 DOI : 10.35311/jmpi.v11i2.1020

## Uji Aktivitas Antibakteri Dan Uji Toksisitas In Vitro Fraksi N-Butanol Daun Sawo Duren (*Chrysophyllum cainito* L.)

Fadillah Maryam Bau Agiel\*, Fhahri Mubarak, Nurzadrina Wahyuddin, Suwahyuni Mus

Program Studi Ilmu Farmasi (Sarjana Farmasi), Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Almarisah Madani

Sitasi: Agiel, F. M. B., Mubarak, F., Wahyuddin, N., & Mus, S. (2025). Uji Aktivitas Antibakteri dan Uji Toksisitas *in vitro* Fraksi N-Butanol Daun Sawo Duren (*Chrysophyllum cainito* L.). *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*, 11(2), 524–531. <https://doi.org/10.35311/jmpi.v11i2.1020>

Submitted: 27 Oktober 2025

Accepted: 16 Desember 2025

Published: 25 Desember 2025

\*Penulis Korespondensi:

Fadillah Maryam Bau Agiel

Email: fadillahmaryam0@gmail.com



Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License

### ABSTRAK

Sawo duren memiliki metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, saponin, dan fenolik. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui sifat antibakteri fraksi n-butanol daun sawo duren (*Chrysophyllum cainito* L) dengan menggunakan difusi cakram dan tingkat toksisitasnya terhadap larva udang *Arthemiasalina* Leach. Dengan pelarut etanol, 300 gram sampel dimaserasi. Kemudian, dalam ekstraksi cair-cair menggunakan pelarut n-butanol, aktivitas antibakteri fraksi n-butanol diuji dengan metode difusi cakram. Zona hambat diperoleh pada konsentrasi 1,25%, 2,5%, dan 5%, masing-masing dengan nilai  $7.45 \pm 0.0$ ,  $9.41 \pm 0.1$ , dan  $11.43 \pm 0.1$ . kemudian pada fraksi n-butanol daun sawo duren dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8 dan 10 ppm bersama dengan air laut sebagai kontrol. Kemudian, sebagai respons terhadap toksisitas, parameter kematian dihitung setelah 24 jam perlakuan. Hasil fraksi n-butanol dari daun sawo duren memiliki aktivitas antibakteri berspektrum luas dan efek toksisitas, dengan nilai  $LC_{50}$  sebesar 4.39 ppm yang termasuk dalam kategori sangat toksik. Hasil skrining fitokimia fraksi n-butanol menunjukkan bahwa flavanoid, alkaloid, dan fenolik semuanya bersifat positif.

**Kata Kunci:** Daun Sawo Duren, Fraksi n-Butanol, Antibakteri, Larva Udang

### ABSTRACT

*Chrysophyllum cainito* has secondary metabolites such as flavonoids, alkaloids, saponins, and phenolics. The purpose of this study was to determine the antibacterial properties of the n-butanol fraction of *Chrysophyllum cainito* using disc diffusion and its toxicity level against *Arthemiasalina* Leach shrimp larvae. With ethanol solvent, 300 grams of sample were macerated. Then, in liquid-liquid extraction using n-butanol solvent, the antibacterial activity of the n-butanol fraction was tested by the disc diffusion method. The inhibition zones were obtained at concentrations of 1.25%, 2.5%, and 5%, with values of  $7.45 \pm 0.0$ ,  $9.41 \pm 0.1$ , and  $11.43 \pm 0.1$ , respectively. then in the n-butanol fraction of *Chrysophyllum cainito* leaves with concentrations of 2, 4, 6, 8 and 10 ppm along with seawater as a control. Then, in response to toxicity, mortality parameters were calculated after 24 hours of treatment. The n-butanol fraction from *Chrysophyllum cainito* leaves showed broad-spectrum antibacterial activity and toxicity, with an  $LC_{50}$  value of 4.39 ppm, which is categorized as highly toxic. Phytochemical screening of the n-butanol fraction showed positive flavonoids, alkaloids, and phenolics.

**Keywords:** *Chrysophyllum cainito*, n-Butanol Fraction, Antibacterial, Shrimp Larvae

## PENDAHULUAN

Tanaman sawo duren (*Chrysophyllum cainito* L.) mengandung metabolit sekunder golongan saponin, alkaloid, flavonoid dan fenolik (Hanif, *et al*, 2018). Daun sawo duren mengandung antioksidan dan golongan triterpenoid meliputi  $\beta$  amirin asetat dan asam gentistik. Dari penelitian yang telah dilakukan dilakukan oleh Oranusi, S.U (2015) bahwa sawo duren memiliki potensi besar sebagai agen antimikroba terhadap bakteri, hasil penelitian juga menyebutkan bahwa bakteri uji berpotensi rentan terhadap ekstrak dari biji dan buah sawo duren berdasarkan zona hambatnya yang berkisar antara 1

mm - 10 mm.

Studi tentang toksisitas dengan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) telah banyak dilakukan. Penelitian yang dilakukan oleh Lumogdang (2021) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sawo duren dengan  $LC_{50}$  51,58 g/mL menunjukkan bahwa metode ini sangat berguna untuk studi lanjutan. Ekstrak etanol daun sawo duren menunjukkan sifat sitotoksik yang kuat, dengan nilai  $LC_{50}$  7,48 bpj menggunakan metode BSLT. Ekstrak ini mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, fenolik, saponin, tannin, dan steroid.

Berdasarkan hasil penelitian lain yang menyebutkan bahwa fraksi n-butanol daun sawo duren mempunyai senyawa fenolik, sawo duren memiliki senyawa aktif berupa flavonoid. Aktivitas fraksi n-Butanol daun sawo duren lebih besar dibandingkan dengan fraksi n-Heksan dalam meredam radikal bebas DPPH dengan nilai  $LC_{50}$  pada fraksi n-butanol daun sawo duren sebesar 17,59  $\mu\text{g/mL}$  dan 245,36  $\mu\text{g/mL}$  pada fraksi n-Heksan.

Aktivitas antioksidan antioksidan daun sawo duren dengan metode ABTS bahwa fraksi n-butanol daun sawo duren memiliki aktivitas antioksidan berdasarkan  $IC_{50}$  yaitu fraksi n-Heksan 23,91  $\mu\text{g/mL}$ , fraksi n-butanol daun sawo duren 2,67  $\mu\text{g/mL}$  termasuk dalam kategori sangat kuat. Fraksi n-butanol daun sawo duren memiliki antioksidan dengan metode FRAP dengan nilai rata-rata kemampuan daya mereduksi ion besi untuk fraksi n-Heksan sebesar 131,77  $\mu\text{mol}$  dan fraksi n-butanol daun sawo duren 145,500  $\mu\text{mol}$  memiliki senyawa aktif berupa flavonoid.

## METODE PENELITIAN

### Alat

Penelitian ini akan menggunakan berbagai alat, termasuk oven, bunsen, batang pengaduk, blender, corong, cawan petri, cotton swab, erlenmeyer, gelas ukur kimia, inkubator, jangka sorong, dan microwave, pipet tetes (OneMed) mikro pipet, tabung reaksi, rak tabung, kertas cakram, cawan porselen, ose bulat/ose lurus, jarum ose, kapas, kaca arloji, kertas saring, mikropipet, spatula, tabung reaksi, dan timbangan analitik, aluminium foil, aerator, lampu 40-60 watt, rotary vacuum evaporator, karet, seperangkat alat KLT, seperangkat alat maserasi, hot plate, aquarium, chamber, sendok tanduk, thermometer, pipet tetes, pisau, toples kaca, kertas saring, pH meter, corong pisah, dan vial.

### Bahan

Adapun bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sawo duren,  $\text{AlCl}_3$ , Aluminium foil, aquades, etanol 96%,  $\text{FeCl}_3$ , tissue, kapas, kertas saring, kloroform, n-heksan, HCl, n-butanol, spiritus, lempeng KLT 60  $F_{254}$ , metanol, media *Meuller Hinton Agar*, media *Nutrient Broth*, pereaksi *Triphenyltetrazolium chloride*, dimetil sulfoksida, *papper disk blank*, *papper disk tetrasiklin*, larutan Mcfarland, pereaksi dragendroff, NaCl 0,9%, air laut, DMSO, etil asetat, ragi, pereaksi Dragendroff, pereaksi  $\text{AlCl}_3$ , pereaksi  $\text{FeCl}_3$ , larva udang (*Arthemiasalina* Leach) dan vanillin.

### Pengolahann Simplisia

Untuk memudahkan pengeringan, satu kilogram daun sawo duren (*Chrysophyllum cainito* L.)

yang telah dikumpulkan disortasi dari daun basah dan dicuci dengan air mengalir. Setelah proses perajangan, pengeringan dilakukan dengan oven simplisia pada suhu 50°C selama lebih dari empat hari untuk mencegah penyebaran mikroba. Dilakukan sortasi kering untuk membedakan sisa-sisa kotoran dari simplisia, dan kemudian disimpan dalam wadah tertutup rapat untuk mencegah kontaminasi sampel.

### Pembuatan Ekstrak Metanol Daun Sawo Duren

Daun sawo duren yang sudah kering dirajang dengan ukuran yang sesuai. Sebanyak 300 gram simplisia dimasukkan kedalam wadah maserasi kemudian ditambahkan dengan jenis pelarut metanol 3 liter hingga simplisia terendam sempurna dan ditutup rapat kemudian dibungkus dengan menggunakan aluminium foil, didiamkan ditempat terlindung dari cahaya matahari.

Simplisia diaduk 8 jam sekali. Perendaman dilakukan selama 3 X 24 jam, setelah itu disaring menggunakan kertas saring. Residu dimaserasi kembali (remaserasi) hingga hasil yang didapatkan jernih. Filtrat yang dihasilkan sebanyak 10 liter dikumpulkan dan diuapkan hingga diperoleh ekstrak kental 5 g. Selanjutnya ekstrak kental ditimbang untuk mengetahui perserendemennya dan disimpan pada suhu rendah, terlindung dari cahaya matahari.

### Ekstraksi Cair-Cair

Selanjutnya, lima gram ekstrak kental diambil dan dicampur dengan lima puluh mililiter pelarut air, diaduk hingga larut. Dengan menggunakan corong pisah, campuran diekstraksi cair-cair dengan pelarut n-heksan, dan kemudian didiamkan hingga terpisah. Fraksi n-heksan berada di atas, sedangkan fraksi air berada di bawah. Fraksinasi ini dilakukan sebanyak enam belas kali untuk menghasilkan larutan n-heksan jernih (tidak berwarna). Kemudian fraksi n-heksan dan fraksi air terpisah. Sebanyak 50 ml pelarut n-butanol difraksinasi kembali dengan fraksi air dengan cara yang sama. Fraksi n-butanol berada di atas dan fraksi air di bawah. Fraksinasi pada pelarut n-butanol dilakukan empat kali untuk menghasilkan larutan jernih (tidak berwarna). Penggunaan ekstrak total adalah 30,99 gram.

### Skrining Fitokimia

#### 1. Identifikasi alkaloid

Lempeng KLT dilapisi dengan fraksi n-butanol, yang kemudian dielus dengan eluen yang sesuai. Selanjutnya, pereaksi Dragendorff disemprotkan ke lempeng tersebut. Pengamatan dilakukan pada lampu ultraviolet dengan panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Setelah pereaksi

Dragendorff disemprotkan ke plat, bercak berwarna coklat dengan latar belakang kuning akan muncul.

## 2. Identifikasi flavonoid

Fraksi n-butanol dari daun sawo duren diletakkan pada lempeng KLT, dan eluen yang sesuai kemudian digunakan untuk dielusi. Selanjutnya, pengamatan dilakukan pada lampu UV yang memiliki panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Kemudian, AICI<sub>3</sub> disemprotkan. Flavonoid dengan sistem aromatik terkonjugasi memiliki pita serapan yang kuat di bawah sinar ultraviolet dan cahaya tampak. Dalam analisis KLT dan penampakan dengan reagen AICI<sub>3</sub>, flavonoid akan muncul sebagai bercak berwarna kuning, dan tergantung pada strukturnya, flavonoid dapat berfluoresensi kuning, biru, atau hijau pada UV 366 nm (Muliastari dan Yuanita 2018).

## 3. Identifikasi fenolik

Setelah bagian n-butanol dari daun sawo duren diletakkan pada lempeng KLT, eluen yang sesuai dielusi. Kemudian diamati dengan lampu UV pada 254 dan 366 nm. Selanjutnya, jika ada noda hijau, merah, ungu, biru, atau hitam yang kuat, disemprot dengan FeCl<sub>3</sub> positif yang mengandung fenol (Wardhani et al., 2018).

## 4. Identifikasi saponin

Lempeng KLT ditempatkan dengan larutan fraksi n-butanol daun sawo duren dan kemudian dielusi dengan eluen yang sesuai. Setelah itu, bercak diamati pada lampu UV 254 nm dan 366 nm, dan vanilin digunakan untuk menyemprotkannya. Pereaksi semprot vanilin-asam sulfat dapat mendeteksi glikosida saponin dengan menghasilkan bercak biru violet yang kadang-kadang berubah menjadi merah, kuning, biru tua, ungu, hijau, atau kuning kecoklatan (Sani et al., 2014).

## Pengujian uji aktivitas antibakteri fraksi n-butanol daun sawo duren

### 1. Sterilisasi alat

Alat yang tidak tahan panas terlebih dahulu dibungkus menggunakan kertas yaitu bahan-bahan plastik dan kaca yang memiliki skala serta media MHA dan NB Setelah itu dimasukkan kedalam autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C. Dan alat yang tahan terhadap pemanasan dibungkus menggunakan aluminium foil yaitu bahan kaca yang tidak memiliki skala kemudian dimasukkan kedalam oven selama 1 jam dengan suhu 180°C, untuk ose bulat disterilkan dengan cara dipijarkan.

### 2. Penyiapan sampel uji fraksi n-butanol daun sawo duren.

Ditimbang 2 gram sampel fraksi n-butanol daun sawo duren dan dilarutkan dengan menggunakan DMSO 10% 10 mL untuk

medapatkan larutan stock dengan konsentrasi 20% dan di buat beberapa konsentrasi pengenceran yaitu 10%, 5%, 2,5% dan 1,25% . Dengan cara diambil 1 mL 0,5 mL, 0,25 mL dan 0,125 mL kemudian di addkan dengan menggunakan pelarut DMSO 10% sampai 2 mL

### 3. Menyediakan media Mueller Hinton Agar

Timbang 19 gram serbuk Mueller Hinton Agar dan campurkan dengan 500 mililiter. Kemudian, dinginkan dengan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C. Tuang media dingin ke dalam cawan petri yang telah dibersihkan dan dinginkan pada suhu kamar.

### 4. Peremajaan mikroba uji

Masing-masing mikroba uji yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Esherichia coli* diambil dari satu ose dari biakan murni kemudian diinokulasi pada Medium *Huller Hinton Agar* secara *sterak plate*, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

### 5. Pembuatan suspensi bakteri

Kultur bakteri yang telah diremajakan dalam media Mueller Hinton Agar selama 1 kali 24 jam disuspensikan dengan 10 mililiter natrium klorida 0,9%. Kemudian, kekeruhan larutan standar Mcfarland diukur.

### 6. Uji konsentrasi hambat minimum

Media NB yang telah dibuat dibuat dimasukkan kedalam tabung rekasi yang telah di sterilkan, kemudian dimasukkan konsentrasi sampel fraksi n-butanol dengan konsentrasi 20%, 5%, 2,5% dan 1,25% dimasukkan suspensi bakteri, diinkubasi suhu 37°C selama 24 jam, setelah itu ditambahkan pereaksi (TTC), jika terjadi perubahan warna merah menandakan sampel tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri. \

### 7. Pengujian aktivitas antibakteri

Metode cakram digunakan untuk menguji aktivitas antibakteri fraksi n-butanol daun sawo duren. Enam cawan petri dimasukkan dengan media MHA sebanyak 10 mL sampai memadat. Setelah itu, suspensi bakteri yang telah dibuat digoreskan pada media yang telah memadat dengan catton swab steril. Selanjutnya, lima kertas cakram direndam pada larutan sampel dengan konsentrasi 5%, 2,5%, dan 1,25% disertakan. Selain itu, kertas cakram yang direndam pada DMSO sebagai kontrol negatif dan kertas disk tetrasiklin sebagai kontrol positif. Semua cawan diinkubasi selama satu hari pada suhu 37°C derajat Celcius. Dengan menggunakan jangka sorong, diameter zona bening yang terbentuk di sekeliling kertas cakram diukur.

## Uji Toksisitas Dengan Metode BSLT

Sampel yang digunakan untuk uji toksisitas adalah fraksi n-butanol daun sawo duren. Masing-

masing pengujian dilakukan 5 kali pengulangan.

#### 1. Pembuatan Air Laut

Pembuatan air laut buatan disiapkan dengan melarutkan 15 gram NaCl dalam 1 liter aquadest (Kurniawan, 2021).

#### 2. Penetasan Telur Larva *Artemia salina* Leach

Sekitar 36 hingga 48 jam sebelum pengujian toksisitas, telur udang ditetaskan dalam wadah akuarium. Air laut buatan, yang telah disaring menggunakan kertas saring, ditambahkan ke dalam wadah tersebut. Suhu penetasan dijaga pada 25 hingga 31 derajat Celcius dan aerator digunakan untuk memulai proses penetasan. Terlebih dahulu, telur *Artemia salina* Leach 50-150 mg dicuci, yaitu ditabur dan direndam dalam wadah aquades selama satu jam selanjutnya, aerator dinyalakan pada botol air laut 500 mililiter dan ditutupi dengan kain hitam.

Telur *Artemia salina* Leach dibiarkan menetas menjadi nauplii yang matang dan siap digunakan dalam percobaan selama 36 hingga 48 jam. Telur akan menetas dalam waktu 18 hingga 48 jam, dan untuk menjauhkan larva udang dari kulit telur, telur secara alami akan bergerak ke tempat terang. Uji larva fototropik yang sehat dan siap dilakukan pada umur 36 hingga 48 jam. Untuk membedakan larva dari telurnya, pipet dimasukkan ke dalam vial berisi air laut (Lestari et al., 2019).

#### 3. Penyiapan Larutan Stok

Membuat Larutan Stok: Fraksi n-butanol daun sawo sebanyak 200 mg ditimbang dan dicampur dengan 100 mL air laut dan 1 mililiter DMSO untuk mendapatkan konsentrasi 2000 ppm yang akan digunakan sebagai larutan stok. Kemudian dibuat seri konsentrasi uji dengan mengencerkan larutan stok hingga konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm. Untuk menguji toksisitas, metode BSLT digunakan. Seri konsentrasi uji tersebut adalah seri 2, 4, 6, 8, dan 10 ppm. Sepuluh vial uji dimasukkan dengan sedikit air laut dan satu tetes larutan ragi untuk nutrisi larva. Kemudian, volume air laut ditambahkan sampai 10 mililiter, dan larutan kontrol hanya terdiri dari air laut buatan, satu tetes larutan ragi, dan larva udang

#### 4. Uji Toksisitas Dengan Metode BSLT

Uji seri konsentrasi 2, 4, 6, 8, dan 10 ppm dibuat. Sepuluh vial uji dimasukkan dengan sedikit air laut dan satu tetes larutan ragi untuk nutrisi larva. Kemudian, volume air laut ditambahkan sampai 10 mililiter, dan larutan kontrol hanya terdiri dari air laut buatan, satu tetes larutan ragi, dan larva udang. Setelah itu, vial uji disimpan selama satu hari pada suhu kamar. Setiap perawatan dilakukan lima kali

(fivplo). Untuk mengetahui nilai LC50, jumlah larva yang hidup dihitung dan persentase kematian dihitung.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel daun sawo duren yang diolah menjadi simplisia digunakan dalam penelitian ini. Dalam proses pembuatan simplisia, pengeringan digunakan untuk membuat simplisia yang tidak mudah rusak sehingga dapat disimpan lebih lama, mengurangi kadar air, dan mencegah penurunan mutu atau perusakan simplisia. Metode maserasi menggunakan pelarut metanol digunakan untuk mengekstraksi simplisia.

Metode ini menggunakan pelarut metanol karena pelarut ini memiliki kemampuan untuk melarutkan baik senyawa polar maupun non-polar, sehingga sangat efektif untuk mengekstrak senyawa metabolit sekunder yang ada pada sampel yang digunakan. Maserasi dilakukan dengan merendam serbuk simplisia dengan penyari sampai meresap. Ini akan melunakkan susunan sel, memungkinkan zat-zat yang terkandung di dalamnya untuk terlarut. Metode ini dapat mencegah kerusakan senyawa yang bersifat termetabolit. Untuk mengimbangi konsentrasi larutan di luar butir serbuk simplisia selama proses maserasi, pengadukan digunakan (Direktorat Jendral Pengawasan Obat RI, 1986). Proses ekstraksi daun sawo duren dengan pelarut metanol menghasilkan bobot simplisia 300 gram, bobot ekstrak 30,99 gram, dan rendemen 10,33%.

Selanjutnya, teknik ekstraksi cair-cair digunakan untuk memfraksinasi ekstrak daun sawo duren menggunakan pelarut n-heksan yang tidak polar dan pelarut n-butanol yang polar. Ini karena fraksinasi pada dasarnya adalah pengambilan senyawa dengan menggunakan dua pelarut yang berbeda dalam sifat kepolarannya (Firdausi et al., 2015). Harborne (1996) menyatakan bahwa flavonoid mudah larut dalam pelarut n-butanol karena memiliki banyak gugus hidroksil dan glikosida.

Menurut penelitian Widyawati et al. (2010), fraksi n-butanol mengandung senyawa flavonoid glikosida dari benzofenon, dan pelarut n-butanol memiliki kemampuan untuk mengekstrak senyawa flavonoid C-glikosida. Penggunaan ekstraksi cair-cair didasarkan pada kemampuan masing-masing pelarut untuk membedakan kelompok kandungan kimia dalam ekstrak, sehingga menghasilkan senyawa yang lebih murni. Pada proses ekstraksi cair-cair didapatkan persen rendemen dari masing-masing fraksi.

Tabel 1. Hasil Rendemen Fraksi Daun Sawo Duren

Berat Ekstrak (Gram)	Pelarut	Bobot Fraksi (Gram)	Persen Rendemen (%)
30,99	n- heksan	9,59	30,94
	n-butanol	10,39	33,50
	Air	6,85	22,10

### Skrining Fitokimia

Setelah fraksi n-butanol dari daun sawo duren dari ekstraksi cair-cair diperoleh, uji skrining fitokimia dilakukan dengan KLT. Tujuan identifikasi KLT adalah untuk menunjukkan pemisahan komponen kimia pada ekstrak melalui pola

kromatogram yang khas yang dihasilkan oleh perbedaan kepolaran antara pelarut dan sampel. Proses ini juga memberikan gambaran awal tentang komposisi kandungan kimia berdasarkan pola kromatogram (Depkes RI, 2000). Dengan menggunakan eluen n-butanol: etil asetat: HCl, hasil KLT diperoleh dengan perbandingan 3–6:1.

Tabel 2. Skrining Fitokimia

No.	Kandungan Kimia	Pereaksi	Fraksi	Pustaka	Hasil	Ket.
1	Flavonoid	AlCl <sub>3</sub>	n-butanol	bercak berwarna kuning (Muliastari dan yuanita 2018).	Kuning	(+)
2	Alkaloid	Dragendorff	n-butanol	bercak coklat berlatarbelakang kuning (Wardani <i>et al.</i> , 2018)	Coklat	(+)
3	Fenolik	FeCl <sub>3</sub>	n-butanol	noda berwarna hijau, merah, ungu, biru atau hitam yang kuat (Wardani <i>et al.</i> , 2018).	Hitam	(+)
4	Saponin	Vanilin	n-butanol	Biru, biru-violet, merah /kuning sampai coklat (Herwin <i>et al.</i> , 2014).	Tidak berwarna	(-)

### Uji Aktivitas Antibakteri

Sebelum melakukan uji aktivitas antibakteri fraksi n-butanol daun sawo duren, uji konsentrasi hambat minimum (KHM) dilakukan dengan metode dilusi cair pada tabung reaksi. Uji KHM dengan ekstrak 20%, 10%, 5%, 2,5%, dan 1,25% dilakukan. Hasil uji KHM pada dua bakteri yang diuji adalah semua konsentrasi sampel dapat menghambat pertumbuhan bakteri, karena tidak ada perubahan warna merah setelah ditetesi pereaksi TTC

(triphenyltetrazolium chloride). Oksidasi zat organik oleh mikroorganisme menunjukkan adanya dehidrogenase enzim, yang dapat menjadi indikator yang baik dari dehidrogenase enzim. sehingga TTC dapat digunakan untuk mengamati aktivitas dehidrogenase, yang akan menghasilkan Trifenilformazan berwarna merah. Ini adalah indikator yang sangat baik untuk aktivitas mikrobiologi (Olga *et al.*, 2015). Uji KHM dilakukan untuk menentukan konsentrasi fraksi terkecil yang dapat menghentikan perkembangan mikroba yang diuji, pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram.

Tabel 3. Hasil Penentuan KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) Fraksi n- Butanol Daun Sawo duren terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

No.	Konsentrasi(%)	Hasil Pengamatan	
		<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
1	20	-	-
2	10	-	-
3	5	-	-
4	2,5	-	-
5	1,25	-	-

Keterangan : (+) = Adanya pertumbuhan bakteri, (-) = Tidak adanya pertumbuhan bakteri

Hasil pengujian aktivitas diperoleh dari tabel yang menggunakan metode difusi cakram. Metode difusi bekerja dengan mengdifusikan senyawa

antibakteri pada media padat. Bakteri diberikan selama 24 jam untuk fase eksponensial, di mana pembelahan bakteri terus berlanjut dan jumlah sel

meningkat (Pleczar dan Chan, 2008). Hasil pengamatan metode difusi cakram menunjukkan bahwa ada atau tidak ada zona bening yang

terbentuk di sekeliling kertas cakram, yang menunjukkan bahwa bakteri tidak dapat berkembang (Balouri et al., 2016).

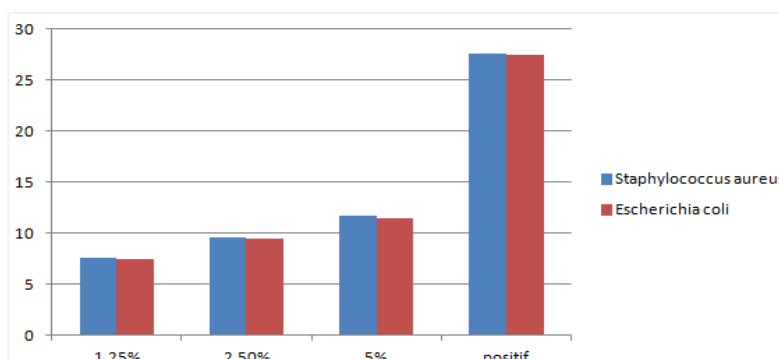
Tabel 4. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

No.	Bakteri uji	Konsentrasi Ekstrak			Kontrol	
		1.25%	2.5%	5%	+ (Tetrasiklin)	- (DMSO 10%)
1	<i>Staphylococcus aureus</i>	7.58 ± 0.2	9.57 ± 0.1	11.65 ± 0.0	27.63 ± 0.0	0
2	<i>Escherichia coli</i>	7.45 ± 0.0	9.41 ± 0.1	11.43 ± 0.1	27.47 ± 0.1	0

Pada bakteri *Staphylococcus aureus*, zona hambat dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan konsentrasi terendah 1,25%, dengan zona hambat 7,58 ± 0,2 mm. Dengan konsentrasi 2,5% dan 5%, zona hambat meningkat, dengan zona bening 9,57 ± 0,1 dan 11,65 ± 0,0. Pada mikroba uji lainnya, *Escherichia coli*, juga dapat menghambat pertumbuhan bakteri pada konsentrasi terendah 1,25%, dengan zona hambat 7,45 ± 0,0, dengan peningkatan konsentrasi menjadi 2,5% dan 5%. Berbanding lurus, semakin tinggi konsentrasi sampel, semakin banyak zona hambat yang

dibentuk, dengan zona bening 9,41 ± 0,1 dan 11,43 ± 0,1.

Grafik menunjukkan bahwa zona hambat fraksi n-butanol daun sawo duren terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* lebih besar daripada bakteri *Escherichia coli*. Menurut Jawetz et al. (2007), temuan ini didapatkan karena bakteri *Escherichia coli* adalah bakteri gram negatif yang tahan terhadap berbagai antibakteri. Hal ini disebabkan oleh fakta bahwa bakteri ini memiliki tiga lapisan dinding sel, yang berarti beberapa senyawa tidak dapat merusak jaringan dinding sel bakteri tersebut.



Gambar 1. Grafik Perbandingan Zona Hambat Terhadap Bakteri

Flavonoid, tannin, dan alkaloid adalah senyawa yang dapat mencegah pertumbuhan bakteri pada sampel fraksi n-butanol daun sawo duren, seperti yang ditunjukkan pada table skrining fitokimia. Flavonoid, sebagai bahan antibakteri, merusak dinding sel, menghentikan enzim bekerja, menempel pada adhesi, dan merusak membran sel. Menurut Nugraha et al. (2017), struktur yang bertanggung jawab atas aktivitas antibakteri flavonoid adalah gugus -OH dan cincin beta. Dalam tindakannya sebagai antibakteri.

Pada sel bakteri, komponen penyusun peptidoglikan dirusak oleh alkaloid. Ini menyebabkan kematian sel karena menghentikan pembentukan lapisan dinding sel yang tetap (Anggraini et al., 2019). Namun, fenolik memiliki kemampuan untuk menghentikan pertumbuhan bakteri dengan menghentikan lisis membran sel

bakteri dan koagulasi protein (Ngazizah, 2016).

Menurut penelitian Oranusi S. U (2015), bakteri yang diuji menghasilkan zona hambat sekitar 1 mm hingga 10 mm pada buah sawo duren. Uji kontrol positif menggunakan tetrasiklin karena tetrasiklin adalah antibakteri dengan spektrum luas yang dapat melawan bakteri gram positif dan gram negatif (Katzung, 2013). Zona bening kontrol positif adalah 27,63 ± 0,0 untuk bakteri *Staphylococcus aureus* dan 27,47 ± 0,1 untuk bakteri *Escherichia coli*. Dengan menggunakan DMSO 10% untuk kontrol negatif, tidak akan terjadi zona hambat. Penggunaan DMSO 10% disebabkan oleh fakta bahwa pelarut pengencer yang digunakan tidak memberikan efek antibakteri pada senyawa yang akan diuji (Nather et al., 2012).

#### Uji Toksisitas BSLT

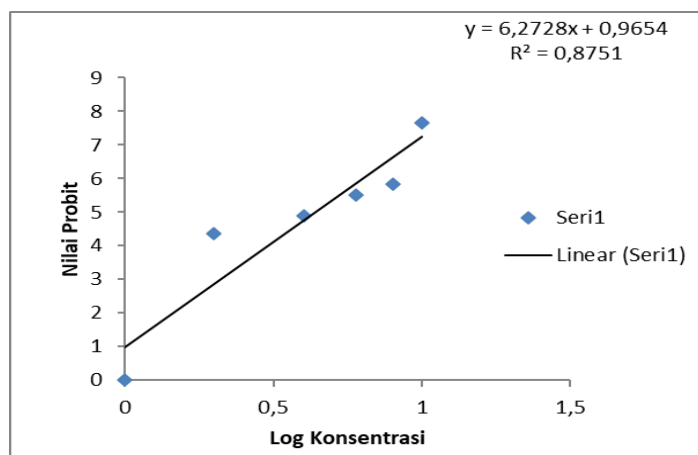
Metode Tes Lethality Brine Shrimp (BSLT)

digunakan untuk mengukur efek toksisitas ekstrak daun sawo duren. Salah satu metode yang paling umum digunakan untuk menentukan batas keamanan potensial sampel adalah metode ini. Metode ini sederhana, cepat, dan dapat diandalkan. Untuk menguji toksisitas, hewan dapat mati dan pengaruh senyawa yang diuji diukur melalui kematian hewan. Uji toksisitas ini dapat dilakukan dengan menghitung jumlah kematian hewan yang disebabkan oleh efek senyawa bahan alam tumbuhan pada dosis yang telah ditentukan. Toksisitas ekstrak diuji dengan metode BSLT. Pemilihan hewan larva *Arthemiasalina* Leach disebabkan oleh pertumbuhan yang cepat dan ukuran yang sangat kecil dari larva, yang dapat dianggap sebagai pertumbuhan sel yang abnormal. Air laut digunakan sebagai pembanding atau kontrol karena merupakan tempat hidup larva *Arthemiasalina* Leach.

Jumlah *Arthemiasalina* Leach yang mati dalam tiap vial selama 24 jam dengan menggunakan mikroskopik atau dengan tangan. Ketika larva udang tidak bergerak selama beberapa detik, itu dianggap mati. Cara manual, yaitu dengan melihat larva di dalam vial dengan cahaya dan lup atau tanpanya. Jumlah larva yang mati dikurangkan dari jumlah larva yang masih hidup di tiap konsentrasi. Dengan cara mikroskopik, pengamatan dilakukan dengan menggunakan mikroskop. Hasil penelitian yang didapatkan pada ekstrak daun sawo duren dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8 dan 10 ppm serta air laut sebagai kontrol yang diujikan terhadap *Arthemiasalina* Leach dengan parameter kematian setelah 24 jam perlakuan sebagai respon toksisitas. Jumlah kematian larva udang pada tiap konsentrasi dan perhitungan  $LC_{50}$  dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Data Hasil Pengamatan Kematian Larva Udang

Sampel Uji	Replikasi	Jumlah Larva Udang yang Mati					Kontrol
		2 ppm	4 ppm	6 ppm	8 ppm	10 ppm	
Fraksi n-butanol Daun Sawo Duren	1	3	4	6	8	10	0
	2	3	5	8	8	9	0
	3	2	4	7	7	10	0
	4	2	4	8	8	10	0
	5	3	6	6	9	10	0



Gambar 2. Kurva Regresi Ekstrak Daun Sawo Duren

Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi n-butanol daun sawo duren memiliki nilai  $LC_{50}$  sebesar 4,39 ppm dan termasuk dalam kategori sangat toksik; temuan ini juga menunjukkan bahwa fraksi n-butanol daun sawo duren mengandung senyawa bioaktif yang mungkin bermanfaat sebagai antikanker jika nilai  $LC_{50}$  kurang dari 1000 ppm. Dengan kata lain, penelitian ini menunjukkan bahwa fraksi n-butanol daun sawo duren memiliki potensi toksisitas. Ini karena flavonoid, senyawa dalam daun sawo duren yang dapat berbahaya dan bahkan membunuh larva. Mekanisme kematian larva diatur

oleh senyawa dalam fraksi n-butanol daun sawo duren, yang menghentikan larva makan. Senyawa-senyawa ini berfungsi sebagai racun perut. Akibatnya, sistem pencernaan larva akan terganggu ketika bahan-bahan ini masuk ke dalam tubuh larva. Selain itu, senyawa ini menghentikan reseptor perasa di mulut larva. Karena tidak dapat menerima stimulus rasa, larva kelaparan dan tidak dapat mengenali makanan. Teori tentang bagaimana zat bertindak sebagai antikanker berbeda. Senyawa-senyawa ini berfungsi sebagai antioksidan dengan mengaktifkan jalur apoptosis sel kanker.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa Fraksi n-butanol daun sawo duren memiliki aktivitas antibakteri yang didasarkan pada zona hambat terhadap dua bakteri uji, *E. coli* dan *S. aureus*. Pada konsentrasi terkecil 1,25%, fraksi n-butanol daun sawo duren dapat menghentikan pertumbuhan bakteri, dengan hasil zona bening 7,45 ± 0,0 mm.

Pada mikroba *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi 1,25%, dengan nilai zona hambat 7,58 ± 0,2 mm, semakin tinggi konsentrasi yang digunakan semakin besar daya hambat yang diberikan. Selain itu, fraksi n-butanol memiliki sifat antibakteri yang luas karena dapat menghentikan perkembangan bakteri gram positif dan negatif. Dan Uji toksisitas terhadap larva udang pada fraksi n-butanol daun sawo duren menunjukkan LC<sub>50</sub> sebesar 4.39 g/mL, menunjukkan tingkat keracunan yang sangat tinggi.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti berterima kasih kepada Widan Santoso Suhadi dan Nathalia Zenry S. Manti, mahasiswa bimbingan saya, atas waktu dan tenaga mereka untuk membantu peneliti selama penelitian di laboratorium.

## DAFTAR PUSTAKA

- Hanif, A.Q., Nur, Y. dan Rijai, L. 2018, Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Batang Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) dengan Dua Metode Ekstraksi', *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*, 8–13.
- Lestari, D., Kartika, R. dan Marliana, E. 2019. Uji *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) Umbi Bawang Tiwai (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb) dan Uji Toksisitas Akut Fraksi Aktif. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*.
- Lumogdang, L.P., Bullong, L.Q., Nuneza, O.M., Uy, M.M., 2021. Evaluation Of The Cytotoxicity Potential Of Ethanolic Extract Pf *Chrysophyllum Cainito* Using The Brine Shrimp Lethality Bioassay. *Jurnal of Experimental Research*, Vol 9 No 1
- Morton, J. 2010, Star Apple, in : Fruits of Warm Climates. Miami Florida. 408-410
- Ramdhini, R. N. 2010. Uji Toksisitas Terhadap *Arthemisia salina* LEACH dan Toksisitas Akut Komponen Bioaktif *Pandanus coneideus* var. *conoideus* Lam. Sebagai Kandidat Antikanker. USM Press

- Ngazizah, F, N., Ekowati dan Septiana, A, T. 2016, *Potensi Daun Trembilungan (Bongania hirtella L) Sebagai Antibakteri dan Antifungi*. *Biofersa* **33**(3)-126-133.
- Nather, S, E., Sekar, C., Amutharaj, P., Rahman, M, S, A and Khan, K, F. 2012, *Evaluation of Antibacterial Activity of Morindacitrifolia, Vilextrifolia, and Chromolaenaadorata,* *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* **6**(11) : 783- 788.
- Novitasari, A. E dan Putri, D, Z . 2016, Isolasi dan Identifikasi Saponin Pada Ekstrak Daun Mahkota Dewa Dengan Ekstraksi Maserasi. *Jurnal Sains*. **6**(12):10-14.
- Nugraha, A, C., Prasetya, A, T dan Mursiti, S. 2017, Isolasi Identifikasi , Uji Aktivitas Senyawa Flavonoid Sebagai Antivakteri Dari Daun Mangga. *Indonesian Journal of Chemical Science*. **6**(2). 92-95
- Olga, P., Petar, K., Jelena, M and Srdjan, R. 2015. Screening Method for Detection of Hydrocarbon-oxidizing Bacteria in Oil-contaminated Water and Soil Specimens. *Journal of Microbiological Methods*. **74**:110-113.
- Oranusi, S.U., Braide. W and Umeze, R.U. 2015, Antimicrobial Activities and Chemical Compositions Of *Chrysophyllum cainito* L( *Star Apple*) *Fruit*. Department of Microbiology, Federal University, Nigeria. *Microbiol res int*, **3** : 41-50.
- Pelczar, M, J dan Chan, E, C, S. 2008. *Dasar-Dasar Mikrobiologi Jilid I*. Jakarta: UI Press.
- Plantamor. 2016. Plantamor Situs Dunia Tumbuhan *Chrysophyllum cainito* L. <http://www.plantamor.com/index.php?>. 23 Juli 2022.
- Prayudo, A.N., Novia. O., Setyadi dan Antaresti, 2015. Keefisien Transfer Massa Kurkumin Dari Temulawak, *Jurnal Ilmiah Widya Teknik*.**14**:26-31.
- Balouiri, M., Sadiki, M., Ibsouda, S. K. (2006). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: a review. *Journal of Pharmaceutical analysis*. **6** (2), 71-79. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>