



Contents list available at JKP website

## Jurnal Kesehatan Perintis

Journal homepage: <https://jurnal.upertis.ac.id/index.php/JKP>



### **Aktivitas Antibakteri Fraksi N-Heksan, Etil Asetat, N-Butanol Daun Jambu Mete (*Anacardium occidentale*) terhadap Bakteri Penyebab Ulkus Diabetik (*Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*)**

**Pilar Tesalonika Wahyukurnia, Novena Adi Yuhara\*, Sarah Puspita Atmaja**

Universitas Kristen Immanuel Yogyakarta, Daerah Istimewa Yogyakarta, Indonesia

#### **Article Information :**

Received 16 November 2023; Accepted 29 December 2023; Published online 31 December 2023

\*Corresponding author: [novena@ukrimuniversity.ac.id](mailto:novena@ukrimuniversity.ac.id)

#### **ABSTRAK**

Daun jambu mete (*Anacardium occidentale L.*) mengandung senyawa flavonoid, tanin dan saponin yang memiliki aktivitas antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi minimum dan perbedaan zona hambat 5%, 10%, 20% ekstrak, fraksi n-heksan, etil asetat dan n-butanol daun jambu mete pada pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Metode fraksinasi yang digunakan adalah metode partisi. Ekstrak dan fraksi daun jambu mete dilakukan pengujian konsentrasi hambat minimum (KHM) dengan metode dilusi padat. Hasil KHM dilanjutkan dengan pengujian konsentrasi bunuh minimum (KBM). Dilakukan penapisan senyawa fitokimia dan kromatografi lapis tipis (KLT). Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna ( $p < 0,05$ ) antar konsentrasi ekstrak, fraksi etil asetat, n-butanol daun jambu mete terhadap diameter zona hambat pertumbuhan bakteri uji. Rata-rata terkuat diameter zona hambat bakteri *S.aureus* pada ekstrak 20% (14,5mm), fraksi etil asetat 20% (13,3mm), fraksi n-butanol 20% (12,23mm). Pada bakteri *E.coli* yaitu 20% ekstrak (10,6mm), fraksi etil asetat (15,3mm), fraksi n-butanol (9mm). Konsentrasi 5% ekstrak, fraksi etil asetat, n-butanol memiliki nilai KHM, namun tidak memiliki nilai KBM pada kedua bakteri uji. Fraksi n-heksan tidak memiliki zona hambat terhadap kedua bakteri uji. Kesimpulan dari penelitian ini fraksi N-Heksan tidak memiliki zona hambat terhadap pertumbuhan kedua bakteri, namun ekstrak, fraksi etil asetat dan n-butanol daun jambu mete mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus* dan *E.coli* dibandingkan kontrol negatif. Zona hambat yang dihasilkan tidak lebih kuat dibandingkan kontrol positif, kecuali pada fraksi etil asetat 20% memiliki diameter zona hambat sedikit lebih besar dan berbeda namun tidak signifikan ( $p > 0,05$ ) dibanding kontrol positif (15,33mm vs 15mm) terhadap bakteri *E.coli*.

Kata kunci : *Anacardium occidentale L.*, fraksi, *staphylococcus aureus*, *escherichia coli*, KLT

#### **ABSTRACT**

Cashew leaves (*Anacardium occidentale L.*) contain flavonoids, tannins and saponins which have antibacterial activity. This study aims to determine the minimum concentration and

differences in inhibition zones of 5%, 10%, 20% extract, *n*-hexane, ethyl acetate and *n*-butanol fractions of cashew leaves on the growth of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria. The fractionation method used is the partition method. Cashew leaf extracts and fractions were tested for minimum inhibitory concentration (MIC) using the solid dilution method. The MIC results are continued with minimum kill concentration (KBM) testing. Screening for phytochemical compounds and thin layer chromatography (TLC) was carried out. The results of the study showed that there was a significant difference ( $p < 0.05$ ) between the concentrations of the extract, ethyl acetate fraction, *n*-butanol of cashew leaves on the diameter of the growth inhibition zone for the tested bacteria. The strongest average diameter of the inhibition zone for *S. aureus* bacteria was in the 20% extract (14.5mm), 20% ethyl acetate fraction (13.3mm), 20% *n*-butanol fraction (12.23mm). In *E. coli* bacteria, namely 20% extract (10.6mm), ethyl acetate fraction (15.3mm), *n*-butanol fraction (9mm). The 5% extract concentration, ethyl acetate fraction, *n*-butanol had an MIC value, but did not have an MBC value for the two test bacteria. The *n*-hexane fraction did not have an inhibition zone against the two test bacteria. The conclusion from this research is that the *N*-Hexane fraction does not have an inhibitory zone against the growth of both bacteria, however the extract, ethyl acetate and *n*-butanol fractions of cashew leaves are able to inhibit the growth of *S. aureus* and *E. coli* bacteria compared to the negative control. The resulting inhibition zone was not stronger than the positive control, except that the 20% ethyl acetate fraction had a slightly larger diameter of the inhibition zone and was different but not significant ( $p > 0.05$ ) compared to the positive control (15.33mm vs 15mm) against bacteria *E. coli*.

**Keywords:** *Anacardium occidentale L*, extract, fraction, *staphylococcus aureus*, *escherichia coli*, TLC

## PENDAHULUAN

Ulkus diabetik disebabkan oleh tidak berfungsinya saraf dan pembuluh darah, sehingga dapat menyebabkan infeksi. Infeksi jika tidak ditangani dengan baik, menyebabkan terjadinya degenerasi pada luka yang berujung pada amputasi (Ruslan, 2016). Infeksi tersebut menyebabkan lamanya penyembuhan atau memperlambat proses penyembuhan, dan mengakibatkan deformasi. Prevalensi ulkus diabetik sekitar 41% dari populasi, yang sebagian besar ditemukan pada orang tua. Sebanyak 15% pasien DM mengalami ulkus diabetik dan 14-20% memerlukan amputasi. Amputasi kaki penderita ulkus diabetik terjadi sejalan dengan meningkatnya kematian atau morbiditas dari waktu ke waktu. Jumlah kematian meningkat menjadi 13%- 40% pada 1 tahun, setelah 3 tahun menjadi 35%-65%, dan setelah 5 tahun menjadi 39%-80% (Yekta et al., 2011).

Pada penelitian yang telah dilakukan di RSUD Dr. H. Abdul Moelek tercatat mikroorganisme pada ulkus diabetik yaitu *Staphylococcus aureus* sebesar 58%, *Escherichia coli* sebesar 17%. Menurut *International Working Group on the Diabetic Foot* (2015), pada kultur ulkus diabetikum

*Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif yang paling sering dijumpai. Menurut Spichler, Hurwitz, Armstrong et al. (2015), berdasarkan penelitian gram negatif berbentuk basil seperti *Escherichia coli*, lebih sering menimbulkan ulkus diabetikum di tempat yang bercuaca panas dan lembab. Kedua bakteri tersebut termasuk yang terbanyak mewakili bakteri gram positif dan gram negatif. (Rizqiyah et al., 2020).

Dalam rangka menangani terjadinya infeksi maka diperlukan antibiotik. Penggunaan antibiotik harus dilakukan dengan tepat, jika tidak dapat menyebabkan resistensi bakteri. Resistensi membutuhkan penggunaan antibiotik baru untuk mengobati infeksi sebelumnya. Saat ini, banyak alternatif tradisional berupa tanaman yang bersifat antimikroba/ antibiotik alami, dikembangkan untuk mengurangi kejadian resistensi antibiotik (Lestari, 2017), salah satunya yaitu daun jambu mete (Erviyaningsih, 2021). Pada penelitian ini menggunakan daun jambu mete terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* penyebab ulkus diabetik.

Berdasarkan penelitian sebelumnya menyatakan bahwa ekstrak etanol, fraksi

kloroform serta fraksi etil asetat daun jambu mete memiliki daya bunuh pada bakteri *Staphylococcus aureus* sensitif dan bakteri *Staphylococcus aureus* multiresisten, sedangkan pada fraksi metanol-air sampai konsentrasi 2% tidak menunjukkan adanya daya bunuh terhadap *Staphylococcus aureus* sensitif, dan sampai konsentrasi 3% tidak ada daya bunuh terhadap *Staphylococcus aureus* multiresisten, kandungan jambu mete yang didalamnya yaitu alkaloid, flavonoid, minyak atsiri dan fenol (Ratna et al., 2015). Pada artikel lain juga dinyatakan bahwa kandungan pada daun jambu mete yaitu ada variasi flavonoid, dengan sebagian besar quersetin glikosida, senyawa fenol dan flavonol, dari kandungan tersebut dapat digunakan sebagai antibakteri. Senyawa yang terkandung pada ekstrak dan fraksi daun jambu mete yaitu alkaloid, flavonoid, minyak atsiri, tanin dan fenol (Permatasari, 2020). Penelitian lain melakukan pengujian aktivitas antibakteri pada umbi bawang merah (*Allium cepa L.*) memperoleh hasil fraksi etil asetat yang mengandung senyawa fenolik, flavonoid, dan terpenoid memiliki zona hambat lebih besar pada pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dibandingkan dengan fraksi n-heksana dan 1-butanol (Octaviani, 2022). Penelitian lain menggunakan fraksi etil asetat, n-heksan, n-butanol, air pada Daun Trembesi (*Samanea saman* (Jacq.) Merr) menyatakan bahwa fraksi n-butanol memiliki aktivitas yang kuat pada bakteri *Staphylococcus aureus* karena mengandung golongan isoflavone yang bersifat antibakteri (Sinarsih et al., 2021). Pada penelitian ini menggunakan konsentrasi 5%, 10%, dan 20% ekstrak, fraksi n-heksan, etil asetat dan n-butanol daun jambu mete terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui konsentrasi yang terkecil menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* serta mengetahui perbedaan zona hambat konsentrasi 5%, 10%, 20% fraksi n-heksan, etil asetat dan n-butanol.

#### METODE PENELITIAN

Alat yang digunakan yaitu neraca analitik (Ohaus pioner®), cawan petri

(Pyrex®), tabung reaksi (Pyrex®), botol semprot, pipet volume, pipet tetes, botol semprot, *hot plate* dan *strirer*, oven memmert UN55, batang pengaduk L (Pyrex®), corong pisah, erelenmeyer (Pyrex®), chamber, lampu UV, *rotary evaporator*, Sendok tanduk, kaca arloji, *Laminar air flow*, mikropipet 5 µl, *Autoclave*, pH universal, plastic wrap, alat perkolasi, jarum ose (Pyrex®). Bahan yang digunakan yaitu, serbuk simplisia daun jambu mete 500 gram, aquades, etanol 96%, n-heksan, etil asetat, n-butanol, injeksi gentamisin, bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Lieberman Buchardad*, *Dragendroff*,  $FeCl_3$ , Nutrient agar (Axoid), Nutrient Broth.

Daun jambu mete diperoleh dari Perkebunan Manisrenggo, Klaten. Ekstraksi menggunakan metode perkolasi. Metode yang digunakan untuk fraksinasi ekstrak etanol daun jambu mete yaitu metode partisi. Filtrat yang diperoleh dari ekstrak dan fraksi-fraksi selanjutnya dipekatkan dengan *rotary evaporator* dan dikentalkan menggunakan *waterbath*. Dilakukan Penapisan Fitokimia untuk senyawa Flavonoid, Tanin, Saponin. Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) menggunakan plat KLT silika gel GF254. 5 µL tiap sampel diambil kemudian ditotolkan pada plat silika GF254, totalan ditunggu sampai kering kemudian dielusasi menggunakan fase gerak yang cocok.

Setelah muncul bercak kemudian dideteksi dengan uap amonia dengan cara pada permukaan plat diuapkan dengan uap amonia sambil diperiksa di bawah sinar UV 254 dan beberapa pereaksi semprot divisualisasikan di bawah sinar UV 254 nm dan UV 366 nm. Pereaksi semprot  $FeCl_3$  digunakan untuk mendeteksi senyawa tanin menghasilkan visualisasi biru, biru kehitaman, hijau dan hitam, *Dragendroff* untuk mendeteksi senyawa flavonoid pada UV 366 berfluoresensi warna kuning, hijau atau biru (Ratna et al., 2015), dan Pereaksi semprot *Lieberman Buchardad* menunjukkan hasil positif bila terdapat senyawa saponin yang ditandai dengan munculnya warna kuning, jingga dan hijau pada pengamatan UV (Widyaningrum et al., 2019). Jarak yang ditempuh spot-spot yang terdapat pada permukaan plat diukur dengan menggunakan persamaan nilai Rf.

Pembuatan media dilakukan dengan pembuatan larutan *Nutrient Agar* (NA) kemudian dituangkan ke cawan petri sebanyak 10 mL, setelah itu ditunggu hingga memadat dan masing-masing bakteri uji dipipet 0,1 mL. (Wilapangga & Syaputra, 2018).

Pembiakan bakteri dengan mengambil 1 ose hasil biakan murni, setelah itu disuspensikan dengan *Nutrient Broth* (NB) disesuaikan standar kekeruhan *mc farland* 0,5 (1x10<sup>8</sup> CFU/ml). Pengujian aktivitas dimulai dengan pembuatan kontrol positif, kontrol negatif, kontrol media secara aseptis kemudian diinkubasi pada waktu dan suhu yang telah ditentukan, yaitu suhu 37°C selama 18-24 jam, kemudian diukur diameter zona hambatnya (Nurjannah, 2017). Percobaan dilakukan dengan konsentrasi sediaan masing-masing ekstrak dan fraksi yaitu 5%, 10%, 20% digunakan metode *paper disk*. Alasan menggunakan konsentrasi tersebut karena pada penelitian Ratna *et al.*, (2015) menunjukkan bahwa konsentrasi 2% dan 3% tidak terdapat zona hambat dengan fraksi jambu mete (Ratna *et al.*, 2015), namun pada penelitian Permatasari (2020) konsentrasi 10% didapatkan hasil, sehingga peneliti akan menggunakan kelipatan 2 kali sesuai pada literatur (Permatasari, 2020).

Pengamatan dan pengukuran diameter diameter zona hambatan dilakukan setelah dilakukan inkubasi selama 1x24 jam. Analisis statistik akan dilakukan untuk tiap-tiap fraksi (kloroform, methanol-air, etil asetat) dengan konsentrasi 5%, 10%, dan 20%. Analisis data dilakukan dengan menggunakan Uji *Analysis of Variance* (*Anova*) dengan program SPSS. Dilakukan uji normalitas menggunakan *sapiro wilk* karena data kurang dari 50. Normalitas terpenuhi jika hasil uji signifikan dengan ( $\alpha=0,05$ ). Apabila nilai signifikan lebih kecil dari  $\alpha$  maka data terdistribusi normal. Selanjutnya dilakukan uji homogenitas menggunakan uji levene karena lebih dari 2 kelompok. Parameter yang diamati diameter zona hambat berupa zona jernih di sekitar *paper disk*. Data hasil pengujian kemudian dilakukan analisis secara statistik dengan metode *one way anova* (analisis varian satu arah) dengan menggunakan taraf kepercayaan 95% atau  $\alpha= 0,05$ , setelah itu dilanjutkan dengan uji Duncan.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Tanaman yang dilakukan pengujian dalam penelitian adalah Daun Jambu Mete (*Anacardium occidentale* L.) yang diperoleh di daerah Klaten, Jawa Tengah. Daun jambu mete telah dilakukan determinasi di Laboratorium Sistematika Tumbuhan Fakultas Biologi Universitas Gajah Mada. Determinasi dilakukan untuk mengetahui keaslian dari tanaman yang digunakan sehingga terhindar dari adanya campuran dalam tanaman yang digunakan (Klau *et al.*, 2021).

Pembuatan ekstrak daun jambu mete diawali dengan pengambilan daun di perkebunan Klaten, Jawa Tengah kemudian dilakukan tahapan pencucian, sortasi basah, pemotongan, pengeringan, penghalusan dan pengayakan. Tahap pertama dilakukan pencucian dan sortasi basah, kemudian daun dipotong kurang lebih 2 cm kemudian dikeringkan. Pengeringan dilakukan menggunakan oven pada suhu 50°C untuk menghindari senyawa yang akan diambil rusak (Warnis *et al.*, 2020). Sebagian diangin-anginkan di bawah sinar matahari dan ditutup kain hitam supaya sinar UV dari matahari tidak menimbulkan kerusakan kandungan senyawa bahan daun jambu mete (Dharma *et al.*, 2020). Setelah dikeringkan kemudian dilakukan penghalusan menggunakan blender, dan disaring dengan ayakan 40 mesh (Chrismonita, 2021). Hasil ayakan kemudian diekstraksi dengan metode perkolasi.

Serbuk dari daun jambu mete ditimbang sebanyak 40gram dan di basahi dengan pelarut etanol 96% sebanyak 80 mL, diaduk dan didiamkan selama 3 jam, sementara menyiapkan alat perkolator yang dilengkapi kertas saring dan kapas untuk menahan serbuk simplisia yang dimasukkan nanti. Hasil maserasi tersebut dipindahkan ke dalam perkolator sedikit demi sedikit. Tuangkan pelarut etanol 96% hingga dianggap cukup sampai cairan mulai menetes diatas simplisia dipertahankan terdapat 1-2 cm diatas permukaan sampel. Aduk dan tutup menggunakan *plastic wrap* dan didiamkan selama 24 jam. Siapkan pelarut pada alat perkolator untuk dibagian atas. Teteskan pelarut atas ke perkolator bawah dengan membuka keran dengan kecepatan 1 ml per menit, kemudian cairan yang didapat dipekatkan menggunakan

**Tabel 1. Hasil Rendemen Fraksi**

Sampel	Ekstrak	Fraksi	Rendemen
Fraksi N-Heksan	40 gram	0,45 gram	1,125%
Fraksi Etil asetat	40 gram	5,41 gram	13,525%
Fraksi N-Butanol	40 gram	3,05 gram	7,625%

*rotary evaporator* dan kemudian dikentalkan lagi diatas *waterbath* (Merisia, 2018). Didapatkan hasil rendemen sebanyak 14,7%. Hasil rendemen sudah sesuai dengan syarat pada farmakope herbal Indonesia tahun 2017 yaitu rendemen ekstrak kental yang baik yaitu tidak kurang dari 10% (Badriyah, 2022).

Fraksinasi memiliki tujuan untuk memisahkan senyawa berdasarkan kepolarannya. Fraksinasi yang digunakan yaitu metode ekstraksi cair-cair, dipilih metode ini karena pelarut yang digunakan sedikit namun menghasilkan substansi yang banyak. Ekstrak etanol 96% sebanyak 20gram dilarutkan dalam 200 ml aquadest (1:10) kemudian dimasukkan ke dalam corong pisah 500ml ditambahkan n-heksan dan dikocok selama 15 menit, kemudian didiamkan hingga membentuk 2 lapisan, dilakukan hingga n-heksan bening mendekati semula (Permatasari, 2020). Proses fraksinasi terus berlanjut dengan cara kerja yang sama menggunakan pelarut yang berbeda yaitu etil asetat dan kemudian n-butanol. Setelah didapatkan hasil fraksinasi kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dan *waterbath*. Diperoleh rendemen (tabel 1).

Penapisan fitokimia untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada ekstrak dan fraksi daun jambu mete meliputi penapisan senyawa flavonoid, saponin dan tanin.

Penapisan fitokimia pada ekstrak menunjukkan hasil positif pada flavonoid,

saponin dan tanin. Hasil ini sejalan dengan penelitian sebelumnya, yang mana ekstrak menunjukkan warna merah bata untuk senyawa flavonoid, busa yang stabil setelah pengocokan untuk senyawa saponin, menunjukkan warna hijau kehitaman untuk senyawa tanin (Astuty et al., 2022).

Penapisan fitokimia pada fraksi etil asetat memperoleh hasil yang positif pada senyawa flavonoid, saponin, dan tanin (tabel 2). Hasil ini sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya bahwa fraksi etil asetat daun jambu mete mengandung senyawa tersebut (Fitriandiny, 2012). Penapisan fitokimia pada fraksi n-heksan memperoleh hasil yang positif memiliki senyawa tanin, sedangkan untuk senyawa flavonoid dan saponin tidak menunjukkan hasil yang positif. Penapisan fitokimia n-butanol menunjukkan hasil positif pada senyawa flavonoid, saponin, tanin. Hasil uji fitokimia dari fraksi n-butanol dan fraksi n-heksan tidak dapat dibandingkan dengan penelitian sebelumnya karena belum ada penelitian yang membahas hal ini.

Uji kromatografi lapis tipis (KLT) dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa ekstrak etanol dan fraksi-fraksi daun jambu mete yang mempunyai aktivitas antibakteri. Identifikasi dilakukan dengan pereaksi semprot, fluoresensi atau radiasi sinar UV. Fase diam menggunakan silika GF254 nm. Fase gerak untuk ekstrak etanol digunakan n-heksan: etil asetat (3:2), fase gerak, fraksi n-heksan yaitu n-heksan: etil asetat (4:6). Fraksi etil asetat adalah n-heksana: etil asetat (3:2) (Ratna et al., 2015). Fase gerak n-butanol yaitu n-butanol: asam asetat: air (4:1:5) (Yulianis et al., 2023). Fase gerak tersebut merupakan fase gerak yang menunjukkan pemisahan terbaik yang telah dilakukan pada penelitian-penelitian sebelumnya. Pereaksi semprot yang digunakan untuk mendeteksi flavonoid dengan pereaksi

**Tabel 2. Hasil Penapisan Fitokimia**

Kandungan senyawa	Ekstrak	Fraksi N-Heksan	Fraksi Etil asetat	Fraksi N-Butanol
Flavonoid	+	-	+	+
Saponin	+	-	+	+
Tanin	+	+	+	+

Keterangan: (+): adanya senyawa (-): tidak adanya senyawa

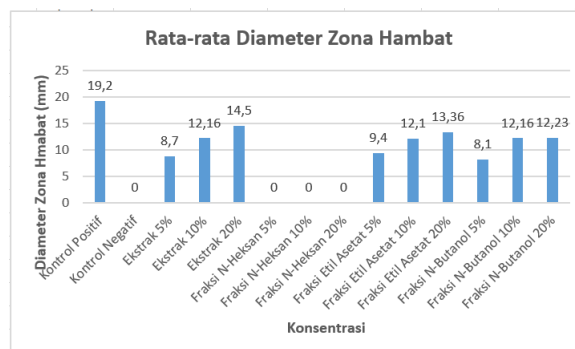
dragendrof, untuk mendeteksi tanin digunakan FeCl<sub>3</sub>, untuk mendeteksi saponin digunakan pereaksi anisaldehyd. Hasil uji tahap 1 yaitu untuk melihat kandungan senyawa yang ada di ekstrak dan fraksi-fraksi daun jambu mete. Hasil analisis KLT dilihat pada sinar UV 266 nm ekstrak etanol daun jambu mete diperoleh nilai hRf 0,25; 0,425; 0,5625; 0,7875; 0,875. Hasil ini menunjukkan adanya senyawa tanin berada pada nilai Rf 0,25-0,77 (Ferdinan et al., 2022) Adanya senyawa flavonoid nilai Rf antara 0,2 – 0,75 menunjukkan noda yang menyatakan adanya senyawa flavonoid (Hasan et al., 2023). Hasil menunjukkan adanya senyawa saponin karena nilai Rf saponin standar 0,565 (Mustiqawati et al., 2022) nilai Rf yang diperoleh 0,5625 menunjukkan hasil mendekati nilai saponin standar berdasarkan penelitian sebelumnya.

Hasil KLT untuk fraksi n-heksan didapatkan nilai Rf 0,8; 6; 7; 7,8. Menunjukkan adanya senyawa tanin terlihat pada hasil nilai Rf 7 dan 7,8 (Ferdinan et al., 2022). Hasil KLT untuk fraksi etil asetat menunjukkan bercak pada nilai Rf 0,0625; 0,25; 0,35; 0,5635; 0,625; 0,7 dan 0,75 menunjukkan adanya senyawa flavonoid dengan nilai Rf standar 0,2 -0,75 (Hasan et al., 2023), saponin dengan nilai standar 0,565 (Mustiqawati et al., 2022) dan tanin dengan nilai standar Rf 0,25-0,77 (Ferdinan et al., 2022). Hasil KLT fraksi n-butanol menunjukkan bercak pada nilai Rf 0,25; 4,6; dan 0,775 menunjukkan adanya flavonoid dengan nilai Rf standar 0,2 -0,75 (Hasan et al., 2023), tanin dengan nilai standar Rf 0,25-0,77 (Ferdinan et al., 2022)., dan saponin saponin dengan nilai standar 0,565 (Mustiqawati et al., 2022). Hasil ini sesuai dengan hasil penapisan fitokimia.

Dilakukan uji ke-2 sebagai penegasan dengan melihat kandungan senyawa terbanyak pada daun jambu mete yang memiliki aktivitas antibakteri. Kandungan terbanyak yang terdapat pada daun jambu mete yaitu flavonoid jenis kuersetin (Hutabarat et al., 2020). Dilakukan identifikasi senyawa flavonoid pada ekstrak dan fraksi-fraksi daun jambu mete menggunakan standar kuersetin. Nilai Rf standar kuersetin yaitu 0,69-0,81 (Hutabarat et al., 2020). Ekstrak etanol daun jambu mete mengandung flavonoid kuersetin dengan menunjukkan hasil yang sama untuk

standar kuersetin dan ekstrak, standar kuersetin berhenti dinilai Rf 0,7 dan ekstrak juga berdampingan memiliki nilai Rf 0,7. Pada uji KLT fraksi N-Heksan dengan standar kuersetin, standar kuersetin memperoleh nilai Rf 6,5 sedangkan untuk fraksi N-heksan memiliki nilai Rf 7,5 dan 7 sehingga tidak menunjukkan adanya flavonoid pada fraksi n-heksan. Pada uji KLT fraksi etil asetat menunjukkan adanya senyawa kuersetin ditunjukkan dengan kedua totalan berhenti secara bersama dengan nilai Rf 0,8. Hasil KLT fraksi N-butanol diperoleh nilai Rf 0,8125 dan nilai Rf standar kuersetin 0,8125 menunjukkan adanya flavonoid kuersetin.

Uji antibakteri dilakukan untuk mengetahui kemampuan ekstrak daun jambu mete, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi n-butanol dalam menghambat adanya pertumbuhan bakteri dengan melihat diameter zona hambat. Uji antibakteri *Staphylococcus aureus* dilakukan sebanyak 3 kali replikasi, dengan konsentrasi 5%, 10%, 20%, Kontrol positif menggunakan injeksi gentamisin 0,1% dan kontrol negatif menggunakan akuades. Hasil uji antibakteri yaitu ketiga konsentrasi n-heksan tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. besar diameter dari ketiga konsentrasi fraksi n-heksan yaitu 0 mm atau Fraksi etil asetat memiliki aktivitas antibakteri dengan rata-rata diameter dari setiap konsentrasi ditunjukkan pada gambar 1. Fraksi n-butanol memiliki aktivitas antibakteri, namun konsentrasi tertinggi pada pengujian zona hambatnya masih tidak lebih kuat dibanding kontrol positif. Berikut diagram peningkatan konsentrasi dengan zona hambat peningkatan konsentrasi dengan zona



**Gambar 1. Rata-rata diameter zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus***

**Tabel 3. Tabel Hasil Uji Duncan *Staphylococcus aureus***

Konsentrasi	Rerata Zona hambat
Ekstrak 5%	8,7000 <sup>b</sup> ± 0,75
Ekstrak 10%	12.1000 <sup>d</sup> ± 0,76
Ekstrak 20%	14,5000 <sup>e</sup> ± 0,50
Fraksi N-heksan 5%	0 <sup>a</sup>
Fraksi N-heksan 10%	0 <sup>a</sup>
Fraksi N-heksan 20%	0 <sup>a</sup>
Fraksi Etil Asetat 5%	9,3667 <sup>c</sup> ± 0,81
Fraksi Etil Asetat 10%	12,1000 <sup>d</sup> ± 0,85
Fraksi Etil Asetat 20%	13,2667 <sup>d</sup> ± 0,80
Fraksi N-Butanol 5%	8,1333 <sup>b</sup> ± 0,90
Fraksi N-Butanol 10%	12,1667 <sup>d</sup> ± 0,76
Fraksi N-Butanol 20%	12,2333 <sup>d</sup> ± 1,17
Kontrol Positif	19,2333 <sup>f</sup> ± 1,26
Kontrol Negatif	0 <sup>a</sup>

Keterangan: Notasi huruf yang terletak dibelakang angka menunjukkan hasil beda nyata pada tabel Duncan. Jika memiliki notasi huruf yang sama maka antar kelompok tidak menunjukan hasil beda nyata

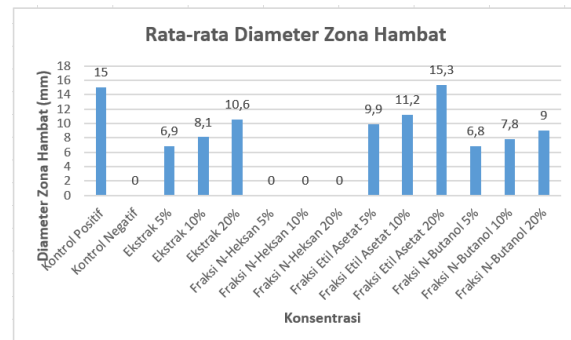
hambat.

Data diameter zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* kemudian diolah. Uji normalitas dilakukan untuk menunjukkan bahwa data yang diperoleh memiliki distribusi normal. Uji normalitas terpenuhi dengan hasil uji signifikansi ( $p > 0,05$ ). Uji normalitas ditunjukkan dengan nilai *P shapiro wilk*, pada hasil penelitian memenuhi hasil uji signifikansi ( $p > 0,05$ ) sehingga data penelitian memiliki distribusi normal. Uji homogenitas dilakukan untuk menunjukkan bahwa dua atau lebih sampel data yang diambil memiliki varian yang sama. Hasil uji homogenitas ditentukan dengan nilai *P levene test*, dengan nilai hasil 2.038 yang memenuhi hasil uji signifikansi ( $p > 0,05$ ). Uji *One way ANOVA* dilakukan setelah data terbukti terdistribusi normal dan homogen. Hasil uji *One way ANOVA* memenuhi hasil dengan nilai sig. 0,00 ( $p < 0,05$ ) yang menunjukkan bahwa data memiliki perbedaan bermakna.

Uji Duncan dilakukan setelah diperoleh hasil  $p < 0,05$  pada uji *One way ANOVA*. Uji Duncan dilakukan untuk menentukan nilai tengah treatment yang mana saja yang berbeda signifikan menggunakan uji Duncan dengan taraf 0,05 (tabel 3).

Uji Post hoc Duncan menyajikan secara berurutan zona hambat dari yang terendah hingga yang tertinggi, dan apabila zona hambat antar kelompok memiliki notasi huruf yang sama maka tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna ( $p > 0,05$ ), begitu sebaliknya (tabel 2 dan 3). Zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* pada semua seri konsentrasi tiap jenis fraksi signifikan lebih kecil dibanding dengan kontrol positif. Uji antibakteri *Escherichia coli* dilakukan sebanyak 3 kali replikasi, dengan konsentrasi 5%, 10%, 20%, Kontrol positif menggunakan injeksi gentamisin 0,1% dan kontrol negatif menggunakan akuades. Zona hambat dengan variasi konsentrasi terendah pada ketiga konsentrasi dari fraksi n-heksan yaitu 0 mm atau tidak memiliki aktivitas penghambatan terhadap bakteri *Escherichia coli*. Fraksi etil asetat memiliki aktivitas antibakteri yang ditunjukkan pada gambar 2. Fraksi n-butanol memiliki aktivitas antibakteri, namun konsentrasi tertinggi pada pengujian zona hambatnya masih tidak lebih kuat dibanding kontrol positif. Berikut diagram peningkatan konsentrasi dengan zona hambat (gambar 2).

Data diameter zona hambat terhadap bakteri *Escherichia coli* kemudian diolah. Uji normalitas terpenuhi dengan hasil uji signifikansi ( $p > 0,05$ ). Uji normalitas ditunjukkan dengan nilai *P shapiro wilk*, pada hasil penelitian memenuhi hasil uji signifikansi ( $p > 0,05$ ) sehingga data penelitian memiliki distribusi normal. Hasil uji homogenitas ditentukan dengan nilai *P levene test*, dengan nilai hasil 2.041 yang memenuhi hasil uji signifikansi ( $p > 0,05$ ). Hasil uji *One way ANOVA* memenuhi hasil



**Gambar 2. Rata-rata diameter zona hambat bakteri *Escherichia coli***

**Tabel 4. Tabel Hasil Uji Duncan *Escherichia coli***

Konsentrasi	Rerata Zona hambat
Ekstrak 5%	6,9000 <sup>b</sup> ± 1,26
Ekstrak 10%	8,1667 <sup>c</sup> ± 0,60
Ekstrak 20%	10,5667 <sup>f</sup> ± 1,50
Fraksi N-heksan 5%	0 <sup>a</sup>
Fraksi N-heksan 10%	0 <sup>a</sup>
Fraksi N-heksan 20%	0 <sup>a</sup>
Fraksi Etil Asetat 5%	9,9833 <sup>e</sup> ± 1,00
Fraksi Etil Asetat 10%	10,5667 <sup>g</sup> ± 0,50
Fraksi Etil Asetat 20%	15,3333 <sup>h</sup> ± 0,50
Fraksi N-Butanol 5%	6,8333 <sup>b</sup> ± 0,50
Fraksi N-Butanol 10%	7,8833 <sup>c</sup> ± 0,50
Fraksi N-Butanol 20%	9,0500 <sup>d</sup> ± 0,64
Kontrol Positif	15,000 <sup>h</sup> ± 1,26
Kontrol Negatif	0 <sup>a</sup>

Keterangan: Notasi huruf yang terletak dibelakang angka menunjukkan hasil beda nyata pada tabel Duncan. Jika memiliki notasi huruf yang sama maka antar kelompok tidak menunjukkan hasil beda nyata

dengan nilai sig. 0,00 < 0,05 yang menunjukkan bahwa data memiliki perbedaan bermakna.

Uji Duncan dilakukan setelah diperoleh hasil p < 0,05 pada uji *One way ANOVA* dengan taraf kepercayaan 0,05. Berikut tabel hasil uji Duncan dapat dilihat pada tabel 4. Uji Post hoc Duncan pada zona hambat bakteri *Escherichia coli* menunjukkan zona hambat tertinggi pada bakteri dihasilkan oleh fraksi etil asetat konsentrasi 20% (rata-rata zona hambat: 15,3 mm). Zona hambat tersebut tidak berbeda bermakna dengan kontrol positif (rata-rata zona hambat: 15 mm) yang artinya fraksi etil asetat dengan konsentrasi 20% memiliki kemampuan yang sama dengan kontrol positif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

Rerata zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* konsentrasi terendah pada semua seri konsentrasi fraksi n-heksan yaitu 0 mm, dan konsentrasi tertinggi pada ekstrak 20% yaitu 13,36 mm. Sedangkan rerata zona hambat *Escherichia coli* pada kelompok perlakuan berbagai konsentrasi menunjukkan konsentrasi terendah terdapat hambatnya tidak lebih kuat dibandingkan kontrol positif pada bakteri *Staphylococcus*

pada semua seri konsentrasi n-heksan yaitu 0 mm, dan konsentrasi tertinggi pada fraksi etil asetat 20% yaitu 15,3 mm. Hal ini menunjukkan konsentrasi yang lebih tinggi memiliki zona hambat yang semakin besar berdasarkan rerata diameter zona hambat.

Penentuan KHM dilakukan untuk mengetahui konsentrasi minimum ekstrak dan fraksi-fraksi daun jambu mete. Pada penelitian ini KHM dilakukan untuk mengetahui konsentrasi ekstrak dan fraksi-fraksi daun jambu mete terendah yang mampu menimbulkan penghambatan pada pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Media NB digunakan untuk uji KHM dengan variasi konsentrasi tiap ekstrak dan fraksi-fraksi 5% untuk bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan tabung yang berbeda untuk masing-masing konsentrasi. Kontrol positif menggunakan injeksi gentamisin 0,1%. Dipilih konsentrasi 5% karena ingin melihat dengan konsentrasi terkecil apakah bisa menghambat pada kedua bakteri. Hasil menunjukkan bahwa konsentrasi 5% ekstrak, fraksi etil asetat dan fraksi n-butanol menunjukkan hambatan bakteri sedangkan pada fraksi n-heksan tidak ada.

Penentuan nilai KBM pada penelitian ini menggunakan larutan uji konsentrasi 5% pada ekstrak, fraksi etil asetat, fraksi n-butanol, pada uji penentuan KHM sebelumnya. Hasil menunjukkan ekstrak, fraksi etil asetat, fraksi n-butanol tidak dapat membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* yang ditunjukkan dengan tumbuhnya bakteri pada media uji.

## KESIMPULAN

Terdapat perbedaan bermakna antar konsentrasi ekstrak, n-butanol, etil asetat daun jambu mete (*Anacardium occidentale L.*) terhadap diameter penghambatan pertumbuhan bakteri penyebab ulkus diabetik (*Staphylococcus aureus* dan bakteri *Escherichia coli*). Konsentrasi 5%, 10%, 20% ekstrak, fraksi n-butanol dan fraksi etil asetat daun jambu mete (*Anacardium occidentale L.*) mampu menghambat pertumbuhan bakteri penyebab ulkus diabetikum (*Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*), namun zona

*aureus*, kecuali fraksi etil asetat konsentrasi 20% pada bakteri *Escherichia coli* memiliki



rata-rata diameter zona hambat yang hampir sama atau sedikit lebih besar dari kontrol positif pada bakteri *Escherichia coli*. Fraksi n-heksan tidak memiliki zona hambat dan daya bunuh terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan bakteri *Escherichia coli*.

## REFERENSI

- Astuty, E., Aponno, R., & Hataul, I. I. (2022). Aktivitas Antibakteri dan Penapisan Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Jambu Mete *Anacardium occidentale* L. Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* *Escherichia coli*. *Medula*, 10.
- Badriyah, L. (2022). Analisis ekstraksi kulit bawang merah (*Allium cepa* L.) menggunakan metode maserasi. In *J. Sintesis Submitted: 15 Mei* (Vol. 2022, Issue 1).
- Chrismonita, I. (2021). *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji Australia (Psidium Guajava L) Terhadap Vakteri Shigella dysenteriae Secara In Vitro*.
- Dharma, M. A., Nocianitri, K. A., & Luh Ari Yusrini, N. L. A. (2020). *Pengaruh Metode Pengeringan Simplisia Terhadap Kapasitas Antioksidan Wedang Uwuh Effect Of Simplisia Drying Method To The Antioxidant Capacity Of Wedang Uwuh*. 9(1), 88–95.
- Ervianingsih. (2021). Formulasi Gel Antijerawat Dari Ekstrak Daun Jambu Mete (*Anacardium occidentale* L.) Dengan Variasi Konsentrasi HPMC Sebagai Gelling Agent. *Jurnal Kesehatan Luwu Raya*, 7(2), 162–167.
- Ferdinan, A., Sri, R. F., & Kurnianto, E. (2022). Fraksinasi dan Identifikasi Senyawa Tanin Dari Ekstrak Pandan Hutan (*Freycinetia sessiliflora* Rizki). *Journal Borneo Science Technology and Health Journal Artikel*. [www.journalborneo.com](http://www.journalborneo.com)
- Fitriandiny, I. N. (2012). *Uji efek penghambatan aktivitas  $\alpha$ -glukosidase fraksi dari ekstrak etil asetat daun jambu mete (*Anacardium occidentale* Linn.) dan penapisan fitokimia dari fraksi teraktif*.
- Hasan, H., Mu'thi, A., Suryadi, A., Bahri, S., Widiastuti, N. L., Farmasi, J., Olahraga, F., & Kesehatan, D. (2023). Penentuan Kadar Flavonoid Daun Rumpun Knop (*Hyptis capitata* Jacq.) Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis. *Journal Syifa Sciences and Clinical Research (JSSCR)*, 5. <https://doi.org/10.37311/jsscr.v5i2.19371>
- Hutabarat, M. R. T., Hanifah, F. N., Hadijah, S., Winarso, D., & Murwani, S. (2020). Pemberian Ekstrak Etanol Daun Jambu Mete (*Anacardium occidentale*) dalam Reduksi Kadar IL-6 dan Peningkatan Kadar SOD pada Mencit Fibrosis Hepar yang Diinduksi CCl<sub>4</sub>. *Jurnal Sain Veteriner*, 38(1), 12–19. <https://doi.org/10.22146/jvs.49070>
- Klau, M. H. C., & Hesturini, R. J. (2021). Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Dandang Gendis (*Clinacanthus nutans* (Burm F) Lindau) Terhadap Daya Analgetik Dan Gambaran Makroskopis Lambung Mencit. *Jurnal Farmasi & Sains Indonesia*, 4(1), 6–12. <https://doi.org/10.52216/jfsi.v4i1.59>
- Lestari, W. C. (2017). *Efek Antibakteri Uap Minyak Antsiri Bunga Cengkeh (Syzygium aromaticum L.) Terhadap Pertumbuhan Escherichia coli DAN Staphylococcus aureus Dengan Metode Gaseous Contact [Skripsi]*.
- Merisia. (2018). *Uji Ekstrak Batang Sereh (Cymbopogon nardus (L.) Rendle) Dalam Membunuh Larva Aedes aegypti*.
- Mustiqawati, E., & Yolandari, S. (2022). *Identifikasi Senyawa Saponin Ekstrak Daun Jeruk Nipis (Citrus aurantifolia S.) Dengan Kromatografi Lapis Tipis* (Vol. 5, Issue 1). <http://journal.unpacti.ac.id/index.php/JPP>

- Nurjannah, R. (2017). *Uji Aktivitas Bakteri Metode Difusi Sumuran*.
- Octaviani, M. (2022). Antibacterial Activity of Fraction of *Allium cepa* L. Tubers. In *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology Journal Homepage* (Issue 1). <http://jurnal.unpad.ac.id/ijpst/>
- Permatasari, D. A. (2020). *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Dan Fraksi Daun Jambu Mete (Anacardium occidentale Linn.) Terhadap Propionibacterium acnes Menggunakan Metode Difusi Sumuran*.
- Ratna, Y. R. R., Utari, S. A., Fathiana, Z., Rahmatillah, A., & Trisharyanti K, I. D. (2015). Daya Antibakteri Ekstrak dan Fraksi-Fraksi Daun Jambu Mete (*Anacardium occidentale* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Sensitif dan Multiresisten. *JURNAL ILMU KEFARMASIAN INDONESIA*, 57162(1), 103–110.
- Rizqiyah, H., Umiana Soleha, T., Hanriko, R., & Apriliana, E. (2020). *Pola Bakteri Ulkus Diabetikum Pada Penderita calabura L) Sebagai Analgetik*. In *Avicenna Journal of Health Research* (Vol. 2, Issue 1).
- Wilapangga, A., & Syaputra, S. (2018). Analisis Antibakteri Metode Agar Cakram dan Uji Toksisitas Menggunakan BSLT (Brine Shrimp Lethality Test) Dari Ekstrak Metanol Daun Salam (*Eugenia Polyantha*). In *Brine Shrimp Lethality Test) Dari Ekstrak Metanol Daun Salam* (Vol. 2).
- Yekta, Z., Pourali, Ghasemi-rad, M., Ravanyar, & Nezhadrahim. (2011). Clinical and behavioral factors associated with management outcome *Diabetes Melitus di RSUD Dr. H. Abdul Moeloek*.
- Ruslan, D. K. (2016). *Hubungan Antara Hubungan Keluarga dengan Harga Diri Pada Pasien Ulkus Diabetik Di Poliklinik Penyakit Dalam RSUD Dr. Moewardi*.
- Sinarsih, N. K., Susannah Rita, W., & Puspawati, N. M. (2021). Aktivitas Antibakteri Fraksi Ekstrak Etanol Daun Trembesi (*Samanea saman* (Jacq.) Merr) terhadap *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Applied Chemistry Research* |, 1, 2549–3671. <https://doi.org/10.23887/ijacr-undiksha>
- Warnis, M., Adelia Aprilina, L., & Maryanti, L. (2020). *Pengaruh Suhu Pengaruh Simplisia Terhadap Kadar Flavonoid Total Ekstrak Daun Kelor (Moringa oleifera L.)*.
- Widyaningrum, N., Saptuti, S., Tria Agustina, V., & Sulistiyah, W. (2019). Identifikasi Kromatografi Lapis Tipis Dan Efektivitas Ekstrak Etil Asetat Daun Talok (*Muntingia* in hospitalized patients with diabetic foot ulcer. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy*, 371. <https://doi.org/10.2147/dms.o.s25309>
- Yulianis, Maysenta, S., & Hamidatul, S. (2023). *Identifikasi Senyawa Flavonoid Pada Fraksi N-Butanol Bunga Bugenvil Ungu (Bougenvillea spectabilis) DENGAN* (Vol. 06, Issue 1).
- Yuliasuti, R. A., Andriany, M., & Putri, E. (2019). *Kejadian Derajat Luka Diabetes Tidak Berhubungan Dengan Nilai Resiko Diabetic Foot Ulcer*.