginosa and S. epidermidis. The largest inhibition zone in the agar diffusion test was observed at a 32% concentration against S. aureus, measuring 20.11 mm. These findings suggest that Ceremai leaf extract has significant antibacterial potential and could be considered for developing alternative treatments for skin infections.

Keyword: Agar Diffusion, Antibacterial, Ceremai Leaf, *Phyllanthus acidus*, dan TLC-Bioautography

Copyright ©2025 by Author
Journal Microbiology Science by Faculty of Pharmacy Universitas Muslim Indonesia is licensed under a
[Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/).



PENDAHULUAN

Antibakteri merupakan suatu senyawa yang dapat mengendalikan pertumbuhan atau bahkan membunuh bakteri¹. Pengendalian pertumbuhan bakteri bertujuan untuk mencegah penyebaran penyakit dan infeksi, membasmi mikroorganisme pada inang yang terinfeksi, dan mencegah pembusukan². Akhir-akhir ini banyak ditemukan berbagai macam

antibakteri dari bahan alam seperti pada tanaman, rempah-rempah, atau mikroorganisme. Tanaman dapat menghasilkan senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, steroid dan triterpenoid. Senyawa metabolit sekunder yang ditemukan di dalam tanaman sebagian besar bertanggung jawab atas aktivitas antibakteri, baik pada bagian daun,

biji, akar, buah, batang, maupun bagian lainnya³.

Salah satu dari sekian banyak tanaman obat yang ada di negara kita yang digunakan sebagai antibakteri adalah tanaman Ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels). Secara empiris, daun dari tanaman ini dimanfaatkan sebagai obat batuk berdahak, menguruskan badan, mual, kanker, sariawan, asma, gatal-gatal, sembelit, dan mual akibat perut kotor⁴. Menurut penelitian yang telah dilakukan Nafis, Septiani, dan Malau (2023) melaporkan bahwa daun Ceremai dimanfaatkan dalam pengobatan penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri patogen. Daun Ceremai mengandung metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antibakteri. Senyawa aktif yang terkandung dalam daun Ceremai yang bersifat sebagai antibakteri adalah tanin. Selain tanin, ekstrak daun Ceremai juga mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, fenol, dan saponin yang digunakan di dalam dunia pengobatan sebagai antibakteri^{5,6}.

Infeksi adalah suatu keadaan masuknya mikroorganisme ke dalam tubuh, berkembang biak dan menimbulkan penyakit⁷. Setiap tahun, penyakit infeksi menewaskan 3,5 juta orang yang tinggal di negara-negara berpenghasilan rendah dan menengah⁸. Salah satu infeksi yang sering terjadi pada manusia yaitu infeksi kulit. Penyakit infeksi kulit merupakan salah satu penyakit yang masih menjadi masalah

kesehatan yang banyak ditemukan di negara beriklim tropis seperti Indonesia karena keadaan suhu dan kelembapan udara yang tidak menentu, sehingga mempermudah berkembangnya penyakit infeksi kulit yang disebabkan oleh bakteri, jamur, dan parasit⁹. Angka kesakitan penyakit infeksi kulit masih cukup tinggi jumlahnya. Menurut *World Health Organization* (WHO) tahun 2013 prevalensi penyakit infeksi kulit di negara berkembang yaitu sekitar 6.569 kasus (89,75 %). Sedangkan angka kejadian penyakit infeksi kulit di Indonesia pada tahun 2014 sebanyak 4.362 kasus (68,43 %) ¹⁰. Jenis bakteri yang sering menyebabkan infeksi kulit diantaranya *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Propionibacterium acnes*, dan *Pseudomonas aeruginosa*⁹. Penyakit infeksi yang sering terjadi pada kulit terdiri atas jerawat, bisul, impetigo, infeksi luka, ektima, erisipelas, selulitis, dan lain-lain^{11,12}.

Sejauh ini penelitian tentang pengujian aktivitas antibakteri daun Ceremai telah banyak diteliti. Pada penelitian yang dilakukan oleh Nafis, Septiani, dan Malau (2023), daun Ceremai memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* 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%¹³.

Berdasarkan uraian di atas, daun Ceremai mengandung metabolit sekunder yang memiliki potensi sebagai aktivitas antibakteri, maka dilakukan penelitian tentang aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun Ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) terhadap bakteri penyebab infeksi kulit yaitu *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Propionibacterium acnes*, dan *Pseudomonas aeruginosa* dengan metode KLT-Bioautografi dan difusi agar.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah mikropipet (Eppendorf), *microplate* 96 well (Iwaki), *rotary vacuum evaporator* (IKA RV 10), lempeng Kromatografi Lapis Tipis (KLT) G60 F254, spektrofotometer UV-Vis (PD-303S), timbangan analitik (Merk Kern-Jerman, ADB 200-4), Dimetil Sulfoksida (DMSO) (Merck KGaA, 317275), *disc blank* (MN 827 ATD), *disc antibiotic* (RG24 8PW, CT0018B), reagen TTC (2,3,5-trifeniltetrazolium klorida), etanol 96% (Merck, 1.59010.2500), NaCl fisiologis 0,9% (Merk Sodium Chloride 0,9% Infus, No. Reg : GKL1641700549A1), Nutrient Agar (Merck, 1.05450.0500), *Mueller Hinton Broth* (MHB) (Merck, 1.10293.0500), kloroform (Merk Chloroform ACS, 6631-03), metanol (Merck, 1.06009.2500), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Propionibacterium acnes*

(ATCC 6919), dan *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 14990).

Penyiapan sampel

Sampel yang digunakan adalah daun ceremai diambil langsung dari pohonnya kemudian disortasi basah, dan dicuci bersih menggunakan air mengalir. Setelah itu, dilakukan perajangan agar daunnya cepat kering. Proses pengeringan dilakukan dengan cara diangin-anginkan pada suhu 27°C yang tidak terpapar sinar matahari secara langsung selama ± 14 hari. Daun Ceremai yang telah dikeringkan kemudian diserbukkan sehingga diperoleh serbuk simplisia¹⁴.

Pembuatan ekstrak

Serbuk simplisia daun Ceremai diekstraksi secara maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Serbuk simplisia ditimbang lalu dimasukkan ke dalam bejana maserasi dan direndam menggunakan pelarut etanol 96% sampai serbuk terendam seluruhnya lalu ditutup rapat, kemudian dibiarkan selama 3x24 jam pada suhu kamar dan terlindung dari cahaya sambil sesekali diaduk. Hasil ekstraksi disaring menggunakan kertas saring lalu diperoleh filtrat. Ekstrak diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C dan dilanjutkan dengan pengentalan yang dilakukan menggunakan *waterbath* dengan suhu 60°C hingga diperoleh ekstrak kental¹⁵.

Peremajaan dan pembuatan bakteri uji

Bakteri uji diambil dari biakan masing-masing satu ose kemudian diinokulasi pada

medium NA miring. Masing-masing bakteri diinkubasi selama 1 x 24 jam pada suhu 37°C. Setelah itu dapat digunakan sebagai bakteri uji¹⁶. Bakteri uji hasil peremajaan, masing-masing disuspensikan dengan larutan NaCl fisiologis 0,9% dan dimasukkan ke dalam kuvet. Kemudian diukur transmitannya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 580 nm pada 25%. Sebagai blanko digunakan NaCl fisiologis 0,9% steril¹⁶.

Uji skrining antibakteri

Ekstrak etanol daun Ceremai ditimbang sebanyak 10 mg dan dimasukkan ke dalam vial steril, kemudian dilarutkan dengan DMSO sebanyak 0,2 mL. Setelah larut ditambahkan medium NA 9,8 mL sehingga diperoleh konsentrasi 1 mg/mL. Campuran tersebut dituang ke dalam cawan petri lalu dihomogenkan dan dibiarkan memadat. Bakteri yang telah disuspensikan, masing-masing diambil satu ose dan digoreskan di atas medium yang telah memadat menggunakan ose bulat, kemudian dilakukan hal yang sama untuk bakteri uji yang lainnya. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam. Hasil inkubasi diamati aktivitas antibakterinya yang ditandai dengan tidak adanya pertumbuhan bakteri di sekitar area goresan pada medium¹⁷.

Identifikasi secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Ekstrak kental daun Ceremai selanjutnya diidentifikasi secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan menggunakan perbandingan eluen kloroform : metanol : air (20:2:0,5). Ekstrak etanol daun Ceremai ditimbang sebanyak 1 gram lalu dilarutkan dengan kloroform methanol (1:1). Kemudian ekstrak ditotolkan menggunakan pipa kapiler pada lempeng KLT ukuran 7x1 cm yang sebelumnya telah diaktifkan dengan pemanasan dalam oven pada suhu 105°C selama 30 menit. Kemudian dilusi menggunakan eluen yang sesuai dan dimasukkan ke dalam chamber. Lempeng kemudian dikeluarkan dari chamber dan diangin-anginkan sehingga cairan pengelusnya menguap. Kromatogram yang dihasilkan diamati bercaknya di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm, kemudian diberi tanda dan dihitung nilai Rf-nya¹⁸.

Uji aktivitas antibakteri secara KLT-Bioautografi

Hasil identifikasi KLT dilanjutkan dengan uji KLT-Bioautografi dengan cara cawan petri dituang medium Nutrient Agar sebanyak 10 mL yang telah diinokulasikan dengan suspensi bakteri sebanyak 1 ose lalu dihomogenkan. Lempeng KLT yang telah dilusi diletakkan diatas permukaan medium yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji kemudian dibiarkan selama 60 menit. Dilakukan hal yang sama untuk bakteri uji lainnya. Setelah itu, lempeng

diangkat dan dikeluarkan, selanjutnya diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37°C. Kemudian diamati zona hambat yang terbentuk terhadap pertumbuhan bakteri uji¹⁸.

Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Uji KHM menggunakan *microplate* dengan 96 sumuran. Metode ini merujuk pada penelitian yang dilakukan oleh Banoeari & Juwitaningsih (2023) dengan dilakukan sedikit modifikasi. Ekstrak etanol daun Ceremai dibuat dalam seri konsentrasi yaitu 0,125%; 0,25%; 0,5%; 1%, 2%, 4%, 8%, dan 16%, masing-masing konsentrasi diencerkan dengan medium *Mueller Hinton Broth* (MHB), kemudian dimasukkan sebanyak 100 µL ke dalam *microplate*. Selanjutnya, dimasukkan 100 µL masing-masing suspensi bakteri uji ke dalam vial steril yang berisi 10 mL medium MHB, kemudian dimasukkan 20 µL bakteri uji ke dalam *microplate*. Selain itu, dimasukkan juga 100 µL medium MHB sebagai kontrol negatif, sedangkan medium MHB dan bakteri uji sebagai kontrol positif. Kemudian ditutup *microplate* dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam. Setelah diinkubasi, ditambahkan 5 µL dari 5 mg/mL reagen trifetil tetrazolium klorida ke setiap sumur *microplate* lalu diinkubasi selama 3 jam pada suhu 37°C. Konsentrasi terendah yang memberikan penampakan jernih maka dinyatakan sebagai nilai KHM^{19,20}.

Uji Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)

Medium NA yang telah dibuat dan disterilkan dimasukkan ke dalam cawan petri sebanyak 10 mL secara aseptis kemudian ditunggu hingga memadat. Hasil inkubasi pada pengujian KHM digoreskan di atas medium NA yang telah memadat, selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam. Konsentrasi terendah yang tidak menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri dinyatakan sebagai nilai KBM¹⁹.

Uji aktivitas antibakteri secara difusi agar

Ekstrak etanol daun Ceremai dibuat dalam seri konsentrasi yaitu 1%, 2%, 4%, 8%, 16%, dan 32%. Diambil medium NA sebanyak 9,8 ml dan ditambahkan suspensi bakteri sebanyak 20 µL kemudian masukkan ke dalam cawan petri lalu homogenkan dan biarkan hingga memadat. Diletakkan *disk blank* diatas medium yang telah ditetesi dengan ekstrak daun Ceremai dengan seri konsentrasi tersebut sebanyak 20 µL. Selanjutnya diinkubasi selama 1 x 24 jam pada suhu 37°C dan lakukan pengamatan lalu ukur diameter zona hambat yang terbentuk di sekitar *disk blank* dengan menggunakan jangka sorong⁹.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini digunakan ekstrak etanol daun Ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) yang bertujuan untuk menentukan aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun Ceremai terhadap bakteri penyebab infeksi kulit yaitu *Propionibacterium acnes*, *Pseudomonas*

aeruginosa, *Staphylococcus aureus*, dan *Staphylococcus epidermidis*. Penelitian ini diawali dengan pengambilan sampel daun

Ceremai kemudian dilanjutkan dengan proses ekstraksi. Hasil ekstraksi dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil Ekstraksi Daun Ceremai

Sampel	Berat simplisia (g)	Berat ekstrak (g)	Persen rendemen (%)
Daun Ceremai	400	52,41	13,10

Berdasarkan data pada tabel 1, berat ekstrak yang diperoleh yaitu 52,41 gram ekstrak kental dengan persen rendemen 13,10%. Persen rendemen bertujuan untuk menentukan perbandingan jumlah ekstrak yang diperoleh dari suatu sampel terhadap awal berat simplisia serta untuk mengetahui banyaknya senyawa bioaktif yang terkandung dalam sampel yang diekstraksi. Semakin besar nilai rendemen menunjukkan nilai ekstrak kental yang dihasilkan semakin banyak²¹. Hasil rendemen dapat dijadikan acuan untuk mengetahui jumlah simplisia yang

dibutuhkan untuk pembuatan sejumlah tertentu ekstrak kental²².

Setelah diperoleh ekstrak kental, kemudian dilanjutkan dengan uji skrining antibakteri terhadap bakteri penyebab infeksi kulit yaitu *Propionibacterium acnes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, dan *Staphylococcus epidermidis*. Tujuan dilakukannya uji skrining antibakteri yaitu untuk mengetahui ada atau tidaknya pengaruh ekstrak dalam menghambat atau membunuh pertumbuhan bakteri uji²³. Hasil uji skrining antibakteri ekstrak etanol daun Ceremai dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil pengujian skrining aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun Ceremai

No	Bakteri uji	Konsentrasi
		1%
1.	<i>Propionibacterium acnes</i>	+
2.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+
3.	<i>Staphylococcus aureus</i>	+
4.	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	+

Keterangan: + : tidak terdapat pertumbuhan bakteri

Berdasarkan pada tabel 2 diperoleh hasil pengujian skrining antibakteri menunjukkan bakteri *Propionibacterium acnes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, dan

Staphylococcus epidermidis dapat membunuh bakteri uji pada konsentrasi 1% ditandai dengan tidak adanya pertumbuhan bakteri sepanjang goresan pada medium. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol

daun Ceremai memberikan aktivitas antibakteri terhadap bakteri uji, sehingga dapat dilakukan penelitian lebih lanjut terkait aktivitas antibakterinya.

Setelah diperoleh hasil uji skrining, selanjutnya melakukan pemisahan

senyawa secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Hasil pemisahan senyawa secara KLT kemudian dilanjutkan pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun Ceremai secara KLT-Bioautografi. Hasil dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun Ceremai secara KLT-Bioautografi

Bakteri uji	Bercak	Nilai Rf	Warna pada	
			UV 254 nm	UV 366 nm
<i>P. acnes</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. aureus</i> , <i>S. epidermidis</i>	4	0,80	Hijau	Ungu
		0,54		
		0,36		
		0,29		

Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antibakteri daun Ceremai terdapat 4 bercak aktif dengan nilai Rf 0,8; 0,54; 0,36; dan 0,29 yang menghambat bakteri *Propionibacterium acnes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, dan *Staphylococcus epidermidis*. Ekstrak etanol daun Ceremai mengandung senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, tanin, dan saponin yang memiliki potensi sebagai antibakteri terhadap bakteri uji yang ditandai dengan terbentuknya zona bening pada permukaan medium tempat berdifusi bercak dari kromatogram. Terbentuknya zona bening dikarenakan ekstrak daun Ceremai memiliki komponen kimia aktif yang menyebabkan

penghambatan terhadap bakteri uji. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa daun Ceremai mengandung komponen kimia seperti flavonoid yang memiliki aktivitas antibakteri²⁴.

Selanjutnya ekstrak etanol daun Ceremai dilanjutkan ke uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi agar. Sebelum itu, dilakukan uji Konsentrasi Hambat Minuman (KHM) dengan metode dilusi cair menggunakan *microplate* 96 well. Uji KHM bertujuan untuk mengetahui nilai konsentrasi minimum ekstrak etanol daun Ceremai yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji. Hasil pengujian KHM dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil pengujian Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak etanol daun Ceremai

Bakteri uji	Hasil uji Konsentrasi Hambat Minimum							
	16%	8%	4%	2%	1%	0,5%	0,25%	0,125%
<i>P. acnes</i> , <i>S. aureus</i>	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>P. aeruginosa</i> , <i>S. epidermidis</i>	+	+	+	+	+	+	-	-

Keterangan: (+) Menghambat pertumbuhan bakteri; (-) Tidak menghambat pertumbuhan bakteri

Berdasarkan data pada tabel di atas, diperoleh nilai KHM ekstrak etanol daun Ceremai yang berbeda pada setiap bakteri uji. Nilai KHM pada bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus aureus* terdapat pada konsentrasi 0,25%. Sedangkan nilai KHM pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus epidermidis* terdapat pada konsentrasi 0,5%. Perbedaan nilai KHM diduga karena setiap bakteri uji mempunyai kerentanan yang berbeda-beda terhadap suatu senyawa antibakteri²⁵. Hasil pengujian KHM menunjukkan bahwa bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus epidermidis* merupakan bakteri yang paling rentan terhadap ekstrak etanol daun Ceremai. **Semakin rendah nilai KHM, maka semakin efektif ekstrak**

tersebut, sehingga membutuhkan konsentrasi yang lebih kecil untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Nilai KHM yang sangat rendah diinginkan agar dosis yang diberikan kepada pasien bisa lebih kecil. Dari hasil pengujian KHM, ekstrak etanol daun Ceremai memiliki potensi sebagai antibakteri sehingga dapat dijadikan referensi untuk pengobatan infeksi kulit²⁶.

Dari hasil uji KHM, kemudian dilanjutkan dengan pengujian Konsentrasi Hambat Minimum (KBM) dengan metode dilusi padat. Tujuan pengujian KBM adalah untuk menentukan nilai konsentrasi minimum dari suatu sampel dalam membunuh bakteri uji. Hasil pengujian KBM dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil pengujian Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ekstrak etanol daun Ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels)

Bakteri uji	Hasil uji Konsentrasi Bunuh Minimum							
	16%	8%	4%	2%	1%	0,5%	0,25%	0,125%
<i>P. acnes, S. aureus</i>	+	+	+	+	+	+	-	-
<i>P. aeruginosa, S. epidermidis</i>	+	+	+	+	+	-	-	-

Keterangan: (+) Menghambat pertumbuhan bakteri; (-) Tidak menghambat pertumbuhan bakteri

Berdasarkan tabel di atas, nilai KBM ekstrak etanol daun Ceremai yang berbeda pada setiap bakteri uji. Nilai KBM pada bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus aureus* terdapat pada konsentrasi 0,5%. Sedangkan nilai KBM pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus epidermidis* terdapat pada

konsentrasi 1%. Perbedaan nilai KBM dikarenakan perbedaan tingkat sensitifitas dari masing-masing bakteri disebabkan oleh perbedaan pada struktur dinding sel antara bakteri Gram negatif dan bakteri Gram positif²⁷. **Semakin rendah nilai KBM, maka semakin efektif ekstrak tersebut, sehingga** membutuhkan konsentrasi yang

lebih kecil untuk membunuh bakteri. Nilai KBM yang sangat rendah diinginkan agar dosis yang diberikan kepada pasien bisa lebih kecil. Penentuan KBM penting dalam ekstrak tanaman obat karena ini menunjukkan konsentrasi antibiotik terendah yang masih mampu menghambat pertumbuhan organisme tertentu²⁸.

Pengujian selanjutnya dilakukan uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun

Ceremai secara difusi agar menggunakan 6 seri konsentrasi diantaranya 1%, 2%, 4%, 8%, 16%, dan 32%. Tujuan dilakukan pengujian aktivitas antibakteri secara difusi agar yaitu untuk melihat seberapa besar zona hambat yang terbentuk dari sampel terhadap bakteri uji. Hasil pengujian aktivitas antibakteri secara difusi agar dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun Ceremai secara difusi agar

Bakteri uji	Diameter Zona Hambat (mm)						K+	K-
	32%	16%	8%	4%	2%	1%		
<i>P. acnes</i>	19,27	16,73	12,25	9,90	8,58	8,28	32,89	0
<i>P. aeruginosa</i>	17,06	13,04	11,84	11,15	10,76	9,69	33,10	0
<i>S. aureus</i>	20,11	14,85	12,94	10,73	9,18	8,47	37,17	0
<i>S. epidermidis</i>	19,31	16,00	12,93	11,50	8,23	7,63	30,48	0

Keterangan: (K+) Kontrol positif (Doksisiklin); (K-) Kontrol negatif (Aquadest)

Hasil pengukuran diameter zona hambat dapat diinterpretasikan ke dalam kategori daya hambat zat antibakteri. Bila zona hambat kurang dari 5 mm (<5 mm) termasuk kategori lemah, 5-10 mm termasuk kategori sedang, 10-20 mm termasuk kategori kuat, dan lebih dari 20 mm (>20 mm) termasuk kategori sangat kuat²⁹.

Berdasarkan tabel 7 hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun Ceremai dengan metode difusi agar diperoleh rata-rata diameter zona hambat terbesar yaitu pada konsentrasi 32% terhadap bakteri *P. acnes* sebesar 19,27

mm (kuat), *P. aeruginosa* sebesar 17,06 mm (kuat), *S. aureus* sebesar 20,11 mm (sangat kuat), dan *S. epidermidis* sebesar 19,31 mm (kuat). Bakteri uji *S. aureus* memberikan zona hambat terbesar dibandingkan bakteri uji lainnya. Hal ini disebabkan karena *S. aureus* berasal dari golongan bakteri yang berbeda yaitu bakteri *S. aureus* sebagai Gram positif. Jenis bakteri Gram positif memiliki struktur dinding sel yang lebih sederhana dibandingkan dengan bakteri Gram negatif³⁰. Dari hasil penelitian diperoleh konsentrasi 32% memiliki nilai zona hambat hampir mendekati dengan nilai kontrol positif doksisiklin. Sehingga

diketahui bahwa ekstrak etanol daun Ceremai memiliki potensi sebagai antibakteri sehingga dapat dikembangkan untuk pengobatan infeksi kulit.

Hasil penelitian ini membuktikan bahwa semakin meningkatnya konsentrasi ekstrak maka semakin meningkat pula daya hambat yang diperoleh. Hal ini sesuai dengan pernyataan Alouw, Fatimawati, dan Lebang (2022) bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan maka semakin besar zona hambat yang terbentuk. Penambahan konsentrasi senyawa antibakteri dapat meningkatkan penetrasi senyawa antibakteri ke bagian dalam sel bakteri yang akan merusak sistem metabolisme sel dan dapat mengakibatkan kematian sel³¹.

KESIMPULAN

Isolat fungi endofit kode IFBZ5, IFBZ6 dan IFBZ7 dari batang tanaman bidara (*Zizhipus mauritiana* Lam.) memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} kode IFBZ5 dan IFBZ6 sebesar 2.482,363 $\mu\text{g/mL}$ dan 467,847 $\mu\text{g/mL}$ termasuk kategori aktivitas antioksidan yang sangat lemah dan untuk kode isolat IFBZ7 dengan nilai IC_{50} sebesar 50,120 $\mu\text{g/mL}$ termasuk kategori aktivitas antioksidan yang kuat sedangkan nilai IC_{50} BHT sebagai pembanding sebesar 6,778 $\mu\text{g/mL}$ termasuk kategori aktivitas antioskidan yang sangat kuat. Nilai IC_{50} jauh lebih besar dari pada nilai IC_{50} BHT sebagai pembanding. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan isolat fungi endofit

kode IFBZ5, IFBZ6 dan IFBZ7 lebih rendah dibandingkan dengan BHT sebagai pembanding dengan menggunakan metode DPPH.

DAFTAR PUSTAKA

1. Zahra I, Erikania S, Dewi O. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 Secara *In Vitro*. *MEDFARM: Jurnal Farmasi dan Kesehatan*. 2021;10(1):28–34.
2. Safitri GL, Wibowo MA, Idiawati N. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Buah Asam Paya (*Eleiodoxa conferta* (Griff.) Buret) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella thypi*. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*. 2017;6(1):17–20.
3. Fitriah F, Mappiratu M, Prismawiryanti P. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Tanaman Johar (*Cassia siamea* Lamk.) dari Beberapa Tingkat Kepolaran Pelarut. *KOVALEN: Jurnal Riset Kimia*. 2017;3(3):242–251.
4. Sernita S, Irnawati I, Syamsinar S. Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol, Fraksi n-Heksana dan Etanol Daun Ceremai (*Phyllanthus acidus* L. Skeels) Terhadap *Salmonella thypi*. *BioWallacea: Jurnal Penelitian Biologi*. 2019;6(1):900–910.
5. Marpaung JK, Suharyanisa, Situmorang M, Loi A. Identifikasi Simplisia dan Uji Aktivitas Antibakteri Daun Ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) Terhadap Bakteri *Streptococcus pyogenes* dan Bakteri *Salmonella typhi*. *Jurnal Tekesnos*. 2022;4(1):307–318.
6. Sudding, Ramdani, Fatmawati. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Etil Asetat Daun Ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels). *Jurnal Chemica*. 2023;24(1):33–39.
7. Oktasila D, Nurhamidah, Handayani D. Uji Aktivitas Antibakteri Daun Jeruk Kalamansi (*Citrofortunella microcarpa*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Pendidikan dan Ilmu Kimia*. 2019;3(2):158–169.
8. Putri EYP, Mulyanti D, Ulfa EU. Kajian Potensi Penyebaran Mikroorganisme Patogen Penyebab ISPA dan Diare Berdasarkan Kondisi Geografis dan Demografis Wilayah

- Indonesia. *Jurnal Pharm.* 2022;2(2):1–4.
9. Fitriani IR, Fitriana, Nuryanti S. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Ketepeng Cina (*Cassia alata* L.) Terhadap Beberapa Bakteri Penyebab Infeksi Kulit. *Makassar Natural Product Journal.* 2023;1(4):22–28.
 10. Gustiana E. Hubungan Pengetahuan Tentang Personal Hygiene dan Pemanfaatan Fasilitas Sanitasi Lingkungan dengan Kejadian Penyakit Infeksi Kulit pada Pondok Pesantren Anshor Al-Sunnah Air Tiris. *Prepotif: Jurnal Kesehatan Masyarakat.* 2022;6(1):1003–1007.
 11. Arthaningsih DAAD, Karna NLPRV. Profil Pioderma pada Anak Usia 0–14 Tahun di Rumah Sakit Umum Pusat (RSUP) Sanglah, Denpasar Periode Juni 2015–2016. *Jurnal Intisari Sains Medis.* 2020;11(1):22–27.
 12. Niah R, Baharsyah RN. Potensi Ekstrak Daun Tanaman Karamunting (*Melastoma malabathricum* L.) di Daerah Kalimantan Sebagai Antibakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Manuntung.* 2018;4(1):36–40.
 13. Nafis A, Septiani D, Malau J. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Pharmaceutical Science.* 2023;6(3):1194–1203.
 14. Legi AP, Edy HJ, Abdullah SS. Formulasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Sediaan Sabun Cair Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Pharmacon.* 2021;10(3):1058–1065.
 15. Riyo M, Dermiati, Yusriadi. Efek Fraksi Buah Ketumbar Terhadap Gambaran Histopatologi Pankreas Tikus Putih Jantan Hiperkolesterolemia-Diabetes. *Farmakol: Jurnal Farmasi.* 2019;16(1):48–58.
 16. Mustiqawati E, Justan R, Jafar N, Rusdi M. Uji Daya Hambat dan Analisis KLT Bioautografi Akar Parang Romang (*Boehmeria virgata* (Forst) Guill). *Jurnal Farmasi.* 2015;3(2):61–66.
 17. Nurrahma EA. Antibacterial Activity of Bidara Leaves (*Ziziphus mauritiana* L.) Ethanol Extract Against Some Test Bacteria. *Jurnal Microbiological Science.* 2022;2(2):38–47.
 18. Wirawan AY, Kosman R, Herwin. Antibacterial Activity of Extra Ethanol Kopasanda Leaves (*Chromolaena odorata* L.) Against Pathogenic Bacteria of Urinary Tract Infection by TLC-Bioautography and Agar Diffusion. *Jurnal Microbiological Science.* 2023;3(2):10–19.
 19. Astriani AD, Arifin A, Bapiuddin SH. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daging Buah Pepino (*Solanum muricatum* Aiton) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Salmonella typhi*. *Jurnal FARBAL.* 2021;9(2):65–75.
 20. Banoeari AT, Juwitaningsih T. Kajian Aktivitas Antibakteri dan Toksisitas Ekstrak Biji Telang. *CHEDS: Journal of Chemical Education and Science.* 2023;7(2):254–261.
 21. Utami NF, Nurdayanty SM, Sutanto, Suhendar U. Pengaruh Berbagai Ekstraksi pada Penentuan Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol Daun Iler (*Plectranthus scutellarioides*). *FITOFARMAKA: Jurnal Ilmiah Farmasi.* 2020;10(1):76–83.
 22. Soamole NF, Nuryanti S, Amirah S. Antibacterial Activity Test of Ethanol Extract of Basil Leaves (*Ocimum basilicum*) Against *Streptococcus mutans* and *Porphyromonas gingivalis*. *Jurnal Microbiological Science.* 2024;4(1):82–89.
 23. Fitriana, Kayla AP, Nuryanti S. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kayu Jawa (*Lannea coromandelica* (Houtt.) Merr.) Terhadap Bakteri Penyebab Infeksi Kulit dengan Metode Difusi Agar. *Makassar Pharmaceutical Science Journal.* 2023;1(3):131–141.
 24. Mulqie L, Anggadireja K. Aktivitas Antimikroba Fraksi Etil Asetat Daun Ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) Terhadap Bakteri Resisten Antimikroba dan Jamur dengan Metode KLT Bioautografi. *Jurnal Farmasetika.* 2019;4(1):34–38.
 25. Tarman K, Purwaningsih S, Negara AAPAP. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Bakau Hitam (*Rhizophora mucronata*) Terhadap Bakteri Penyebab Diare. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia.* 2014;16(3):249–258.
 26. Shaila GY, Lelyana S, Kurniawati SV. Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) Ekstrak Etanol Daun Ketepeng Cina (*Cassia alata* L.) Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*. *SONDE: Sound of Dentistry.* 2019;4(1):1–15.
 27. Fadhillah R, Iskandar EAP, Kusumaningrum HD. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Tumbuhan

- Lumut Hati (*Marchantia paleacea*) Terhadap Bakteri Patogen dan Perusak Pangan. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 2012;23(2):126–131.
28. Inanta NS, Bhernama BG, Muslem. Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari Ekstrak Etanol Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *Ar-Raniry Chemistry Journal*. 2023;5(3):127–140.
 29. Purba AUC, Naliani S, Sugiaman VK. Efektivitas Antibakteri Fraksi Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lam) Sebagai Pembersih Gigi Tiruan Sebagian Lepas Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Kedokteran Gigi*. 2023;11(2):143–151.
 30. Lingga AR, Pato U, Rossi E. Uji Antibakteri Ekstrak Batang Kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Online Mahasiswa Fakultas Pertanian*. 2016;3(1):1–15.
 31. Alouw GEC, Fatimawali F, Lebang JS. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* dengan Metode Difusi Sumuran. *Pharm Med Journal*. 2022;5(1):36–44.