

# Penentuan kadar total fenolik, total flavonoid, dan uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kerai payung (*Filicium decipiens*) terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermis*

Cindy Natasya Hoswari, Reh Malem Br Karo<sup>✉</sup>, M. Yudha

Program Studi Farmasi Klinis, Universitas Prima Indonesia

<sup>✉</sup> rehmalembrkaro@gmail.com

## Abstrak

Tanaman kerai payung (*Filicium decipiens*) merupakan salah satu jenis tanaman yang dapat digunakan sebagai bahan alternatif dalam pembuatan obat. Tanaman ini mengandung berbagai senyawa metabolit sekunder seperti senyawa fenolik, flavonoid, tanin, alkaloid, saponin dan terpenoid. Adapun tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan kadar total fenolik, total flavonoid ekstrak etanol daun *Filicium decipiens* serta aktivitasnya terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermis*. Ekstrak etanol daun *Filicium decipiens* diperoleh melalui metode ekstraksi secara maserasi dengan pelarut etanol. Kadar total fenolik dan flavonoid ekstrak etanol daun *Filicium decipiens* ditentukan dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Visible. Penentuan kadar total fenolik dan flavonoid masing-masing menggunakan pereaksi Folin-Ciocalteu dan  $AlCl_3$ . Ekstrak dibuat dalam variasi konsentrasi (25%,50%,100%) dan dilakukan pengujian aktivitas antibakteri dengan menggunakan metode difusi cakram. Berdasarkan pada hasil penelitian diperoleh bahwa kadar total fenolik dan flavonoid ekstrak etanol daun Kerai Payung masing-masing adalah 234,79 mg/GAE/g dan 4,5905 mg/QE/g. Hasil uji aktivitas antibakteri pada berbagai variasi konsentrasi ekstrak terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermis* diperoleh masing-masing zona hambat terbesar pada konsentrasi ekstrak 100% yaitu 17,72 mm untuk *Propionibacterium acnes* dan 18,18 mm untuk *Staphylococcus epidermis*. Zona hambat yang dihasilkan tersebut tergolong kuat.

**Kata kunci:** *Filicium decipiens*, fenolik, flavonoid, antibakteri

## Abstract

The *Filicium decipiens* (Kerai Payung) is one of the plants that can be used as an alternative ingredient in the manufacture of medicine. This plant contains secondary metabolites such as phenolic compounds, flavonoids, tannins, alkaloids, saponins and terpenoids. The purpose of this study was to determine the total phenolic and total flavonoid levels of the ethanol extract of *Filicium decipiens* leaves and their activity against bacteria *Propionibacterium acnes* and *Staphylococcus epidermis*. The ethanol extract of *Filicium decipiens* leaves was obtained by maceration extraction method with ethanol solvent. Total phenolic and flavonoid content of the ethanol extract of *Filicium decipiens* leaves were determined using the UV-Visible spectrophotometry method. Determination of total phenolic and flavonoid content respectively using reagents Folin-Ciocalteu and  $AlCl_3$ . The extracts were made in various concentrations (25%, 50% 75%, 100%) and tested for antibacterial activity using the disc diffusion method. Based on the results of the study, it was found that the total phenolic and flavonoid content of the ethanol extract of *Filicium decipiens* leaves were 234.79 mg/GAE/g and 4.5905 mg/QE/g, respectively. Antibacterial activity test results at various concentrations of extracts against bacteria *Propionibacterium acnes* and *Staphylococcus epidermis* each of the largest inhibition zones was obtained at a concentration of 100 % (17.72 mm *Propionibacterium acnes* - 18,18 mm *Staphylococcus epidermis*). The resulting inhibition zone is classified as strong .

**Keywords:** *Filicium decipiens*, phenolic, flavonoids, antibacterial

## Pendahuluan

Hingga saat ini angka kesakitan dan kematian meningkat dikarenakan adanya penyakit infeksi terutama di negara-negara berkembang. Penyakit yang menyebabkan infeksi salah satunya adalah bakteri. Beberapa jenis bakteri penyebab infeksi adalah *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermis*. *Propionibacterium acnes* adalah flora normal pada kulit yang berperan pada proses pembentukan jerawat dan merupakan bakteri gram positif yang berbentuk batang dan termasuk dalam spesies bakteri anaerob yang terdapat di kelenjar sebacea kulit manusia. Untuk pengobatan jerawat, antibiotik yang seringkali digunakan adalah eritromisin topikal, klindamisin, dan tetrasiklin oral yang bersifat bakteriostatik. Penggambaran bakteriostatik tersebut bisa mendorong *Propionibacterium acnes* resisten terhadap antibiotik.<sup>1</sup> Sementara salah satu bakteri yang dapat menyebabkan infeksi nosokomial pada bagian sendi dan pembuluh darah adalah *Staphylococcus epidermis*. Bakteri ini merupakan organisme dari kelompok bakteri gram positif yang dapat menginfeksi kulit dan mengakibatkan jerawat.<sup>2</sup>

Pada umumnya cara yang dapat dilakukan untuk mengatasi penyakit infeksi adalah dengan pemberian antibiotik. Pemberian antibiotik dapat menimbulkan resistensi apabila pemberiannya diberikan dalam jangka waktu yang lama. Sebagai alternatif pengobatan untuk mengatasi resistensi antibiotik dapat memanfaatkan tanaman yang berkhasiat sebagai obat dan teruji efektivitasnya sebagai antibakteri agar lebih aman.<sup>3</sup> Indonesia merupakan salah satu negara yang mempunyai kekayaan bahan alam yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan obat tradisional. Salah satu jenis tumbuhan yang berpotensi adalah tanaman Kerai Payung (*Filicium decipiens*) karena memiliki kandungan zat aktif yaitu metabolit sekunder. Metabolit sekunder adalah suatu senyawa yang tidak berhubungan langsung dalam perkembangan atau pertumbuhannya. Beberapa jenis metabolit sekunder adalah alkaloid, tanin, steroid, flavonoid, terpenoid dan saponin yang merupakan senyawa yang dapat menjadi antioksidan serta berpotensi sebagai obat.<sup>4</sup>

Beberapa peneliti terdahulu yang melakukan penelitian tentang pemanfaatan daun *Filicium decipiens* yaitu Wildani *et al.*<sup>2</sup> dan Abdiansyah *et al.*<sup>5</sup> diperoleh informasi bahwa ekstrak metanol daun *Filicium decipiens* mengandung metabolit sekunder berupa fenol, flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, dan steroid. Wildani *et al.*<sup>2</sup> juga memanfaatkan fraksi n-heksan ekstrak methanol daun *Filicium decipiens* sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus epidermis*. Sementara Abdiansyah *et al.*<sup>5</sup> memanfaatkan aktivitas antibakteri fraksi etil asetat ekstrak metanol daun *Filicium decipiens* terhadap *Staphylococcus epidermis*. Kedua studi tersebut melaporkan bahwa fraksi n-heksan dapat menghambat bakteri *Staphylococcus epidermis* dengan kategori zona hambat kuat dan fraksi etil asetat dengan kategori yang sama.<sup>2,5</sup> Penelitian Siti Mahyuni *et al.*<sup>3</sup> mendapati adanya kandungan saponin yang cukup tinggi di dalam *Filicium decipiens* dengan kadar 12,5%. Senyawa golongan saponin diperkirakan mempunyai aktivitas antibakteri pada tanaman *filicium decipiens*. Tanaman ini juga dikenal sebagai tanaman tidak beracun meskipun kandungan saponinnya tinggi. Oleh karena itu, diharapkan aman dalam menggunakan produk olahan *Filicium decipiens*.<sup>5</sup>

Pada penelitian Wildani *et al.*<sup>2</sup> dan penelitian Abdiansyah *et al.*<sup>5</sup> belum dilakukan uji kandungan senyawa fenolik dan flavonoid pada sampel ekstrak daun *Filicium decipiens*. Kedua penelitian tersebut hanya sebatas melakukan skrining fitokimia, uji KLT untuk mengetahui ada atau tidaknya kandungan flavonoid dan fenolik pada sampel tersebut. Sementara pada penelitian ini, peneliti melakukan modifikasi dan penambahan parameter berupa penentuan kadar total fenolik, total flavonoid dan uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kerai payung (*Filicium decipiens*) terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermis*.

## Metode

### Desain Studi

Jenis penelitian yang dilakukan pada penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorium. Penelitian dilakukan di laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran, Kedokteran Gigi, dan Ilmu Kesehatan Universitas Prima Indonesia dan Laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara. Populasi dalam penelitian ini adalah tanaman *Filicium decipiens* yang didapatkan di sekitar kampus Universitas Sumatera Utara.

## Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain blender, incubator, labu ukur, pipet ukur, maserator, cawan petri, tabung erlenmeyer, gelas ukur, pinset, ose, neraca analitik, waterbath (labnet), kertas saring, spektrofotometer UV-Visibel (shimadzu), rotary evaporator, pengaduk, autoclave, dan api bunsen, beaker glass (pyrex), cawan penguap, labu tentukur, pipet volume (pyrex), tabung reaksi, vial. Bahan yang dipakai pada penelitian ini yaitu daun *Filicium decipiens*, etanol 96%, DMSO (*Dimethyl sulfoxid*), ciprofloxacin, NaCl, NA (*nutrient agar*), Muller Hinton Agar (MHA), Aluminium foil, aquadest, aluminium klorida, bakteri *Propionibacterium acnes*, bakteri *Staphylococcus epidermis*, natrium asetat, iodium, methanol, kuersetin (sigma).

## Prosedur

### Preparasi sampel

Sampel yang digunakan adalah daun *Filicium decipiens* yang diambil dari sekitar Universitas Sumatera Utara. Daun dibersihkan terlebih dahulu melalui air mengalir untuk hilangkan kotoran seperti debu dan lainnya, selanjutnya ditiriskan serta ditimbang berat basahanya dan dilanjutkan dengan proses pengeringan pada suhu ruangan selama kurang lebih seminggu. Daun diklaim kering ketika sudah mulai rapuh. Setelah itu, dilanjutkan reduksi ukuran sampel dengan cara diblender sampai berbentuk serbuk halus. Serbuk dari daun *Filicium decipiens* tersebut dikemas pada wadah plastik yang ditutup rapat dan terhindar dari sinar matahari.

### Ekstraksi

Sebanyak 500 gram serbuk ekstrak daun *Filicium decipiens* yang telah dihaluskan, lalu diekstraksikan dalam cara maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96% selama  $3 \times 24$  jam. Selanjutnya dilakukan penyaringan. Metode yang sama digunakan untuk mengulang proses maserasi dengan prosedur yang sama. Selanjutnya untuk mendapatkan hasil ekstrak yang lebih pekat digunakan alat rotary vacum evaporator dengan suhu 65-70°C. Ekstrak pekat tersebut dilanjutkan dengan proses waterbath untuk memperoleh ekstrak kental seperti pasta.<sup>6</sup>

### Skrining fitokimia

Skrining fitokimia adalah metode yang digunakan untuk mengidentifikasi senyawa bioaktif yang terkandung di dalam sampel bahan alam.<sup>7</sup> Uji fitokimia yang dilakukan berupa uji fenolik, flavonoid, alkaloid, terpenoid/steroid, tanin, saponin. Keberadaan flavonoid diidentifikasi dengan mencampurkan sedikit ekstrak kental yang sudah dilarutkan dan ditambahkan dengan beberapa tetes larutan  $Pb(CH_3COO)_2$ . Keberadaan flavonoid dikonfirmasi dengan terbentuknya endapan berwarna kuning. Sementara itu, beberapa tetes larutan  $FeCl_3$  ditambahkan ke dalam larutan ekstrak pekat untuk mengidentifikasi adanya senyawa golongan fenolik. Keberadaan fenolik ditandai dengan larutan sampel berubah warna menjadi hitam. Untuk alkaloid dapat diidentifikasi dengan penambahan 1 gram ekstrak dalam aquadest dan dicampurkan dengan 5 mL 1% HCl. Setelah itu dipanaskan beberapa menit, lalu disaring. Filtrat ditambahkan dengan Reagen Mayer, jika terdapat endapan berwarna kuning pucat atau krem maka terkonfirmasi adanya senyawa alkaloid pada sampel. Identifikasi saponin dengan cara 0,5 mg ekstrak dicampurkan dengan 2 mL aquadest dan dikocok selama beberapa menit. Jika terdapat busa dengan tinggi lebih dari 2 cm dan bertahan selama beberapa menit maka terkonfirmasi adanya saponin.<sup>8</sup>

## Pengujian

### Uji aktivitas antibakteri

Uji ini dilakukan dengan metode *disc diffusion* (Kirby Bauer) yang menggunakan biakan bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermis*. Satu ose suspensi bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermis* serta larutan NaCl 0,9%. Masing-masing suspensi bakteri tersebut diencerkan dalam larutan NaCl 0,9% di dalam tabung reaksi yang berbeda. Selanjutnya dihomogenisasi menggunakan vortex hingga berubah warna menjadi sedikit keruh dan disesuaikan dengan konsentrasi 0,5 Mc Farland serta diuji kepekaannya. Kemudian cotton swab digunakan untuk meratakan permukaan media MHA. Kemudian selama 15 menit kertas cakram berdiameter 6 mm direndam kedalam cairan ekstrak sampel dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, 100%. Setelah itu, kertas cakram dikeluarkan dengan pinset yang telah

steril dan pada permukaan media ditempelkan kertas cakram dalam laminar air flow. Selanjutnya cawan petri harus diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.<sup>9</sup>

#### Penentuan Kadar Total Fenolik

Metode yang digunakan dalam penentuan kadar total fenolik dilakukan dengan metode *Folin-Ciocalteu* yang telah termodifikasi. Dalam 10 mL etanol, 10 mg ekstrak kental daun *Filicium decipiens* dilarutkan. Kemudian 0,75 mL reagen *Follin-Ciocalteu* dan 5 mL aquadest ditambahkan ke dalam larutan. Setelah itu, dibiarkan selama 5 menit lalu ditambahkan  $Na_2CO_3$  7% dengan komposisi yang sama seperti pelarut sebelumnya. Untuk menghomogenkan larutan digunakan vorteks sebelum dilakukan inkubasi selama 15 menit pada suhu 45°C dan jauhkan dari jangkauan sinar matahari. Spektrofotometri UV-Vis digunakan untuk menghitung kandungan kadar total fenolik.<sup>10</sup>

#### Penentuan Kadar Total Flavonoid

Untuk mendapatkan konsentrasi 2000 ppm bahan ditimbang sebanyak 20 mg sampel dan dilarutkan dalam 10 mL etanol. Setelah itu, tambahkan dengan beberapa larutan 0,1 ml  $AlCl_3$  10%, 0,1 ml asetat, dan 2,8 ml aquadest. Kemudian campuran larutan tersebut divortex hingga homogen, dan didiamkan selama 60 menit. Setelah itu spektrofotometri UV-Vis digunakan untuk menghitung absorbansi setiap konsentrasi larutan pada panjang gelombang maksimum 439 nm.<sup>11</sup>

#### Uji statistik

Analisis data menggunakan SPSS dengan derajat kepercayaan 95% ( $\alpha = 0,05$ ). Untuk mengetahui distribusi data normal atau tidak dilakukan uji normalitas Shapiro-Wilk dan untuk menguji homogenitas data dilakukan uji Levene's test. Jika data telah terdistribusi normal dan homogen maka dilakukan analisis parametrik One-Way ANOVA untuk mengetahui rata-rata dua atau lebih kelompok data berbeda secara nyata atau tidak.

### Hasil dan Pembahasan

#### Ekstraksi daun *Filicium decipiens*

Sebanyak 1600 gram serbuk daun *Filicium decipiens* diekstraksi secara maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96% sehingga diperoleh berat dari ekstrak kental sebesar 500 gram. Diperoleh persentase rendemen sebesar 31,25%. Untuk mencapai keseimbangan larutan di dalam dan di luar sel, pelarut yang digunakan dalam maserasi harus masuk ke dalam sel tumbuhan melalui dinding sel. Ketika pelarut masuk, pelarut akan melarutkan isi sel melalui proses yang disebut difusi karena perbedaan konsentrasi larutan di dalam sel dan di luar sel. Saat melakukan ekstraksi metode yang paling sederhana dan paling umum digunakan adalah metode maserasi. Metode ini bekerja dengan membuat sampel menjadi bentuk serbuk

terlebih dahulu agar permukaan bidang antara pelarut etanol dengan serbuk menjadi luas dan pada saat disaring lebih efektif. Konsentrasi luar sel dapat lebih tinggi dibanding dengan konsentrasi dalam sel pada saat melakukan maserasi, akibatnya isi sel dan zat aktifnya keluar dan ikut terlarut dalam pelarut.<sup>12</sup>

#### Uji fitokimia

Pada fenolik terdapat endapan berwarna hitam yang menunjukkan hasil positif. Hasil uji flavonoid pereaksi sinoda (Mg + HCl) menunjukkan hasil negatif dengan tidak terbentuknya endapan berwa

Tabel 1. Uji Fitokimia

Senyawa	Pereaksi	Indikator	Hasil
Fenolik	$FeCl_3$	Terdapat endapan berwarna hitam	+
Flavonoid	$Pb(CH_3COO)_2$	Terdapat perubahan warna kuning pucat	+
	Alkaline(NaOH)	Terdapat perubahan menjadi kuning	+
	Sinoda Test (Mg+HCl)	Terdapat endapan berwarna coklat	-
Alkaloid	Mayer	Terdapat perubahan warna menjadi hijau kekuningan	-
	Dragendorf	Terdapat endapan berwarna jingga/orange	+
Terpenoid/Steroid	Lieberman-Burchard	Terbentuk cincin coklat	-
	Salkowski	Terbentuk perubahan warna menjadi kuning keemasan	+
Tanin	$FeCl_3$	Terdapat endapan warna hijau kehitaman	+
Saponin	Uji Busa	Terjadi pembentukan busa yang bertahan sampai beberapa menit	+

rna merah melainkan berwarna coklat, sedangkan untuk uji flavonoid dengan pereaksi  $Pb(CH_3COO)_2$ , menunjukkan hasil positif dan pereaksi alkaline juga menunjukkan hasil yang sama. Pengujian selanjutnya untuk alkaloid menggunakan dua pereaksi yaitu, pereaksi mayer yang menunjukkan hasil negatif dengan tidak terbentuknya endapan kuning pucat, tetapi terdapat endapan warna hijau kekuningan dan untuk pereaksi dragendorff terbentuk endapan berwarna jingga/orange yang menunjukkan hasil positif. Selanjutnya uji fitokimia tanin dengan pereaksi  $FeCl_3$  yang menunjukkan hasil positif dengan terdapat endapan warna hijau kehitaman. Ekstrak yang mengandung tanin memberikan aksi terhadap pereaksi  $FeCl_3$  menjadi senyawa kompleks. Pada uji saponin diberikan pereaksi uji busa, dengan terjadinya pembentukan busa yang menandakan saponin positif. Terdapatnya busa merupakan glikosida yang terurai membentuk senyawa lain menjadi busa.<sup>13</sup>

Pada tabel 1 diketahui bahwa dari hasil uji menunjukkan adanya kandungan positif dan negatif. Ekstrak etanol daun *Filicium decipiens* diklaim positif mengandung metabolit sekunder yaitu fenolik, flavonoid, alkaloid, tanin, saponin dan steroid/terpenoid. Hasil uji ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Mahyuni<sup>14</sup> yang mengatakan bahwa kandungan kadar saponin daun *Filicium decipiens* mencapai 12,5%. Kadar ini tergolong tinggi apabila dibandingkan dengan kadar saponin pada sejumlah tanaman lain seperti daun lidah mertua 7,3%, terdapat pada lidah buaya 4,9% dan 5% kadar saponin pada daun mimba.<sup>9</sup>

Metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman seperti fenolik, tanin, flavonoid, steroid/terpenoid, saponin dan alkaloid memiliki berbagai efek pada bidang ilmu obat dan pengobatan contohnya dapat dijadikan sebagai antioksidan dan antibakteri. Pada umumnya, senyawa metabolit sekunder yang sering dijumpai pada tumbuhan adalah fenolik. Senyawa ini mempunyai struktur gugus hidroksil yang membentuk rangkaian dengan cincin fenil, mulai dari yang sederhana hingga berkoloni.<sup>15</sup> Flavonoid sebagai metabolit sekunder tergolong banyak terdapat dalam tanaman. Penelitian lain menyatakan bahwa flavonoid memiliki efek antibakteri, antioksidan, antivirus dan antikanker.<sup>16</sup>

### Pengukuran zona hambat

Pada penelitian ini dilakukan uji aktivitas antibakteri dengan pengulangan sebanyak 4 kali. Konsentrasi 25%, 50%, 75%, 100% dan kontrol (+) serta kontrol (-) yang dipakai sebagai larutan uji dihitung dengan menggunakan jangka sorong yang dinyatakan dalam satuan milimeter (mm). Larutan uji konsentrasi positif (+) dan konsentrasi negatif (-), diujikan dengan menggunakan ciprofloxacin untuk kontrol (+) dan DMSO 10% untuk kontrol (-). Hasil pengamatan diameter zona hambat yang dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil pengamatan diameter zona hambat ekstrak etanol *Filicium decipiens* terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermis*

Konsentrasi ekstrak	Diameter zona hambat									
	P1		P2		P3		P4		Rata-rata	
	PA	SE	PA	SE	PA	SE	PA	SE	PA	SE
25%	16,4	11,9	14,5	14,6	15,5	14,6	15	15,8	15,35	14,22
50%	17,3	16,4	16,5	17,3	16,2	17,6	16,4	18,8	16,6	17,52
75%	19,3	18,35	15,5	17,8	17,5	18,15	17,5	17,65	17,45	17,98
100%	18,05	17,15	17,3	17,8	17,7	19	17,9	18,8	17,72	18,18
K+	25	25,35	24,5	23,45	24,6	23,45	24,6	24	24,67	24,06
K-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Konsentrasi hambat tertinggi ekstrak etanol *Filicium decipiens* terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermis* adalah sama yaitu 100%. Rata-rata zona hambat bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermis* masing-masing sebesar 17,72 mm dan 18,18 mm. Kedua bakteri mengalami penurunan zona hambat pada konsentrasi ekstrak 25% untuk *Propionibacterium acnes* 15,35 mm dan *Staphylococcus epidermis* 14,22 mm. Terlihat zona hambat yang tertinggi ke terendah dari kedua bakteri sama yakni dari konsentrasi ekstrak 100%, 75%, 50% dan 25%. Untuk setiap konsentrasi ekstrak pada bakteri rata-rata yang dihasilkan tidak berbeda signifikan berdasarkan analisis spss uji one way. Zona hambat bakteri *Propionibacterium acnes* konsentrasi 25% sebesar 15,35 mm dan *Staphylococcus epidermis* sebesar 14,22 mm. Pada ekstrak daun *Filicium decipiens* konsentrasi ekstrak 25% mengalami penurunan pada jumlah rata-rata diakibatkan oleh adanya proses yang sama antar senyawa lain yang beroperasi selaku antibakteri. Hal itu yang mengakibatkan menurunnya aktivitas pada anti bakteri.<sup>2</sup> Berdasarkan hasil uji aktivitas antibakteri variasi konsentrasi ekstrak daun *Filicium decipiens* yaitu 25%,

50%, 75% dan 100% terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermis* tergolong kuat karena berada pada rentang 10 – 20 mm.<sup>3</sup>

Mekanisme flavonoid bekerja sebagai antibakteri dengan cara berikatan dengan protein menghasilkan senyawa kompleks ekstraseluler yang terurai hingga mengganggu membran sel bakteri, diikuti dengan pelepasan bahan kimia intraseluler. Fenol berfungsi untuk mendenaturasi protein yang dimana cara kerja tersebut membuat matinya sel pada bakteri. Tanin mempunyai sifat antibakteri karena kemampuannya untuk mengganggu protein transpor di lapisan dalam sel, menginaktifkan enzim dan menginaktifkan adhesi sel mikroba. Alkaloid bekerja sebagai antibakteri dengan cara menghambat sintesis dinding sel yang selanjutnya menyebabkan lisis pada sel dan menyebabkan kematian pada sel. Saponin bekerja sebagai antibakteri dengan mengurangi tegangan permukaan yang meningkatkan permeabilitas atau kebocoran sel dan memicu bahan kimia intraseluler keluar dari sel. Membran lipid dan kepekaan terhadap komponen steroid yang menghasilkan kebocoran liposom terkait dengan antibakteri senyawa pada steroid, yang menjadikan sel dan lisis rapuh sebagai akibat dari penurunan integritas membran dan perubahan bentuk membran sel.<sup>17</sup>

### Uji normalitas dan uji Levene

Dari uji normalitas dengan menggunakan *Shapiro Wilk* diketahui bahwa nilai *p* daun *Filicium decipiens* terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* untuk konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% lebih besar dari 0,05 (berdistribusi normal) (lihat Tabel 3). Hasil uji Levene menunjukkan nilai *p* pada bakteri *Propionibacterium acnes* sebesar 0,247 dan untuk bakteri *Staphylococcus epidermis* sebesar 0,332. Hasil tersebut menunjukkan bahwa datanya homogen ( $p > 0,05$ ) (lihat Tabel 4).

Tabel 3. Uji normalitas

Konsentrasi Ekstrak	<i>P. acnes</i>		<i>S. epidermis</i>	
	Jumlah pengulangan	<i>p</i>	Jumlah pengulangan	<i>p</i>
25%	4	0,898	4	0,337
50%	4	0,235	4	0,900
75%	4	0,675	4	0,702
100%	4	0,717	4	0,503

Tabel 4. Uji Levene

Daya hambat Rata-rata daya hambat	<i>P. acnes</i>		<i>S. epidermis</i>	
	Levene Statistic	<i>p</i>	Levene Statistic	<i>p</i>
	1,517	0,247	1,251	0,332

Dari pengujian konsentrasi ekstrak etanol daun *Filicium decipiens* dengan menggunakan uji One Way diperoleh nilai  $p < 0,05$  yang artinya terdapat perbedaan daya hambat yang signifikan terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermis* pada ekstrak kelompok kontrol dan kelompok perlakuan (lihat Tabel 6).

Tabel 5. Uji One Way

Konsentrasi Ekstrak	Jumlah Pengulangan		Rata-rata (mm)		Standar Deviasi		<i>p</i>
	PA	SE	PA	SE	PA	SE	
25%	4	4	15,35	14,22	0,81035	1,65000	< 0,001
50%	4	4	16,6	17,52	0,48305	0,99121	
75%	4	4	17,45	17,98	1,55242	0,31983	
100%	4	4	17,72	18,18	0,32500	0,86831	
K+	4	4	24,67	24,06	0,22174	0,89664	
K-	4	4	0	0	0,0000	0,0000	

### Penentuan kadar total fenolik

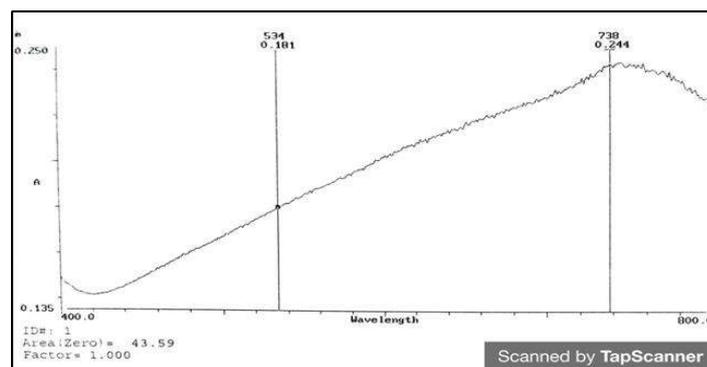
Penentuan kadar total fenolik dilakukan dengan metode *Folin-Ciocalteu*. Secara umum kandungan dari senyawa fenolik pada ekstrak dapat diukur absorbansinya dengan pereaksi *Folin-Ciocalteu* karena kandungan folinnya mampu bereaksi dengan senyawa fenolik untuk membentuk larutan warna. Reagen *Folin-Ciocalteu* yang dipakai merupakan asam fosfomolibdat dan asam heteropolifosfat yang menghasilkan larutan kompleks ion polimerik. Prinsip prosedur *Folin Ciocalteu* pada pengujian sampel yaitu adanya reaksi antara reduksi dan oksidasi kolorimetri untuk membandingkan senyawa fenolik. Agar terjadinya disosiasi proton pada senyawa fenolik dalam membentuk ion fenolat maka senyawa fenolik dan reagen Folin harus bereaksi pada suasana basa, suasana basa tersebut dibuat menggunakan Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 20%. Pada metode ini asam fenolat dan asam heteropoli dioksidasi oleh reagen *Folin-Ciocalteu* untuk menghasilkan kompleks molibdenum tungsten berwarna biru yang dapat diidentifikasi dengan spektrofotometri.<sup>18</sup>

Untuk mengukur konsentrasi masing-masing larutan terhadap reagen Folin, digunakan larutan asam galat dan spektrofotometri UV-Vis pada maksimum panjang gelombang 730 nm. Larutan asam galat standar dimanfaatkan untuk menentukan kadar fenolik, karena asam galat yang stabil. Larutan ini juga merupakan golongan senyawa asam fenolik yang memiliki integritas cukup tinggi pada reagen Folin-Ciocalteu. Dalam menentukan kadar fenolik, dilakukan juga penentuan terhadap panjang gelombang yang bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya selisih absorbansi pada setiap konsentrasi yang diberikan. Berdasarkan selisih dari analisa tersebut, didapatkan hasil nilai absorbansi pengukuran panjang gelombang maksimum yang diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada rentang panjang gelombang 400 sampai 800 nm.<sup>16</sup>

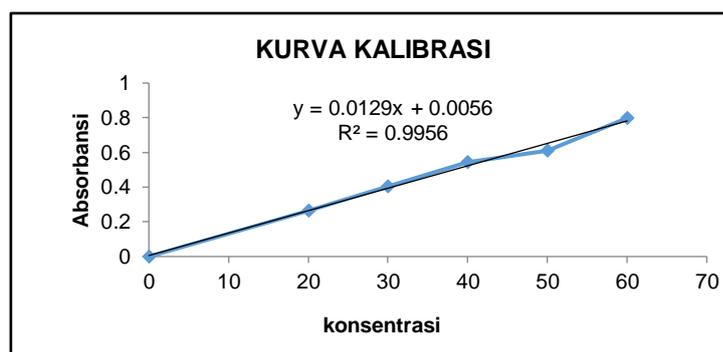
#### Penentuan panjang gelombang larutan standar dan kurva kalibrasi asam galat

Pada gambar 1 dapat dilihat panjang gelombang serapan yang dicapai yaitu 534 - 730. Larutan asam galat pada berbagai variasi konsentrasi 10 sampai 60 ppm digunakan untuk menentukan kandungan kadar total fenolik. Hasil untuk kurva kalibrasi asam galat penentuan kadar total fenolik dapat dilihat pada gambar 2. Perhitungan didasarkan pada absorbansi larutan asam galat yang stabil pada menit ke 33–37 serta pada panjang gelombang 730 nm dan didapatkan kurva kalibrasi asam galat dengan persamaan linear  $y=0.0129x + 0.0056$  dengan  $R^2=0.9956$ .

Koefisien korelasi merupakan bilangan yang dapat menentukan kuat, sedang, atau lemahnya indeks korelasi variabel yang diperoleh. Dengan nilai koefisien korelasi sebesar 0,9956 (mendekati angka 1) menandakan bahwa koefisien korelasi tersebut sangat kuat dan membentuk kurva linier. Hal ini sesuai dengan penelitian Annisa dan Lia yang memperoleh nilai koefisien 0,9931.<sup>19</sup>



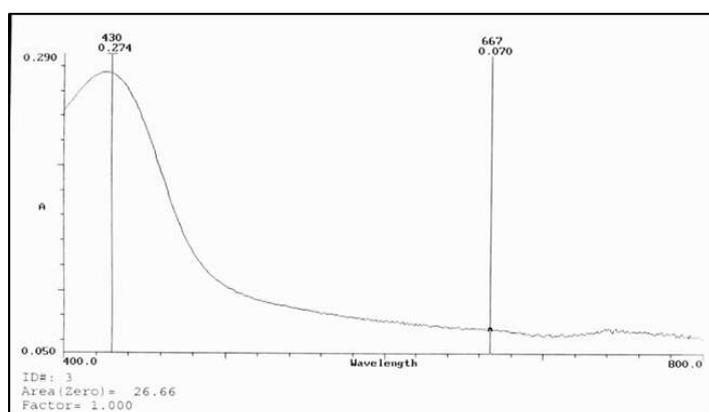
Gambar 1. Panjang gelombang larutan standar asam galat



Gambar 2. Kurva kalibrasi asam galat

#### Penentuan kadar total flavonoid

Penentuan kadar total flavonoid menggunakan senyawa kuersetin sebagai larutan uji pada sampel. Dalam mengukur kadar total flavonoid, kuersetin dimanfaatkan sebagai larutan standar karena memiliki antioksidan yang cukup kuat. Pengukuran kadar flavonoid ini, menggunakan satuan mg/QE/g ekstrak. Pe-



Gambar 3. Panjang gelombang larutan standar kuersetin

etapan kadar dilakukan dengan menambahkan  $AlCl_3$  yang dapat bereaksi dengan senyawa flavonoid, di mana reaksi tersebut menghasilkan cairan warna merah yang diperkirakan sebagai absorbansinya. Prinsip dari penetapan kadar total flavonoid adalah menggunakan spektrofotometri dengan metode  $AlCl_3$ . Digunakannya metode ini karena dapat membentuk susunan antara aluminium klorida dan gugus keton pada atom C- 4 dan gugus hidroksi pada atom C-3 yang berasal dari golongan senyawa flavon dan

flavonolol.<sup>16</sup>

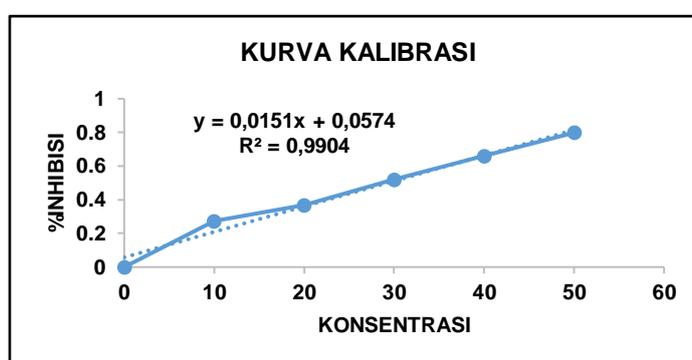
### Penentuan panjang gelombang larutan standar kuersetin

Absorbansi digunakan untuk menghitung rentang panjang gelombang maksimum dengan spektrofotometri. Pada gambar 3 dapat dilihat puncak panjang gelombang kuersetin sebesar 430 nm pada waktu serapan 20 sampai 22 menit. Tujuan penentuan panjang gelombang adalah untuk dapat mengidentifikasi daerah serapan yang menghasilkan puncak serapan senyawa kuersetin dalam larutan yang absorbansinya dihitung menggunakan spektrofotometer UV-Vis antara 400-800 nm.<sup>20</sup> Panjang gelombang diukur dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada rentang 400 nm sampai 800 nm dengan konsentrasi 10 sampai dengan 60. Hasil pengkajian operating time yang dilakukan, memperoleh nilai yang setara pada menit ke 20 - 22 dengan nilai absorbansi 0,200. Nilai absorbansi tersebut adalah nilai absorbansi yang tertinggi dan stabil. Absorbansi larutan kuersetin tersebut ditambahkan dengan pereaksi aluminiumklorida 10% dan natrium asetat 10%.

### Penentuan kurva kalibrasi kuersetin

Kurva kalibrasi kuersetin ini dibuat dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis yang berhubungan pada absorbansi dan konsentrasi. Berdasarkan hasil pembuatan tersebut, didapatkan persamaan linear  $y = 0,0151x + 0,0574$  dengan  $R^2 = 0,9904$ .

Pada penelitian ini didapatkan hasil pada kurva kalibrasi dari persamaan garis regresi linear  $y = 0,0151x + 0,0574$  dan  $R^2 = 0,9904$ , di mana nilai tersebut mendekati 1. Jika R mendekati 1 maka konsentrasi dan absorbansi terkait linier dan jika konsentrasinya semakin tinggi maka absorbansinya bernilai tinggi.<sup>21</sup>



Gambar 4. Kurva Kalibrasi Kuersetin

### Hasil kadar total fenolik

Pada penelitian ini diperoleh kadar total fenolik dari ekstrak daun *Filicium decipiens* sebesar 234,79 mg/GAE/g. Total kadar fenolik ini tergolong lebih besar dibandingkan dengan ekstrak pada tumbuhan daun tempuyung dan daun gedi hijau yang masing-masing kadar fenoliknya sebesar 45,04 GAE/g pada daun tempuyung<sup>22</sup> dan 230,23 GAE/g pada daun gedi<sup>23</sup>. Pada perbandingan ekstrak daun *Filicium decipiens* dengan ekstrak dan fraksi *Abelmoschus manihot* L diperoleh hasil total fenolik *Filicium decipiens* lebih kecil dibandingkan pada *Abelmoschus manihot* L dengan total fenolik sebanyak 230,23 GAE/g.<sup>22,24</sup>

Jenis pelarut berdampak pada konsentrasi kadar fenol secara keseluruhan. Fenol adalah salah satu senyawa organik polar yang kelarutannya paling besar dalam pelarut polar karena sifat polarinya. Fenol dapat lebih efektif dilarutkan oleh pelarut yang sifatnya polar dikarenakan menghasilkan jumlah kadar fenol yang lebih tinggi dalam ekstrak.<sup>25</sup>

### Hasil kadar total flavonoid

Dari uji yang dilakukan didapatkan kadar total flavonoid ekstrak etanol daun *Filicium decipiens* sebesar 4,5905 mg/QE/g. Jumlah kadar flavonoid pada ekstrak daun *Filicium decipiens* lebih besar jika dibandingkan dengan ekstrak tumbuhan matoa yang kadar flavonoidnya sebesar 3,092. Kadar total flavonoid *Filicium decipiens* lebih kecil dibandingkan dengan ekstrak daun dari tumbuhan insulin yang kadar flavonoidnya sebesar 66,1857. Terdapatnya kandungan total flavonoid yang lebih tinggi akan memiliki efek antibakteri yang lebih besar, hal ini menunjukkan pentingnya kandungan flavonoid dalam aksi antibakteri.<sup>26</sup>

## Kesimpulan

Penelitian ini menyimpulkan bahwa terdapat berbagai jenis metabolit sekunder seperti, senyawa fenolik, flavonoid, alkaloid, saponin, dan terpenoid. Kadar total fenolik dan flavonoid masing-masing ekstrak etanol daun *Filicium decipiens* didapatkan sebesar 234,79 mg/GAE/g dan 4,5905 mg/QE/g. Hasil uji aktivitas antibakteri pada berbagai variasi konsentrasi ekstrak memperoleh zona hambat terbesar pada konsentrasi ekstrak 100%, yaitu 17,72 mm untuk *Propionibacterium acnes* dan 18,18 mm untuk *Staphylococcus epidermis*. Zona hambat yang dihasilkan tersebut tergolong kuat.

## Referensi

1. Agustina M, Soegianto L, Sinansari R. Uji Aktivitas Antibakteri Hasil Fermentasi Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) terhadap *Propionibacterium acnes*. *J Pharm Sci Pract*. 2021;8(1):1–7.
2. Wildani W, Karo RM br, Tanjung WF, Abdiansyah A. Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antibakteri Fraksi N-Heksan Ekstrak Metanol Daun Kerai Payung (*Filicium decipiens*) terhadap *Staphylococcus epidermidis*. *Pharm J Islam Pharm*. 2022;6(1):01.
3. Mahyuni S, Sofihidayati T. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol, Ekstrak Fraksi N-Heksan dan Ekstrak N-Heksan Daun *Filicium decipiens* terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan Bakteri *Bacillus subtilis*. *J Med Heal*. 2020;2(5):11–21.
4. Yati SJ, Sumpono S, Candra IN. Potensi Aktivitas Antioksidan Metabolit Sekunder Dari Bakteri Endofit Pada Daun Moringa oleifera L. *Alotrop*. 2018;2(1):82–7.
5. Abdiansyah A, Karo RMB, Wildani W, Tanjung WF. Antibacterial Activity of Ethyl Acetate Fraction of Methanol Extract Leaves of Orange Leaves (*Filicium Decipiens*) Against *Staphylococcus epidermis*. *Stannum J Sains dan Terap Kim*. 2022;4(1):34–9.
6. Forestryana D, Arnida A. Skrining Fitokimia Dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Etanol Daun Jeruju (*Hydrolea spinosa* L.). *J Ilm Farm Bahari*. 2020;11(2):113.
7. Altemimi A, Lakhssassi N, Baharlouei A, Watson D, Lightfoot D. Phytochemicals: Extraction, Isolation, and Identification of Bioactive Compounds from Plant Extracts. *Plants*. 2017 Sep 22;6(4):42.
8. Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M. KG and KH. Phytochemical Screening And Extraction: A Review, *International Pharmaceutica Scientia*. *Phytochem Screen Extr A Rev Int Pharm Sci*. 2014;1(1):98–16.
9. Prayoga E. Perbandingan Efek Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) dengan Metode Difusi Disk dan Sumuran Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *UIN Syarif Hidayatullah*; 2013.
10. Berliansyah SZ, Dewi AR, Purnomo Y. Penentuan kadar Fenol Total dan Aktivitas Antioksidan Fraksi n-Butanol Daun Pulutan (*Urena lobata*). *J Bio Komplementer Med*. 2021;8(2):1–8.
11. Aviany HB, Pujianto S. Analisis Efektivitas Probiotik di Dalam Produk Kecantikan sebagai Antibakteri terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *J Berk Bioteknologi*. 2020;3(2):24–31.
12. Saraswati FN. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 96% Limbah Kulit Pisang Kepok Kuning (*Musa Balbisiana*) Terhadap Jerawat Penyebab Jerawat (*Staphylococcus Aureus*, *Staphylococcus Aureus* Dan *Propioniu Acnes*). *UIN Syarif Hidayatullah*; 2019.
13. Hasibuan AS, Edrianto V. Sosialisasi skrining fitokimia ekstrak etanol umbi bawang merah (*Allium cepa* L.). *J Pengmas Kestra*. 2021;1(1):80–4.
14. Mahyuni S. Kadar saponin dan aktivitas antibakteri ekstrak daun *Filicium decipiens* (Wight & Arn.) Thwaites terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Candida albicans*. *Fitofarmaka J Ilm Farm*. 2018;8(2):79–86.
15. Cahya BK, Fauziyah S, Purnomo Y. Penentuan kadar total fenolik dan aktivitas antioksidan fraksi air daun pulutan (*Urena lobata* L.). *J Kedokt Komunitas*. 2021;10(1):1–7.
16. Nofita D, Sari SN, Mardiah H. Penentuan Fenolik Total dan Flavonoid Ekstrak Etanol Kulit Batang. *Chim Nat Acta*. 2020;8(1):36–41.
17. Putri CN, Rahardhian MRR, Ramonah D. Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Kadar Total Fenol dan Total Flavonoid Ekstrak Etanol Daun Insulin (*Smallanthus sonchifolius*) serta Aktivitas Antibakteri Terhadap *Staphylococcus aureus*. *J Pharm Sci Clin Res*. 2022;7(1):15.
18. Andriani D, Murtisiwi L. Penetapan kadar fenolik total ekstrak etanol bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) dengan spektrofotometri UV Vis. *Cendekia J Pharm*. 2018;2(1):32–8.
19. Primadiamanti A, Amura L, Ulfa AM. Analisis senyawa fenolik pada ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.). *J Farm Malahayati*. 2020;3(1):23–31.
20. Sukmawati. Optimasi dan Validasi Metode Analisis Dalam Penentuan Kandungan Total Flavonoid Pada Ekstrak Daun Gedi Hijau (*Abelmoschus manihot* L.) yang Diukur Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. *Pharmacon J Ilm Farm*. 2018;7(3):32–41.
21. Sari AK, Alfian R, Musiam S, Prasdianto, Renny. Penetapan Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Ekstrak Metanol Kayu Kuning (*Arcangelisia flava* Merr) dengan Metode Spektrofotometri UV-Visibel. *J Insa Farm Indones*. 2018;1(2):210–7.
22. Hapsari AM, Masfria M, Dalimunthe A. Pengujian Kandungan Total Fenolik Ekstrak Etanol Tempuyung (*Shoncus arvensis* L.). *Talent Conf Ser Trop Med*. 2018;1(1):284–90.
23. Kambey B, Sudewi S, Jayanto I. Analisis korelasi antara kandungan fenol total dengan aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi *Abelmoschus manihot* L. terhadap *Escherichia coli*. *Pharmacon J Ilm Farm [Internet]*. 2019 May 28;8(2):472. Available from: <https://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/pharmacon/article/view/29315>
24. Suoth JAT, Sudewi S, Wewengkang DS. Analisis korelasi antara flavonoid total dengan aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi daun gedi hijau (*Abelmoschus manihot* L.). *Pharmacon J Ilm Farm*. 2019;8(3):591.
25. Dewantara LAR, Ananto AD, Andayani Y. Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Kacang Panjang (*Vigna unguiculata*) dengan

Penentuan kadar total fenolik, total flavonoid, dan uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kerai payung (*Filicium decipiens*) terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermis*

- Metode Spektrofotometri UV-Visible. Lumbung Farm J Ilmu Kefarmasian. 2021;2(1):102.
26. Ramonah D, Rahardhian MRR, Putri CN. Determinasi Total Flavonoid , Total Fenolik , Dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Insulin ( *Smalanthus Sonchifolius* ) Dengan Metode Perkolasi. Media Farm Indones. 2020;15(1):1585–92.