

Skrining Fitokimia dan Evaluasi Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Tenggulun (*Protium javanicum* Burm. fil.) terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Baiq Risma Fatmayanti^{a, 1*}, Windarsi S Zulfa^{a, 2}, Baiq Maylinda Gemantari^{a, 3}

^a Program Studi Farmasi, Fakultas Kesehatan, Universitas Hamzanwadi, Selong, Lombok Timur, Indonesia

¹baiq.risma.f@hamzanwadi.ac.id; ²windarsiszulfa@gmail.com; ³gemantaribm@hamzanwadi.ac.id

*baiq.risma.f@hamzanwadi.ac.id

Kata kunci:

Daun tenggulun, *Protium javanicum*, fraksinasi, antibakteri, IC₅₀, zona hambat

ABSTRAK

Daun tenggulun (*Protium javanicum* Burm.f.) berpotensi menjadi sumber antibakteri alami karena mengandung berbagai metabolit sekunder. Penelitian ini bertujuan untuk skrining senyawa fitokimia dan mengevaluasi aktivitas antibakteri fraksi etil asetat, *tert*-butanol, dan akuades daun tenggulun terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Daun diekstraksi menggunakan metanol, kemudian difraksinasi secara bertingkat dengan etil asetat, *tert*-butanol, dan akuades. Skrining fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi metabolit sekunder, sedangkan aktivitas antibakteri diuji melalui metode mikrodilusi dan difusi cakram. Fraksi etil asetat mengandung alkaloid, flavonoid, tanin, steroid, dan saponin; fraksi *tert*-butanol mengandung alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin; sedangkan fraksi akuades mengandung tanin dan saponin. Fraksi etil asetat menunjukkan aktivitas relatif lebih baik terhadap *E. coli* dan *S. aureus*, dengan IC₅₀ masing-masing 356,35 dan 404,78 µg/mL. Seluruh fraksi termasuk dalam kategori aktivitas sangat lemah (IC₅₀ ≥ 200 µg/mL). Pada difusi cakram, hanya fraksi etil asetat yang menghambat *E. coli*, dengan zona hambat 1,66 mm pada 1000 µg/mL, sedangkan tidak ditemukan penghambatan terhadap *S. aureus*. Hasil ini menunjukkan bahwa fraksi etil asetat memiliki potensi relatif lebih baik dan perlu diteliti lebih lanjut melalui isolasi serta identifikasi senyawa aktif.

Key word:

Tenggulun leaves, *Protium javanicum*, fractionation, antibacterial, IC₅₀, inhibition zone

ABSTRACT

Protium javanicum Burm.f. (tenggulun) leaves have potential as a source of natural antibacterial agents due to their diverse secondary metabolites. This study aimed to screen the phytochemical constituents and evaluate the antibacterial activity of ethyl acetate, *tert*-butanol, and aqueous fractions of *P. javanicum* leaves against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. The leaves were extracted using methanol and subsequently fractionated sequentially with ethyl acetate, *tert*-butanol, and aquadest. Phytochemical screening was performed to identify secondary metabolites, while antibacterial activity was evaluated using microdilution and disk diffusion methods. The ethyl acetate fraction contained alkaloids, flavonoids, tannins, steroids, and saponins; the *tert*-butanol fraction contained alkaloids, flavonoids, tannins, and saponins; whereas the aqueous fraction contained tannins and saponins. The ethyl acetate fraction showed the better relative activity against *E. coli* and *S. aureus*, with IC₅₀ values of 356.35 and 404.78 µg/mL, respectively. All fractions exhibited very weak antibacterial activity (IC₅₀ ≥ 200 µg/mL). In the disk diffusion assay, only the ethyl acetate fraction inhibited *E. coli*, producing a 1.66 mm inhibition zone at 1000 µg/mL, while no inhibition was observed against *S. aureus*. These findings indicate that the ethyl acetate fraction exhibited relatively better antibacterial activity and warrants further investigation through isolation and identification of its active compounds.

Copyright and License

Authors retain copyright and grant the journal right of first publication with the work simultaneously licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License that allows others to share the work with an acknowledgment of the work's authorship and initial publication in this journal.



Pendahuluan

Infeksi bakteri masih menjadi salah satu penyebab utama penyakit menular di dunia dan berkontribusi secara signifikan terhadap peningkatan angka morbiditas dan mortalitas. *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* merupakan dua bakteri patogen yang paling sering ditemukan pada berbagai kasus infeksi pada manusia (Ningrum et al., 2020; Rante et al., 2024). *Staphylococcus aureus* adalah bakteri Gram positif yang secara umum berkolonisasi pada kulit dan saluran pernapasan manusia, dengan tingkat kolonisasi mencapai 20–50% dari populasi. Sifat patogeniknya berkaitan dengan produksi berbagai faktor virulensi seperti enzim koagulase, pigmen karotenoid, toksin, serta aktivitas hemolitik yang memungkinkan bakteri ini menyebabkan infeksi lokal maupun sistemik (Johannessen et al., 2012; Touaitia et al., 2025). Infeksi dapat terjadi ketika terdapat luka pada kulit sehingga bakteri masuk ke aliran darah dan memicu penyakit serius seperti bakteremia, endokarditis, serta infeksi organ vital lainnya (Kwiecinski & Horswill, 2020). Permasalahan infeksi *Staphylococcus aureus* semakin kompleks dengan meningkatnya kasus resistensi antibiotik, khususnya *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Prevalensi MRSA di kawasan Asia dilaporkan mencapai 70%, sedangkan di Indonesia sebesar 33%, sehingga menjadi tantangan serius dalam pengobatan infeksi bakteri (Chen & Huang, 2014; Ume et al., 2025).

Di sisi lain, *Escherichia coli* merupakan bakteri Gram negatif yang secara normal hidup sebagai flora komensal di saluran pencernaan manusia. Meskipun umumnya tidak bersifat patogen, bakteri ini dapat menjadi penyebab infeksi ketika memperoleh gen virulensi melalui mekanisme transfer gen horizontal seperti transformasi, konjugasi, dan transduksi. Kondisi tersebut memungkinkan *Escherichia coli* menyebabkan berbagai penyakit, termasuk diare dan infeksi saluran kemih, bahkan infeksi sistemik apabila masuk ke dalam aliran darah (Tawfick et al., 2022). Infeksi diare akibat *Escherichia coli* dilaporkan telah mencapai 85,2% dari total kasus diare, menunjukkan tingginya peran bakteri ini dalam penyakit infeksi gastrointestinal (Dwitasari et al., 2024).

Tingginya angka infeksi bakteri serta meningkatnya resistensi antibiotik mendorong perlunya pencarian sumber antibakteri alternatif, salah satunya berasal dari bahan alam. Tanaman tenggulun (*Protium javanicum* Burm. fil.) merupakan tumbuhan asli Nusantara dari genus *Protium* yang secara tradisional dimanfaatkan sebagai sayuran maupun bumbu masakan karena memberikan aroma dan cita rasa khas, khususnya pada bagian pucuk dan daun muda (Yusasrini & Darmayanti, 2024). Selain pemanfaatan kuliner, tanaman ini juga digunakan secara empiris sebagai obat tradisional untuk mengatasi sakit perut, batuk, diare, serta memiliki aktivitas antiinflamasi. Kulit batangnya dilaporkan digunakan untuk pengobatan bengkak dan kista. Kandungan metabolit sekunder seperti flavonoid, tanin, dan minyak atsiri pada tanaman ini diketahui memiliki potensi aktivitas antibakteri (Puspawati et al., 2020).

Penelitian sebelumnya telah melaporkan bahwa ekstrak daun tenggulun mengandung metabolit sekunder seperti flavonoid, tanin, steroid, dan fenol yang berkontribusi terhadap aktivitas antibakteri. Ekstrak etil asetat daun tenggulun pada konsentrasi 20% dilaporkan mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan zona hambat sebesar 20,08 mm. Selain itu, ekstrak *n*-heksan dan *n*-butanol pada konsentrasi yang sama juga menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap *Staphylococcus aureus* dengan diameter zona hambat masing-masing sebesar 13,33 mm dan 16,66 mm (Puspawati et al., 2020). Meskipun demikian, sebagian besar penelitian masih berfokus pada pengujian aktivitas antibakteri ekstrak kasar, sehingga informasi mengenai fraksi aktif spesifik dan keterkaitannya dengan kandungan metabolit sekunder masih terbatas.

Berbeda dengan penelitian sebelumnya yang masih berfokus pada ekstrak kasar, penelitian ini menekankan pada fraksinasi ekstrak daun tenggulun berdasarkan perbedaan kepolaran pelarut untuk

memperoleh fraksi aktif yang lebih spesifik. Pendekatan ini diharapkan mampu memberikan informasi yang lebih komprehensif mengenai kontribusi masing-masing fraksi terhadap aktivitas antibakteri serta memperjelas hubungan antara kandungan metabolit sekunder dan aktivitas biologis yang dihasilkan. Fraksinasi berdasarkan perbedaan kepolaran pelarut diketahui dapat menghasilkan fraksi yang lebih murni, sehingga memudahkan identifikasi metabolit sekunder yang bertanggung jawab terhadap aktivitas farmakologis (Irvan & Aji, 2020). Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antibakteri fraksi daun tenggulun (*Protium javanicum* Burm. fil.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, serta mengidentifikasi metabolit sekunder yang berpotensi berperan sebagai senyawa antibakteri. Dengan demikian, penelitian ini menawarkan kebaruan ilmiah melalui skrining fitokimia dan evaluasi aktivitas antibakteri fraksi daun tenggulun yang diperoleh dari proses fraksinasi berdasarkan kepolaran pelarut, serta kaitan antara aktivitas antibakteri dan profil metabolit sekundernya. Pendekatan ini belum banyak dilaporkan sebelumnya dan diharapkan mampu mengisi celah pengetahuan terkait senyawa antibakteri spesifik dari *Protium javanicum* Burm. fil.

Metode

Alat dan Bahan Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain gelas Beaker dan Erlenmeyer berbagai ukuran (Pyrex), blender, pipet tetes, corong gelas, pinset, batang pengaduk (Herma), corong pisah, kertas saring, plat KLT, *chamber* KLT, timbangan analitik (Durascale), silica gel, cawan porselin, cawan petri (Pyrex/Iwaki), *cotton swab* steril, kertas cakram, jarum ose, autoklaf (*vertical type autoclave*), oven (Memmert), inkubator, *waterbath* (Memmert), rotary evaporator (Biobase RE-301), laminar air flow, spiritus, *hot plate*, *96-well plate*, mikropipet dengan berbagai ukuran 100-1000 μ L, *yellow tip*, *blue tip*, dan jangka sorong.

Bahan utama yang digunakan adalah daun tenggulun (*Protium javanicum* Burm. fil.) yang diperoleh dari Kecamatan Sikur, Lombok Timur, dan telah dideterminasi di Laboratorium Terpadu, Universitas Islam Negeri Mataram. Selain itu, bahan lain yang digunakan antara lain aquadest, metanol 90%, etil asetat, *tert*-butanol, bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, Mueller Hinton Agar (MHA), Mueller Hinton Borth (MHB), asam asetat, butanol, kuarsetin, kloroform, nikotin, reagen Liebermann-Burchard, reagen Dragendrof, asam galat, *n*-heksana, FeCl_3 5%, NaCl 0,9%, AlCl_3 10% dan streptomisin sebagai kontrol positif. Semua pelarut dan reagen yang digunakan dalam penelitian ini merupakan bahan dengan grade *pro analysis*.

Prosedur Penelitian

Preparasi Sampel

Sampel daun tenggulun yang cukup tua dalam kondisi baik dan segar dikumpulkan, disortir, dibersihkan dengan air mengalir dan ditiriskan. Sampel dirajang dan dikeringkan dengan oven dengan suhu 50°C. Sampel dikeringkan dan dihaluskan menggunakan blender. Sampel diayak menggunakan ayakan mesh nomor 40 untuk mendapatkan hasil yang seragam dan simplisia halus.

Ekstraksi

Simplisia halus sebanyak 500 g diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut metanol 90% sebanyak 2000 g (1:4 b/b). Ekstraksi dilakukan selama 7 hari. Dilakukan penyaringan sehingga mendapatka filtrat ekstrak. Filtrat kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dan dilanjutkan dengan penguapan pada *water bath* pada suhu 45°C hingga diperoleh ekstrak metanol daun tenggulun yang kental. Rendemen ekstrak dihitung dengan persamaan berikut.

$$\% \text{ Rendemen ekstrak} = \frac{\text{Bobot ekstrak (g)}}{\text{Bobot simplisia (g)}} \times 100\%$$

Fraksinasi

Sebanyak 15 g ekstrak kental dilarutkan dalam 40 mL aquadest, kemudian difraksinasi berturut-turut dengan 80 mL etil asetat dan *tert*-butanol. Campuran dikocok dalam corong pisah hingga terbentuk dua fase, lalu fraksinasi diulang tiga kali. Hasilnya diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C hingga diperoleh fraksi kental yang terdiri dari fraksi etil asetat, fraksi *tert*-butanol, dan fraksi aquadest. Rendemen fraksi dihitung dengan persamaan berikut.

$$\% \text{ Rendemen Fraksi} = \frac{\text{Bobot Fraksi (g)}}{\text{Bobot ekstrak (g)}} \times 100\%$$

Skrining Fitokimia

Uji Alkaloid

Fraksi dan pembanding ditotolkan pada plate KLT dengan fase gerak etil asetat:metanol:air (6:4:2 v/v/v) dan pembanding nikotin. Hasil positif ditunjukkan oleh nilai R_f yang mirip dengan pembanding serta munculnya warna oranye setelah disemprot pereaksi Dragendorff (Pratiwi et al., 2023).

Uji Flavonoid

Fraksi dan pembanding ditotolkan pada plate KLT dengan fase gerak kloroform:metanol (9:1 v/v) dan pembanding kuersetin. Hasil positif ditandai dengan nilai R_f yang mirip dengan pembanding serta munculnya fluoresensi kuning terang setelah disemprot pereaksi AlCl_3 (Marisa et al., 2024).

Uji Fenolik

Fraksi dan pembanding ditotolkan pada plate KLT menggunakan fase gerak kloroform:metanol (6:4 v/v) dan pembanding asam tanat. Hasil positif ditunjukkan oleh kesamaan nilai R_f dengan pembanding dan terbentuknya warna biru kehitaman setelah disemprot pereaksi FeCl_3 (Hanani et al., 2019; Shaikh & Patil, 2020).

Uji Steroid dan Terpenoid

Fraksi dan pembanding ditotolkan pada plate KLT dengan fase gerak kloroform:metanol (9,5:0,5 v/v) dan pembanding deksametason. Hasil positif ditunjukkan oleh kesamaan nilai R_f dengan pembanding serta munculnya warna hijau kebiruan setelah disemprot pereaksi Liebermann–Burchard (Shaikh & Patil, 2020).

Uji Saponin

Uji saponin dilakukan dengan metode uji tabung, yaitu melarutkan 2 mL sampel dalam 10 mL aquadest panas, dikocok selama 10 detik, lalu ditambahkan beberapa tetes HCl 2N. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya buih stabil yang tidak hilang selama ± 10 menit (Shaikh & Patil, 2020).

Penentuan nilai R_f hasil KLT dalam skrining fitokimia menggunakan persamaan berikut ini.

$$\text{Nilai } R_f = \frac{\text{jarak yang ditempuh analit}}{\text{jarak yang ditempuh eluen}}$$

Evaluasi Aktivitas Antibakteri

Pembuatan Mueller Hinton Agar (MHA) dilakukan dengan melarutkan 2,28 g serbuk MHA dalam 60 mL aquadest, sedangkan Mueller Hinton Broth (MHB) dibuat dengan melarutkan 2,1 g serbuk MHB dalam 100 mL aquadest. Kedua media dipanaskan hingga larut, ditutup kapas dan aluminium foil, lalu disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Mulqie et al., 2022). Peremajaan bakteri uji dilakukan dengan menggoreskan satu ose biakan murni pada medium agar, kemudian diinkubasi 24 jam pada suhu 37°C hingga siap digunakan sebagai bakteri uji (Sari et al., 2024). Pembuatan larutan McFarland dilakukan dengan mencampurkan 0,05 mL BaCl₂ 1% dengan 9,95 mL H₂SO₄ 1%, yang dihomogenkan untuk dibandingkan dengan suspensi bakteri (Intan et al., 2021). Untuk metode mikrodilusi, dibuat larutan MHB (0,336 g dalam 16 mL aquadest), kemudian masing-masing bakteri dimasukkan ke dalam 8 mL MHB dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 600 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis hingga setara 0,5 McFarland (1,5×10⁸ CFU/mL), lalu diencerkan 1:200 hingga diperoleh 1×10⁵ CFU/mL (Aviany & Pujiyanto, 2020). Suspensi bakteri untuk metode cakram disiapkan dengan melarutkan koloni *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dari media MHA ke dalam 10 mL NaCl 0,9% steril hingga mencapai kekeruhan setara standar McFarland 0,5 (Hudzicki, 2009). Kontrol negatif dalam penelitian ini menggunakan DMSO 10%, sementara kontrol positif menggunakan streptomisin.

Mikrodilusi

Fraksi aquadest, *tert*-butanol, dan etil asetat daun tenggulun dibuat stok masing-masing konsentrasi 2000 µg/mL dengan melarutkan 10 mg fraksi dengan 5 mL DMSO 10 %. Sampel fraksi dibuat dalam konsentrasi 1000, 800, 600, 400, serta 200 µg/mL pada *microplate*. Sedangkan streptomisin dibuat larutan stok dengan konsentrasi 200 µg/mL dengan melarutkan 1 mg streptomisin dalam 5 mL DMSO 10% dan diaplikasikan pada *microplate* dengan konsentrasi 100, 80, 60, 40, serta 20 µg/mL. *Microplate* dipetakan menjadi sumuran untuk sampel uji (masing-masing 100 µL sampel fraksi, MHB, dan suspensi bakteri); sumuran kontrol positif (masing-masing 100 µL streptomisin, MHB, dan suspensi bakteri); sumuran kontrol negatif (masing-masing 100 µL DMSO 10%, MHB, dan suspensi bakteri); sumuran kontrol sampel (masing-masing 100 µL sampel fraksi dan MHB); sumuran kontrol bakteri (masing-masing 100 µL MHB dan suspensi bakteri); sumuran kontrol media (200 µL MHB). Kemampuan penghambatan pertumbuhan bakteri dihitung dengan persamaan berikut ini (Rollando et al., 2019). Nilai IC₅₀ hasil uji mikrodilusi ditentukan dengan penentuan nilai regresi linier konsentrasi vs % penghambatan dengan persamaan regresi linier $y = bx + a$.

$$\% \text{Penghambatan} = \frac{OD \text{ kontrol bakteri} - (OD \text{ larutan uji} - OD \text{ Kontrol larutan uji})}{OD \text{ kontrol Bakteri}} \times 100\%$$

Difusi Cakram (Kirby-Bauer)

Bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* diinokulasi melalui metode swab, yakni cotton swab steril dicelup ke suspensi bakteri, selanjutnya cotton swab ditekan ke sisi tabung untuk meniriskan air. Konsentari yang sampel uji yang digunakan yakni 1000, 800, 600, 400, serta 200 µg/mL. Diusapkan *cotton swab* di semua permukaan supaya MHA merata, selanjutnya biarkan kering. Kertas cakram yang berukuran 6 mm direndam dalam masing-masing fraksi daun tenggulun selama 15 menit. Diletakkan kertas cakram di permukaan agar berisi bakteri yang sudah diinokulasi, disimpan di inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam. Pengukuran diameter zona hambat dilakukan menggunakan jangka sorong dan dihitung berdasarkan persamaan berikut ini (Aviany & Pujiyanto, 2020).

$$\text{Zona Hambat} = \frac{(a - c) + (b - c)}{2}$$

Keterangan:

a = Diameter vertikal

b = Diameter horizontal

c = Diameter kertas cakram

Hasil dan Pembahasan

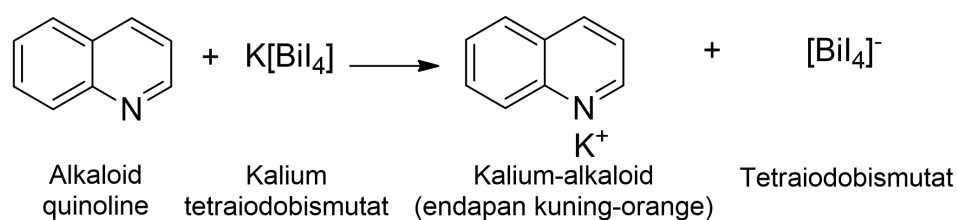
Persiapan Simplisia dan Ekstrak Metanol Daun Tenggulun

Sampel daun tenggulun diperoleh dari Desa Sikur Barat, Lombok Timur, dengan kriteria daun dewasa berwarna hijau pada posisi ke-3 hingga ke-4 dari cabang karena mengandung komponen kimia terbaik (Yusasrini & Darmayanti, 2024). Determinasi sampel tanaman tenggulun telah dilakukan di Laboratorium Terpadu Universitas Islam Negeri Mataram untuk memastikan kesesuaian spesies tanaman yang digunakan. Hasil determinasi menunjukkan bahwa sampel yang digunakan dalam penelitian ini dikonfirmasi sebagai daun tenggulun (*Protium javanicum*). Secara tradisional, daun tenggulun dipilih karena digunakan untuk mengobati berbagai penyakit. Tanaman tenggulun dilaporkan mengandung senyawa flavonoid, tanin, fenol, dan steroid yang bersifat antibakteri (Puspawati et al., 2020).

Proses pembuatan simplisia daun tenggulun telah berhasil dilakukan melalui tahapan penyortiran, pencucian, pengeringan selama 5–7 hari di bawah sinar matahari tertutup kain hitam untuk memaksimalkan proses ekstraksi (Asworo & Widwastuti, 2023). Ekstraksi daun *Protium javanicum* (tenggulun) dilakukan menggunakan metode maserasi dengan pelarut metanol 90% karena pelarut ini menunjukkan kemampuan ekstraktif yang tinggi dan menghasilkan rendemen serta aktivitas antioksidan terbaik dibandingkan dengan pelarut lain seperti etanol 90%, aquadest, atau aseton 90%. Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa metanol 90% memberikan rendemen tertinggi dan kandungan fitokimia optimal seperti senyawa golongan fenol, flavonoid dan 325annin pada ekstrak daun tenggulun melalui metode maserasi (Simamora et al., 2021). Polaritas pelarut memiliki pengaruh signifikan terhadap efisiensi ekstraksi senyawa bioaktif (Chatepa et al., 2024). Maserasi daun tenggulun dilakukan selama tujuh hari tanpa pemanasan untuk menjaga kestabilan senyawa aktif. Hasil ekstraksi menghasilkan bobot ekstrak 99,54 g dari 500 g simplisia sehingga rendemen ekstrak diperoleh sebesar 19,91%. Hasil rendemen ekstrak yang diperoleh pada penelitian ini lebih baik dibandingkan penelitian sebelumnya yang menggunakan pelarut maserasi yang sama yaitu metanol 90% dengan rendemen sebesar 7,94±1,78% (Simamora et al., 2021). Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa proses ekstraksi daun tenggulun dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol 90% memberikan hasil yang cukup baik dan efisien. Kemudian, fraksinasi dilakukan secara cair-cair dengan tiga pelarut berbeda polaritas yaitu aquadest (polar), *tert*-butanol (semipolar), dan etil asetat (semipolar) untuk memisahkan senyawa berdasarkan tingkat kepolaran (Chatepa et al., 2024). Hasil fraksinasi ekstrak metanol daun tenggulun menunjukkan rendemen tertinggi pada fraksi aquadest sebesar 46%, diikuti etil asetat 24% dan *tert*-butanol 22%. Hasil tersebut memberikan indikasi bahwa sebagian besar senyawa metabolit sekunder dalam daun tenggulun bersifat polar sehingga bisa terfraksinasi secara optimal dalam pelarut aquadest. Hasil yang diperoleh pada penelitian ini berbeda dengan hasil penelitian sebelumnya, di mana pelarut aquadest memberikan rendemen yang paling rendah terkait kemampuannya mengekstrak senyawa metabolit sekunder pada daun tenggulun dengan rendemen 5,29±0,56% (Simamora et al., 2021). Sementara itu, senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak metanol daun tenggulun terfraksinasi dalam pelarut semipolar terutama etil asetat seperti yang dilaporkan pada penelitian sebelumnya (Puspawati et al., 2020).

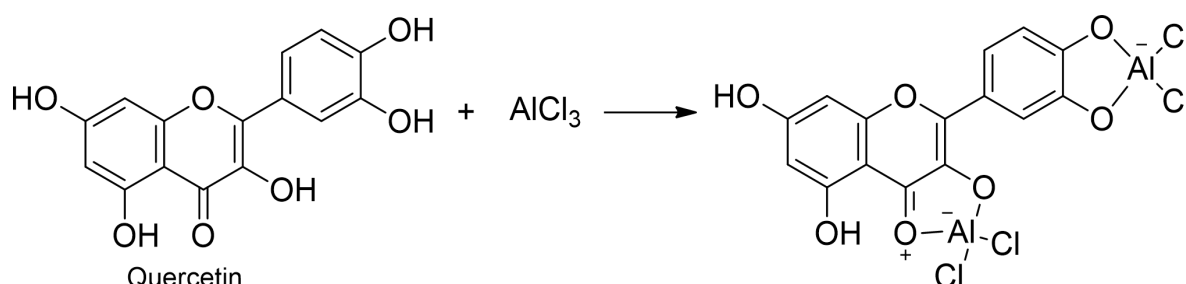
Skrining Fitokimia Fraksi Daun Tenggulun

Skrining fitokimia telah dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa yang terkandung dalam fraksi daun tenggulun menggunakan pemeriksaan dengan kromatografi lapis tipis (KLT). Identifikasi metabolit sekunder pada fraksi daun tenggulun menggunakan metode KLT dilakukan berdasarkan perbedaan distribusi senyawa antara fase diam dan fase gerak selama distribusi senyawa metabolit sekunder pada pelat KLT. Metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, steroid dan tanin telah diidentifikasi menggunakan uji KLT. Uji tabung digunakan untuk identifikasi senyawa saponin karena sederhana dan efektif untuk identifikasi melalui sifat fisikokimia yang khas, yaitu kemampuannya membentuk busa stabil saat dikocok dengan air (Shaikh & Patil, 2020). Hasil identifikasi senyawa metabolit sekunder menunjukkan bahwa fraksi aquadest tidak teridentifikasi mengandung senyawa alkaloid, sedangkan fraksi etil asetat dan *tert*-butanol mengandung senyawa metabolit sekunder alkaloid yang mirip nikotin. Hal tersebut dibuktikan dengan adanya bercak dengan nilai R_f 0,81 dan 0,73 berturut-turut pada fraksi etil asetat dan *tert*-butanol. Bercak yang muncul pada plat KLT mendekati nilai R_f nikotin 0,76 yang digunakan sebagai pembanding (selisih nilai $R_f < 0,2$) menunjukkan kesamaan karakteristik kelarutan dan kepolaran antara senyawa metabolit sekunder dalam fraksi etil asetat dan fraksi *tert*-butanol daun tenggulun dengan pembanding nikotin yang digunakan. Hasil identifikasi senyawa alkaloid dalam fraksi etil asetat dan fraksi *tert*-butanol daun tenggulun juga diperkuat dengan adanya terbentuknya warna *orange* pada sampel fraksi setelah ditetesi reagen Dragendorff yang spesifik untuk identifikasi alkaloid. Terbentuknya warna oranye pada sampel yang mengandung alkaloid terjadi akibat adanya interaksi atom nitrogen pada struktur senyawa alkaloid yang memiliki pasangan elektron bebas dengan ion K^+ dari kalium tetraiodobismutat pada reagen Dragendorff sehingga dapat membentuk ikatan kovalen koordinasi dan menghasilkan endapan kalium-alkaloid berwarna kuning-oranye berdasarkan reaksi di bawah ini (Nurjannah et al., 2022).



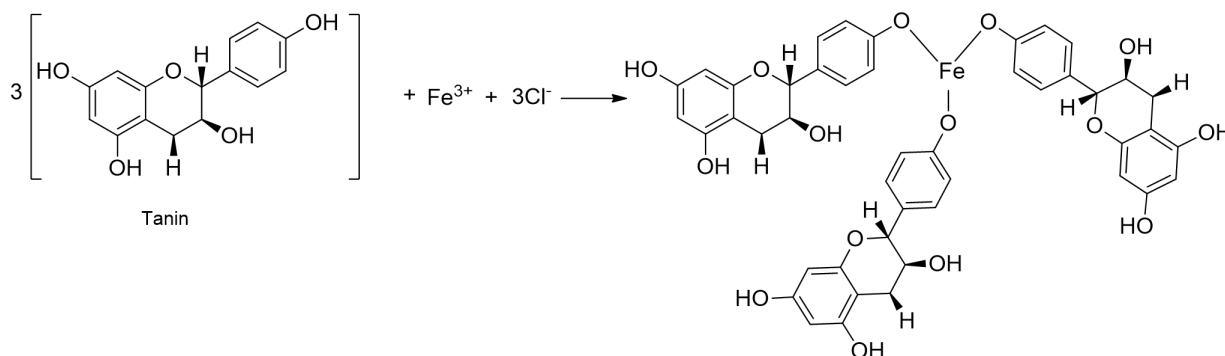
Gambar 1. Reaksi alkaloid dan kalium tetraiodobismutat (Nurjannah et al., 2022)

Identifikasi senyawa flavonoid pada fraksi aquadest tidak menunjukkan adanya senyawa flavonoid, sedangkan fraksi etil asetat dan fraksi *tert*-butanol memberikan *spot* dengan nilai R_f berturut-turut 0,33 dan 0,31. Nilai R_f kedua fraksi tersebut mendekati nilai R_f kuarsetin yang digunakan sebagai pembanding, yaitu 0,40. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat kemiripan sifat kimia senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam fraksi etil asetat dan fraksi *tert*-butanol daun tenggulun dan senyawa pembanding kuarsetin. Menurut Suharyanto & Prima (2020), adanya flavonoid juga dibuktikan dengan terbentuknya bercak yang berwarna kuning pada cahaya tampak dan berfluoresensi hijau-biru pada sinar UV 366 nm setelah ditetesi reagen $AlCl_3$. Hal tersebut terjadi akibat interaksi gugus keton dan hidroksil pada flavonoid, contohnya kuarsetin, yang membentuk kompleks stabil dengan $AlCl_3$ (Suharyanto & Prima, 2020).



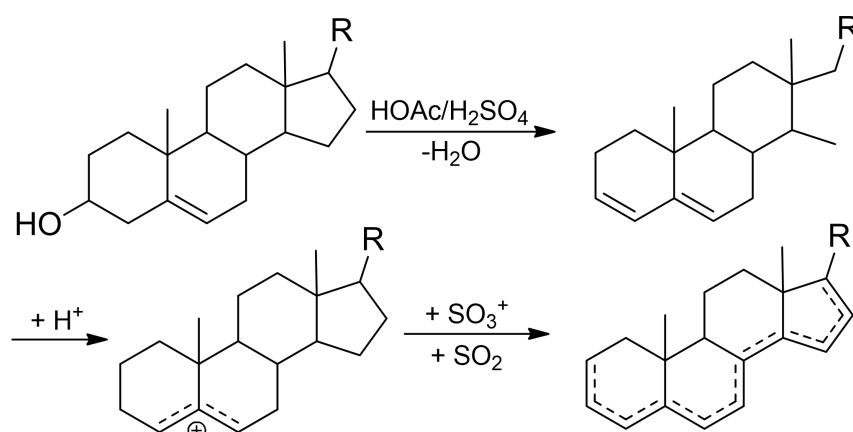
Gambar 2. Reaksi senyawa flavonoid (quercetin) dan pereaksi AlCl_3 (Suharyanto & Prima, 2020)

Fraksi aquadest, etil asetat, dan *tert*-butanol daun tenggulun memberikan hasil positif mengandung senyawa tanin dengan nilai R_f berturut-turut 0,53; 0,75; dan 0,73. Nilai R_f tersebut mendekati nilai R_f asam galat yang termasuk dalam golongan senyawa tanin yang digunakan sebagai pembanding, yaitu 0,7. Dengan demikian, senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ketiga fraksi daun tenggulun pada penelitian ini juga menunjukkan kemiripan kepolaran dan kelarutan dengan salah satu golongan metabolit sekunder tanin, yaitu asam galat. Konfirmasi hasil positif tanin pada ketiga fraksi juga dibuktikan dengan terbentuknya noda berwarna hijau kehitaman pada cahaya tampak, coklat kehitaman pada UV 366 nm, dan hijau pada UV 254 nm setelah ditetesi reagen FeCl_3 . Hal ini dapat terjadi akibat pembentukan kompleks koordinasi antara ion Fe^{3+} dan gugus hidroksil pada tanin (Nurjannah et al., 2022).



Gambar 3. Reaksi senyawa tanin (Nurjannah et al., 2022)

Selanjutnya, identifikasi steroid dan terpenoid memberikan hasil positif pada fraksi etil asetat. Hal tersebut dibuktikan dengan terbentuknya warna hijau-biru pada cahaya tampak dan hijau kehitaman pada sinar UV 254 nm dengan nilai R_f 0,61–0,98. Sementara itu, fraksi aquadest dan *tert*-butanol memberikan hasil negatif terhadap keberadaan senyawa steroid dan terpenoid. Sampel yang memberikan hasil positif steroid memberikan warna kehijauan pada plat KLT yang dapat dilihat di bawah sinar UV 254 nm terjadi karena adanya interaksi antara gugus fungsi hidroksil OH dengan reagen Liebermann-Burchard (Nurjannah et al., 2022; Zaini & Shofia, 2020). Berbeda dengan identifikasi steroid, hasil uji identifikasi terpenoid dengan reagen Liebermann-Burchard tidak terdeteksi pada ketiga fraksi daun tenggulun pada penelitian ini.



Gambar 4. Reaksi senyawa steroid (Nurjannah et al., 2022; Zaini & Shofia, 2020)

Hasil identifikasi saponin pada ketiga fraksi daun tenggulun memberikan hasil positif. Hasil tersebut diperoleh melalui uji tabung. Saat uji tabung dilakukan pada ketiga fraksi, terbentuk busa stabil setelah dikocok dalam aquadest panas dan ditambahkan HCl 2N. Pembentukan busa dapat terjadi karena gugus hidrofilik saponin berikatan dengan air, sementara gugus hidrofobiknya berinteraksi dengan udara. Penggunaan HCl 2N memperkuat ikatan hidrofilik dan memastikan kestabilan busa sebagai konfirmasi keberadaan saponin (Nugraha et al., 2024).

Hasil skrining fitokimia fraksi daun tenggulun menunjukkan bahwa fraksi etil asetat mengandung senyawa metabolit sekunder paling banyak dibandingkan fraksi aquadest dan *tert*-butanol. Metabolit sekunder yang terkandung dalam fraksi etil asetat daun tenggulun adalah alkaloid, flavonoid, tanin, steroid, dan saponin. Fraksi *tert*-butanol mengandung alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin. Sedangkan fraksi aquadest hanya mengandung senyawa tanin dan saponin. Fraksi aquadest memiliki keragaman senyawa lebih rendah, namun rendemen tertinggi yaitu 46%. Artinya, ada indikasi bahwa senyawa metabolit sekunder yang paling banyak terkandung dalam ekstrak daun tenggulun adalah senyawa tanin dan saponin yang bersifat mudah larut dalam air sehingga rendemen fraksi aquadest paling besar. Hasil yang diperoleh pada penelitian ini juga memberikan informasi bahwa rendemen ekstrak dan/atau fraksi yang tinggi ini tidak selalu mencerminkan multivariasi atau keberagaman senyawa fitokimia dalam sampel (Chatepa et al., 2024).

Tabel 1. Hasil skrining fitokimia fraksi daun tenggulun

Golongan senyawa	Reagen	Pembanding	Keterangan sampel fraksi		
			Aquadest	Etil asetat	<i>tert</i> -Butanol
Alkaloid**	Dragendorff	Nikotin	-	+	+
Flavonoid*	AlCl_3 10%	Kuersetin	-	+	+
Tanin**	FeCl_3 10%	Asam galat	+	+	+
Steroid**	Lieberman-Burchard	Deksametason	-	+	-
Terpenoid**	Lieberman- Burchard	Deksametason	-	-	-
Saponin***	HCl	Buih	+	+	+

Referensi: *(Suharyanto & Prima, 2020). ** (Nurjannah et al., 2022). *** (Nugraha et al., 2024).

Keterangan: (+) positif mengandung senyawa

(-) negatif mengandung senyawa

Aktivitas Antibakteri dengan Metode Mikrodilusi

Uji aktivitas antibakteri pada penelitian ini dilakukan dengan dua metode, yaitu metode mikrodilusi dan difusi cakram. Evaluasi aktivitas antibakteri dengan metode mikrodilusi digunakan untuk menilai kemampuan ekstrak menghambat pertumbuhan bakteri secara kuantitatif dan dapat digunakan untuk

menentukan nilai IC_{50} , yaitu konsentrasi yang menghambat pertumbuhan bakteri sebesar 50% (Veiga et al., 2019). Nilai IC_{50} diperoleh dari hasil pengukuran absorbansi yang mencerminkan tingkat pertumbuhan bakteri. Absorbansi tinggi menunjukkan pertumbuhan bakteri yang besar. Sebaliknya, absorbansi rendah menandakan adanya penghambatan pertumbuhan bakteri oleh sampel uji. Terdapat hubungan terbalik antara nilai absorbansi dan efektivitas penghambatan. Persentase penghambatan dihitung dengan membandingkan nilai absorbansi kontrol dan sampel untuk mengubah data menjadi bentuk kuantitatif. Nilai IC_{50} kemudian ditentukan melalui analisis linear antara konsentrasi dan persentase penghambatan, di mana nilai IC_{50} yang lebih rendah menunjukkan potensi antibakteri yang lebih kuat (Sari et al., 2024).

Hasil uji mikrodilusi menunjukkan bahwa fraksi etil asetat memiliki aktivitas antibakteri yang lebih baik dibandingkan fraksi *tert*-butanol terhadap *Escherichia coli* dengan nilai IC_{50} berturut-turut 356,35 dan 491,72 $\mu\text{g/mL}$. Uji aktivitas antibakteri dengan metode mikrodilusi juga menunjukkan bahwa fraksi etil asetat memiliki aktivitas antibakteri yang relatif lebih baik dibandingkan fraksi *tert*-butanol terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan nilai IC_{50} berturut-turut 404,78 dan 576,15 $\mu\text{g/mL}$. Hasil penelitian tersebut juga menunjukkan bahwa fraksi etil asetat dan fraksi *tert*-butanol daun tenggulun memiliki aktivitas antibakteri dengan kategori sangat lemah ($IC_{50} \geq 200 \mu\text{g/mL}$). Sementara itu, fraksi aquadest daun tenggulun memiliki aktivitas antibakteri paling lemah dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan nilai IC_{50} berturut-turut 870,17 dan 828,77 $\mu\text{g/mL}$. Namun demikian, aktivitas antibakteri fraksi etil asetat, fraksi *tert*-butanol, dan fraksi aquadest daun tenggulun relatif lebih baik terhadap bakteri *Escherichia coli* dibandingkan dengan bakteri *Staphylococcus aureus*. Fraksi etil asetat merupakan fraksi semipolar yang mengandung fenolik, flavonoid, tanin, alkaloid semipolar dan beberapa terpenoid yang larut moderat dalam pelarut etil asetat. Kandungan senyawa fenolik seperti tanin dan flavonoid, alkaloid, dan steroid pada fraksi telah dilaporkan dalam penelitian sebelumnya mampu mengganggu struktur membran bakteri, menghambat enzim penting, dan mengganggu fungsi membran luar bakteri (Abadi et al., 2025; George & Brandl, 2021; Sumarna et al., 2023; Vazquez-armenta et al., 2025). Fraksi etil asetat umumnya memiliki aktivitas terhadap bakteri *Escherichia coli* yang sedikit berbeda dibandingkan dengan *Staphylococcus aureus*. Hal ini dapat dipengaruhi oleh struktur dinding sel bakteri Gram negatif, yang memungkinkan beberapa senyawa semipolar menembus membran sel bakteri sedikit lebih baik dibandingkan dengan molekul yang sangat polar atau nonpolar seperti fraksi *tert*-butanol dan aquadest. Bakteri Gram negatif memiliki lapisan luar yang terutama terdiri dari lipopolisakarida (LPS) yang membentuk pori-pori kecil, sehingga molekul-molekul kecil seperti flavonoid atau fenolik dapat menembus pori-pori kecil tersebut dengan lebih efektif. Sementara itu, bakteri Gram positif seperti *Staphylococcus aureus* tidak memiliki membran luar LPS, tetapi memiliki lapisan peptidoglikan tebal yang dapat menjadi penghalang terhadap penetrasi beberapa senyawa. Lebih dari itu, kandungan senyawa fitokimia dalam masing-masing fraksi daun tenggulun dapat mendukung aktivitas antibakteri fraksi.

Tabel 2. Hasil evaluasi antibakteri dengan metode mikrodilusi

Fraksi	IC ₅₀ (µg/mL)			Rata-rata IC ₅₀ (µg/mL)	Kategori
	1	2	3		
Escherichia coli					
Etil asetat	299,45	378,40	391,21	356,35	Sangat lemah
tert-Butanol	490,19	525,02	459,95	491,72	Sangat lemah
Aquadest	867,54	869,23	873,76	870,17	Sangat lemah
Streptomisin	<20	<20	<20	<20	Sangat kuat
Staphylococcus aureus					
Etil asetat	395,65	398,23	420,46	404,78	Sangat lemah

<i>tert</i> -Butanol	568,27	591,48	568,72	576,15	Sangat lemah
Aquadest	878,64	878,73	879,17	878,85	Sangat Lemah
Streptomisin	<20	<20	<20	<20	Sangat Kuat

Keterangan: IC₅₀ <50 µg/mL (sangat kuat); 50-100 µg/mL (kuat); 101-150 µg/mL (sedang); 150-200 µg/mL (lemah), ≥ 200 µg/mL (sangat lemah) (Kinanti, 2024).

Aktivitas Antibakteri dengan Metode Difusi Cakram

Uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi cakram digunakan untuk menilai kemampuan ekstrak menghambat pertumbuhan bakteri dan berdifusi pada media padat. Aktivitas antibakteri ditentukan dengan zona hambat yang terbentuk. Semakin besar diameter zona hambat, semakin tinggi aktivitas antibakteri sampel tersebut (Abubakar & Yamlean, 2019; Ratu et al., 2019). Uji aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* menunjukkan bahwa fraksi etil asetat memiliki aktivitas dengan terbentuknya zona bening di sekitar cakram. Zona hambat tertinggi tercatat pada konsentrasi 1000 µg/mL sebesar 1,66 mm, sedangkan terendah pada 600 µg/mL sebesar 1,18 mm dan pada konsentrasi 800 ppm sebesar 1,32 µg/mL dan aktivitas antibakteri tergolong lemah. Pada penelitian yang dilakukan oleh Puspawati et al., (2020), ekstrak daun tenggulun terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 0,2% atau 2000 ppm menghasilkan zona hambat sebesar 6,20 mm dengan kategori sedang. Lebih dari itu, penelitian sebelumnya melaporkan bahwa ekstrak etil asetat daun tenggulun pada konsentrasi 20% mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan zona hambat sebesar 20,08 mm. Selain itu, ekstrak nonpolar dan semipolar seperti *n*-heksana dan *n*-butanol pada konsentrasi yang sama juga menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap *Staphylococcus aureus* dengan diameter zona hambat masing-masing sebesar 13,33 mm dan 16,66 mm (Puspawati et al., 2020). Sedangkan pada penelitian ini, fraksi semipolar etil asetat daun tenggulun menunjukkan aktivitas antibakteri yang lebih kecil dengan kategori lemah pada konsentrasi 1000 µg/mL dengan ukuran zona hambat 1,66 mm. Perbedaan hasil tersebut menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri daun tenggulun dapat bervariasi bergantung pada sumber bahan baku, jenis bakteri uji, dan fraksi uji yang digunakan.

Kontrol positif streptomisin menunjukkan zona hambat lebih besar dibandingkan dengan ketiga fraksi daun tenggulun dengan kategori kuat. Hasil ini menunjukkan bahwa fraksi etil asetat, *tert*-butanol, dan aquadest daun tenggulun memiliki daya hambat rendah dibandingkan dengan kontrol positif. Hal ini disebabkan oleh keberadaan berbagai senyawa yang terkandung dalam ekstrak tersebut yang merupakan campuran kompleks, sehingga kemungkinan terjadi interaksi antar senyawa yang dapat memengaruhi efektivitas aktivitas antibakterinya, sehingga aktivitas antibakterinya tidak sebaik senyawa tunggal seperti antibiotik streptomisin (Romadhonsyah et al., 2024).

Hasil uji aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* menunjukkan bahwa sampel daun tenggulun tidak menunjukkan aktivitas antibakteri, yang ditandai dengan tidak terbentuknya zona hambat di sekitar kertas cakram. Hal ini menandakan bahwa senyawa aktif dalam sampel pada konsentrasi yang digunakan belum mampu menghambat atau membunuh pertumbuhan bakteri uji. Sebaliknya, kontrol positif menunjukkan hasil yang signifikan dengan terbentuknya zona hambat yang dikategorikan memiliki aktivitas antibakteri kuat. Perbedaan ini menunjukkan bahwa meskipun daun tenggulun mengandung senyawa bioaktif seperti flavonoid, tanin, dan fenol, konsentrasi atau jenis senyawa yang terekstrak pada kondisi pengujian belum cukup efektif menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dibandingkan dengan streptomisin berdasarkan hasil uji difusi cakram (Rahardhian & Rahmawati, 2025). Secara umum, hasil evaluasi aktivitas uji antibakteri fraksi daun tenggulun dengan metode mikrodilusi dan difusi cakram menunjukkan hasil yang selaras, yaitu fraksi etil asetat memiliki potensi antibakteri relatif lebih baik dibandingkan fraksi *tert*-butanol dan aquadest terhadap bakteri Gram negatif *Escherichia coli* dan bakteri Gram positif *Staphylococcus aureus*.

Tabel 3. Hasil evaluasi aktivitas antibakteri dengan metode difusi cakram

Fraksi	Zona hambat (mm)						Streptomisin (10 µg/mL)	DMSO 10%
	1000 µg/mL	800 µg/mL	600 µg/mL	400 µg/mL	200 µg/mL			
<i>Escherichia coli</i>								
Etil asetat	1,66	1,32	1,18	0	0	11,67	0	
tert-Butanol	0	0	0	0	0	11,88	0	
Aquadest	0	0	0	0	0	11,73	0	
Kategori	Lemah	Lemah	Lemah	-	-	Kuat	-	
<i>Staphylococcus aureus</i>								
Etil asetat	0	0	0	0	0	10,78	0	
tert-Butanol	0	0	0	0	0	11,89	0	
Aquadest	0	0	0	0	0	11,78	0	
Kategori	Lemah	Lemah	Lemah	Lemah	Lemah	Kuat	-	
Kategori: Diameter zona hambat ≥ 20 mm (sangat kuat); 10-20 mm: (kuat); 5-10 mm (sedang); ≤ 5 mm (lemah) (Abubakar & Yamlean, 2019; Ratu et al., 2019).								

Integrasi Hasil Mikrodilusi dan Difusi Cakram

Jika kedua metode dibandingkan, terdapat kecenderungan hasil yang konsisten bahwa fraksi etil asetat merupakan fraksi dengan aktivitas antibakteri relatif paling tinggi. Pada metode mikrodilusi, fraksi tersebut menghasilkan nilai IC_{50} terendah terhadap *E. coli* dan *S. aureus*. Temuan tersebut didukung oleh hasil uji difusi cakram, yang menunjukkan bahwa hanya fraksi etil asetat yang mampu membentuk zona hambat terhadap *E. coli*. Meskipun demikian, aktivitas antibakteri yang teramati masih tergolong rendah berdasarkan parameter yang digunakan. Penelitian sebelumnya juga melaporkan bahwa penggunaan pelarut etil asetat untuk ekstraksi menghasilkan ekstrak etil asetat daun tenggulun dengan nilai zona hambat terbesar, yaitu $20,08 \pm 1,43$ mm, dibandingkan dengan ekstrak *n*-heksan dan ekstrak *n*-butanol (Puspawati et al., 2020). Perbedaan respons fraksi daun tenggulun terhadap *E. coli* dan *S. aureus* juga terlihat pada kedua metode. Nilai IC_{50} seluruh fraksi cenderung lebih rendah terhadap *E. coli*, sedangkan pada metode difusi cakram, hanya *E. coli* yang menunjukkan respons terhadap fraksi etil asetat. Dengan demikian, pada kondisi eksperimen penelitian ini, fraksi daun tenggulun menunjukkan kecenderungan aktivitas antibakteri yang relatif lebih baik terhadap bakteri Gram negatif *E. coli* dibandingkan dengan bakteri Gram positif *S. aureus*. Hasil yang diperoleh pada penelitian ini berbeda dari penelitian sebelumnya yang melaporkan bahwa umumnya kelompok bakteri Gram positif lebih peka terhadap senyawa yang memiliki aktivitas antimikroba dibandingkan dengan Gram negatif (Ratu et al., 2019). Ratu et al. (2019) juga melaporkan bahwa fraksi nonpolar kloroform dan fraksi polar metanol dari bahan alam seperti spons *Phyllospongia lamellosa* efektif menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli*. Hasil tersebut juga berbeda dengan hasil yang diperoleh pada penelitian ini, di mana fraksi polar seperti aquadest memiliki aktivitas yang sangat lemah terhadap *E. coli* dan *S. aureus* (Ratu et al., 2019).

Kandungan metabolit sekunder dalam fraksi daun tenggulun memengaruhi aktivitas antibakteri. Kandungan alkaloid dalam fraksi etil asetat daun tenggulun mampu menghambat sintesis peptidoglikan pada dinding bakteri dengan keberadaan atom nitrogen pada alkaloid serta menghambat enzim topoisomerase pada sintesis protein sehingga memicu bakteri mengalami reaksi lisis di mana membran sel bakteri rusak sehingga organel sel keluar (Nurjannah et al., 2022). Selanjutnya, fraksi etil asetat mengandung flavonoid yang memiliki gugus -OH yang mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel bakteri tersebut (Nurjannah et al., 2022). Mekanisme tanin sebagai senyawa antibakteri

melalui inaktivasi adhesi sel bakteri dan inaktivasi enzim, serta gangguan transpor protein pada lapisan dalam sel. Tanin merusak polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel bakteri menjadi kurang sempurna menyebabkan sel bakteri menjadi lisis (Nurjannah et al., 2022). Mekanisme kerja dari steroid dan terpenoid adalah dengan merusak membran sel bakteri dengan meningkatkan permeabilitas sel, sehingga terjadi kebocoran sel yang diikuti keluarnya material intraseluler (Nurjannah et al., 2022). Ketiga fraksi daun tenggulun pada penelitian ini positif mengandung saponin, namun saponin pada penelitian ini tidak memiliki kontribusi yang besar sebagai senyawa antibakteri karena fraksi aquadest dan *tert*-butanol yang juga mengandung saponin memiliki aktivitas antibakteri yang sangat lemah.

Secara keseluruhan, hasil penelitian menunjukkan bahwa proses fraksinasi menghasilkan fraksi dengan profil fitokimia yang berbeda. Fraksi etil asetat menunjukkan keragaman golongan metabolit sekunder yang relatif tinggi dan aktivitas antibakteri relatif baik dibandingkan dengan fraksi aquadest dan *tert*-butanol berdasarkan nilai IC_{50} serta hasil uji difusi cakram. Namun, hubungan antara kandungan metabolit sekunder dalam masing-masing fraksi daun tenggulun dan aktivitas antibakteri perlu dikaji secara lebih komprehensif pada studi selanjutnya. Oleh karena itu, penelitian lanjutan diperlukan untuk memisahkan komponen aktif dari fraksi dan mengidentifikasi senyawa yang berkontribusi terhadap aktivitas antibakteri fraksi daun tenggulun.

Kesimpulan dan Saran

Daun *Protium javanicum* menunjukkan profil fitokimia yang berbeda pada setiap fraksi. Fraksi etil asetat mengandung alkaloid, flavonoid, tanin, steroid, dan saponin; fraksi *tert*-butanol mengandung alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin; sedangkan fraksi aquades hanya mengandung tanin dan saponin. Ketiga fraksi menunjukkan aktivitas antibakteri yang sangat lemah berdasarkan uji mikrodilusi, dengan nilai $IC_{50} \geq 200 \mu\text{g/mL}$. Fraksi etil asetat menunjukkan aktivitas relatif lebih baik terhadap *Escherichia coli* (IC_{50} 356,35 $\mu\text{g/mL}$) dan *Staphylococcus aureus* (IC_{50} 404,78 $\mu\text{g/mL}$). Pada uji difusi cakram, aktivitas antibakteri hanya terdeteksi pada fraksi etil asetat terhadap *E. coli*, dengan zona hambat sebesar 1,66 mm pada konsentrasi 1000 $\mu\text{g/mL}$. Secara keseluruhan, aktivitas antibakteri seluruh fraksi masih rendah dibandingkan dengan kontrol positif. Meskipun demikian, hasil penelitian ini memberikan informasi awal mengenai potensi fraksi daun tenggulun sebagai agen antibakteri. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa aktif, menentukan konsentrasi hambat minimum (MIC) dan konsentrasi bunuh minimum (MBC), serta mengevaluasi mekanisme antibakterinya guna mengonfirmasi potensi *P. javanicum*, khususnya kaitan antara kandungan metabolit sekunder dan aktivitas antibakteri daun tenggulun.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih kepada Laboratorium Farmasi Program Studi Farmasi Universitas Hamzanwadi yang telah mendukung kebutuhan penelitian selama pelaksanaan penelitian dengan baik.

Daftar Pustaka

- Abadi, M. J., Nasution, S. W., & Sartika, D. (2025). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Infusa Kulit Jeruk Manis (Citrus Sinensis) Terhadap Bakteri Propionibacterium Acnes. *Jurnal Implementa Husada*, 6(3), 288–300. <https://doi.org/https://doi.org/10.30596/jih.v6i3.25072>
- Abubakar, P. M. S., & Yamlean, P. V. Y. (2019). Uji Daya Hambat Ekstrak Rimpang Lengkuas Merah (Alpinia purpurata K. Schum) terhadap Pertumbuhan Bakteri Klebsiella pneumoniae Isolat Sputum pada Penderita Pneumonia Resisten Antibiotik Seftriakson. *Pharmacon*, 8(1), 11–21.

- Asworo, R. Y., & Widwastuti, H. (2023). Pengaruh Ukuran Serbuk Simplisia dan Waktu Maserasi terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Sirsak. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education*, 3(2), 256–263. <https://doi.org/10.37311/ijpe.v3i2.19906>
- Aviany, H. B., & Pujiyanto, S. (2020). Analisis Efektivitas Probiotik di Dalam Produk Kecantikan sebagai Antibakteri terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *Berkala Bioteknologi*, 3(2), 25–30.
- Chatepa, L. E. C., Mwamatope, B., Chikowe, I., & Masamba, K. G. (2024). Effects of solvent extraction on the phytoconstituents and in vitro antioxidant activity properties of leaf extracts of the two selected medicinal plants from Malawi. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 24(1). <https://doi.org/10.1186/s12906-024-04619-7>
- Chen, C., & Huang, Y. (2014). New epidemiology of *Staphylococcus aureus* infection in Asia. *European Society of Clinical Infectious Diseases*, 20(7), 605–623. <https://doi.org/10.1111/1469-0691.12705>
- Dwitasari, R., Kustono, D., Al-Irsyad, M., & Marji. (2024). Hubungan Sanitasi , Personal Hygiene Dan Kandungan *Escherichia Coli* Dengan Diare Di Puskesmas Dinoyo Kota Malang. *Jurnal Anastesi: Jurnal Ilmu Kesehatan Dan Kedokteran*, 2(1), 1–12.
- George, A. S., & Brandl, M. T. (2021). Plant Bioactive Compounds as an Intrinsic and Sustainable Tool to Enhance the Microbial Safety of Crops. *Microorganisms*, 9(2485), 1–18.
- Hanani, E., Soewandi, S. H. W., Hayati, & Revita, N. R. (2019). *Pharmacognostical and Preliminary Phytochemical Evaluation of Cordia sebestena L*. *Pharmacognosy Journal*, 11(5), 1100–1105.
- Hudzicki, J. (2009). Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol. American Society for Microbiology, December 2009, 1–23.
- Intan, K., Diani, A., & Nurul, A. S. R. (2021). Aktivitas Antibakteri Kayu Manis (*Cinamomum burmanii*) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Kesehatan Perintis*, 8(2), 121–127.
- Irvan, H., & Aji, N. (2020). Fraksinasi Ekstrak Daun Sirih dan Ekstrak Gambir serta Uji Antibakteri *Streptococcus mutans*. *Jurnal Ilmiah Kesehatan*, 19(3), 100–106. <https://doi.org/10.33221/jikes.v19i03.580> ARTIKEL
- Johannessen, M., Sollid, J. E., & Hanssen, A. (2012). Host and microbe determinants that may influence the success of *S. aureus* colonization. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2(May), 1–14. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2012.00056>
- Kinanti. (2024). Aktivitas antioksidan dan antibakteri senyawa flavonoid dari ekstrak etanol daun johar (*Senna siamea* Lamk). *Maliki Interdisciplinary Journal (MIJ)*, 2(4), 499–503.
- Kwieceński, J. M., & Horswill, A. R. (2020). *Staphylococcus aureus* bloodstream infections: pathogenesis and regulatory mechanisms. *Current Opinion Microbiology*, 53, 51–60. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2020.02.005>
- Marisa, S., Sule, N. G. ., Bulu, L., Sarungallo, R. S., & Lydia Melawaty. (2024). Pemisahan dan Identifikasi Komponen Bioaktif Alkaloid dan Flavonoid pada Biji Kakao dari Sulawesi Selatan dan Sulawesi Tengah Melalui Studi Spektrofotometri UV dan KL. *Paulus Chem Engineering Journal*, 2(1), 23–32. <https://doi.org/10.63365/bbh22h26>
- Mulqie, L., Suwendar, S., Rajih, M. F., Mardiyani, D., Yumniati, I., Widiyari, W., & Nurrosyidah, Z. (2022). AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN JAMBU AIR [*Eugenia aqueum* (Burm. F) Alston] DENGAN MIKRODILUSI AGAR. *Jurnal Ilmiah Farmasi Farmasyifa*, 5(1), 1–8. <https://doi.org/10.29313/jiff.v5i1.7849>
- Ningrum, W. A., Ramadanti, M., & Muthoharoh, A. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol

- Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa blimbi* Linn.) dan Ekstrak Etanol Daun Belimbing Manis (*Averrhoa carambola* Linn.) terhadap Daya Hambat *Staphylococcus aureus*. *Cendekia Journal of Pharmacy*, 4(1), 46–51.
- Nugraha, N. D., Sukma Sanjiwani, N. M., & Wahyu Udayani, N. N. (2024). Pengujian Fitokimia dan Penentuan Kadar Senyawa Saponin Pada Ekstrak Etanol Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.). *Usadha*, 3(1), 8–13. <https://doi.org/10.36733/usadha.v3i1.7345>
- Nurjannah, I., Mustariani, B. A. A., & Suryani, N. (2022). Skrining Fitokima dan Uji Antibakteri Ekstrak Kombinasi Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) dan Kelor (*Moringa Oleifera* L.) sebagai Zat Aktif pada Sabun Antibakteri. *SPIN: Jurnal Kimia & Pendidikan Kimia*, 4(100), 23–36. <https://doi.org/10.20414/spin.v4i1.4801>
- Pratiwi, S. A., Februyani, N., & Basith, A. (2023). Skrining dan Uji Penggolongan Fitokimia dengan Metode KLT pada Ekstrak Etanol Kemangi (*Ocimum basilicum* L) dan Sereh Dapur (*Cymbogon ciratus*). *Pharmacy Medical Journal*, 6(2), 140–147.
- Puspawati, N. M., Widiari, N. L. P. F., & Sukadana, I. M. (2020). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Tenggulun (*Protium javanicum* Burm F.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Kimia*, 14(1), 56–62.
- Rahardhian, M. R. R., & Rahmawati, F. N. I. (2025). Aktivitas Antibakteri Sediaan Face Scrub Ekstrak Etanol Daun Amis-amisan (*Houttuynia cordata* Thunb) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Cermin Dunia Kedokteran*, 52(3), 147–154. <https://doi.org/10.55175/cdk.v52i3.1218>
- Rante, H., Nasriah, & Tayeb, R. (2024). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L .) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* Resistensi Antibiotik. *Jurnal Pharmascience*, 11(1), 154–160.
- Ratu, K., Simbala, H. E. I., & Rotinsulu, H. (2019). Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak dan Fraksi Spons *Phyllospongia lamellosa* dari Perairan Tumbak, Minahasa Tenggara terhadap Pertumbuhan Mikroba *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans*. *Pharmacon*, 8(November), 815–824.
- Rollando, R., Prasetyo, Y. S. A., & Sitepu, R. (2019). Uji Antimikroba Minyak Atsiri Masoyi (*Massoia aromatica*) terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*. *Majalah Farmasi Dan Farmakologi*, 23(2), 52–57.
- Romadhonsyah, F., Amry, A. N. C., Fitria, A., Nugraha, A. T., Ramadani, A. P., & Khasanah, N. (2024). A Daun bangun-bangun (*Coleus amboinicus* L.) menunjukkan potensi signifikan sebagai agen antibakteri, termasuk terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. Kandungan fitokimia dalam daun ini berperan penting dalam aktivitas antibakterinya. Senyawa flavonoid yang terdapat. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 9(2), 419–430.
- Sari, A. I. P., Fitriana, F., & Amirah, S. (2024). Antibacterial Activity of Endophytic Fungi Isolated from Bidara Roots (*Ziziphus mauritiana* Lam.) Against Bacteria That Cause Skin Infections Using TLC-Bioutography. *Journal Microbiology Science*, 4(1), 31–41. <https://doi.org/10.56711/jms.v4i1.996>
- Shaikh, J. R., & Patil, M. (2020). Qualitative tests for preliminary phytochemical screening: An overview. *International Journal of Chemical Studies*, 8(2), 603–608. <https://doi.org/10.22271/chemi.2020.v8.i2i.8834>
- Simamora, A. C. Y., Yusasrini, N. L. A., & Putra, I. N. K. (2021). Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Tenggulun (*Protium javanicum* Burm. F) Menggunakan Metode Maserasi. *Itepa: Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan*, 10(4), 681–689.

- Suharyanto, & Prima, D. A. N. (2020). Penetapan Kadar Flavonoid Total pada Juice Daun Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas* L.) yang Berpotensi sebagai Hepatoprotektor dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Cendekia Journal of Pharmacy*, 4(2), 110–119.
- Sumarna, S., Islam, M. F., Irunsa, A., Maria, J., & Mandatjan, K. I. (2023). Phytochemicals Screening and Antibacterial Activity of *Teijsmaniadendron Holrungii* from West Papua. *TECHNO: JURNAL PENELITIAN*, 12(01), 20–27.
- Tawfick, M. M., Elshamy, A. A., Mohamed, K. T., & Menofy, N. G. El. (2022). Gut Commensal *Escherichia coli* , a High-Risk Reservoir of Transferable Plasmid-Mediated Antimicrobial Resistance Traits. *Infection and Drug Resistance*, 15(March), 1077–1091.
- Touaitia, R., Mairi, A., Ibrahim, N. A., Basher, N. S., Idres, T., & Touati, A. (2025). *Staphylococcus aureus* : A Review of the Pathogenesis and Virulence Mechanisms. *Antibiotics*, 2(14), 1–37.
- Ume, E. J., Waworuntu, O. A., & Homenta, H. (2025). Identifikasi Methicilin – Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) pada Tenaga Kesehatan di Ruang Intensive Care Unit (ICU) Rumah Sakit dr. J.H Awaloei Manado. *Cerdikia: Jurnal Ilmiah Indonesia*, 5(4), 1393–1400.
- Vazquez-armenta, F. J., Aros-corrales, M. O., Alvarez-ainza, M. L., Bernal-mercado, A. T., Ayala-zavala, J. F., Ochoa-leyva, A., & Lopez-zavala, A. A. (2025). Antibacterial and anti-virulence potential of plant phenolic compounds against *Vibrio parahaemolyticus*. *F1000 Research*, 12(1256), 1–20.
- Veiga, A., Toledo, G. T., Rossa, L. S., Mengarda, M., Stofella, N. C. F., Oliveira, L. J., Gonçalves, A. G., & Murakami, F. S. (2019). Colorimetric microdilution assay : Validation of a standard method for determination of MIC , IC 50 % , and IC 90 % of antimicrobial compounds. *Journal of Microbiological Methods*, 162(March), 50–61. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2019.05.003>
- Yusarini, N. L. A., & Darmayanti, L. P. T. (2024). Karakteristik Kimia Ekstrak Etanol Daun Tenggulun (*Protium javanicum*) Berdasarkan Tingkat Ketuaan Daun. *Jurnal Teknologi Pertanian*, 25(1), 67–76.
- Zaini, M., & Shofia, V. (2020). Skrining Fitokimia Ekstrak *Carica papaya* Radix, *Piper ornatum* Folium dan *Nephelium lappaceum* Semen Asal Kalimantan Selatan. *Jurnal Kajian Ilmiah Kesehatan Dan Teknologi*, 2(1), 15–28.