



Antibacterial Activity And Phytochemical Screening From Chromatography Fraction Of Ethanol Extract Of Sarang Banua (*Clerodendrum fragrans* Vent Willd) Against *Salmonella enterica*

Murniaty Simorangkir* and Ade Pratiwi Maha

Chemistry Department, Faculty of Mathematics and Sciences, Medan State University, Medan 20221, Indonesia

*Email : murniatysimorangkir@unimed.ac.id

ABSTRACT

Ethanol extract of sarang banua leaves (*Clerodendrum fragrans*) has biological activity. This study aims to isolate the fraction of ethanol extracts of Sarang Banua leaves (*Clerodendrum fragrans*) and test their antibacterial activity against *Salmonella enterica*. The isolation method uses the vacuum liquid chromatography method, with eluent *n*-hexane, ethyl acetate and methanol with increasing polarity levels. Antibacterial activity was carried out by the inhibitory test, the MIC (minimum inhibitory concentration) and MBC (minimum bactericidal concentration). The results showed that the FC fraction chromatographic results of the vacuum column of ethanol extract of Sarang Banua leaf (*Clerodendrum fragrans*) had antibacterial activity against *Salmonella enteric* with a strong inhibitory power (inhibitory zone 18.25 mm), MIC value of 125 µg / mL and MBC value of 125 µg / mL are included in the medium category. Inhibition, MIC and MBC values of chloramphenicol (positive control) against *S. enterica* were 17.40 mm; 31.2 µg / mL and 62.5 µg / mL. In the FC fraction there are higher amounts of secondary metabolites flavonoids, tannins, as well as small amounts of alkaloids, saponin, steroids & triterpenoids.

Keywords: Antibacteria, *Salmonella enterica*, Antibacterial activity

I. Pendahuluan

Indonesia merupakan negara tropis yang mempunyai berbagai ragam tumbuhan yang menyimpan metabolit sekunder yang dapat dimanfaatkan untuk kepentingan masyarakat. Penelitian pengujian aktivitas biologis dari tumbuhan terus berkembang, dalam usaha eksplorasi tumbuhan sebagai bahan baku obat herbal. Berdasarkan hasil beberapa penelitian yang telah berkembang, senyawa yang paling mudah ditemukan pada tumbuhan adalah metabolit sekunder diantaranya alkaloid, flavonoid, steroid, triterpenoid, kumarin dan lain-lain. Senyawa aktif pada tumbuhan tersebut dapat dijadikan sebagai

bahan obat herbal antara lain antioksidan, antibakteri, penambah aroma parfum, insektisida, aroma makanan dan lain sebagainya.

Bakteri merupakan agen penyebab infeksi yang menyebabkan terjadinya proses invasi dan pembiakan mikroorganisme di dalam jaringan tubuh. Penelitian bioaktif berbagai tumbuhan terus dilakukan untuk pengembangan bahan baku obat herbal antibakteri. Simorangkir, dkk melaporkan bahwa ekstrak daun ranti hitam (*Solanum blumei* Nees ex Blume) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Salmonella typhimurium*. Hasil penelitian tersebut menunjukkan secara berurutan ekstrak daun ranti hitam mempunyai aktivitas antibakteri

tertinggi adalah ekstrak *n*-heksan 5,0% (23,95 mm), ekstrak etanol 5,0% (22,5 mm), dan ekstrak etil asetat 5,0% (14,1 mm).¹ Hasil penelitian Abakar *et al* menunjukkan bahwa ekstrak getah tanaman lebih efektif dari pada ekstrak daun *Aloe vera* terhadap semua uji mikroorganisme dengan menggunakan teknik difusi. Diameter rata - rata zona tertinggi ditunjukkan oleh ekstrak getah air (100µg/ml) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bacillus subtilis* (47mm), sedangkan yang terendah ditunjukkan oleh ekstrak daun (100µg/ml) terhadap semua uji mikroorganisme (12-14mm) kecuali *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus* yang menunjukkan resist (0,0 mm). Konsentrasi hambat minimum (MIC) menunjukkan $\leq 6,25$ µg/mL untuk hampir semua uji mikroorganisme dan berbagai jenis ekstrak kecuali ekstrak aseton dari daun yang menunjukkan MIC ≥ 50 µg/mL.²

Sarang banua adalah salah satu tanaman yang banyak ditemukan di daerah Simalungun dan digunakan masyarakat sebagai tanaman obat tradisional. Hasil determinasi “Herbarium Bogoriense” bidang Botani Pusat Penelitian Biologi – LIPI Bogor, tanaman sarang banua adalah *clerodendrum fragrans* termasuk family verbanaceae (Juni, 2017). Udayan, *et al* melaporkan bahwa ekstrak etanol kasar daun *Clerodendrum philippinum* (salah satu spesies dari genus *Clerodendrum* di India) mengandung flavonoid, steroid, glikosida, senyawa fenolik, tanin, saponin, karbohidrat, alkaloid, minyak tetap dan lemak.³ Simorangkir, *et al*. melaporkan bahwa ekstrak *n*-heksana daun sarang banua (*C. fragrans* Vent Willd) mengandung metabolit sekunder alkaloid, steroid dan favonoid, sedangkan pada ekstrak etil asetat terdapat alkaloid, steroid, saponin, tannin dan ekstrak etanol mengandung alkaloid, triterpenoid, flavonoid, saponin, tannin dan kuinon.⁴ Hasil penelitian Simorangkir, *et al* menunjukkan bahwa ekstrak daun sarang banua (*C. fragrans* Vent Willd) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* dan *E.coli*⁵ dan ekstrak etanol *C. fragrans* mempunyai aktivitas tertinggi terhadap *Salmonella enterica* dibandingkan ekstrak *n*-heksana dan ekstrak etilasetat.⁶

Berdasarkan uraian di atas penelitian dilakukan tentang aktivitas antibakteri dari fraksi hasil pemurnian dengan kromatografi ekstrak etanol daun sarang banua (*C. fragrans* Vent Willd)

terhadap bakteri *Salmonella enterica* dan skrining fitokimia dari fraksi aktif tersebut.

II. Metodologi Penelitian

2.1. Bahan kimia, peralatan dan instrumentasi

Sampel dalam penelitian ini adalah daun sarang banua (*Clerodendrum fragrans*) yang termasuk dalam suku/family Verbenaceae, yang diambil dari Simangappu, Desa Raya Usang, Kecamatan Dolok Masagal, Kabupaten Simalungun, Sumatera Utara. Tumbuhan tersebut telah diidentifikasi /determinasi oleh “Herbarium Bogoriense” bidang Botani, Pusat Penelitian Biologi LIPI Cibinong–Bogor. Bahan kimia yang digunakan adalah kloramfenikol, *Mueller Hinton Agar* (MHA) (Oxoid, UK), akuades steril, etanol 95% p.a., DMSO (dimetil sulfoksida) (Emerck), silica gel 1.07733.1000, bakteri *Salmonella enterica* ATCC 14028 (Laboratorium Biologi FMIPA UNIMED), *Muller-Hinton Agar* (MHA), *Muller-Hinton Broth* (MHB), aluminium foil, *blank disc* (Oxoid, UK) dan *chloramphenicol disc* (Oxoid, UK), serta etanol 96% teknis untuk maserasi. Peralatan yang digunakan adalah cawan petridish, beaker glass (approx), erlenmeyer (pyrex), tabung reaksi (pyrex,), corong buchner, gelas ukur (pyrex), ose, kapas, tissue, *cling wrap*, kertas whatman, *vacuum rotary evaporator* (Heidolph), inkubator (memmert), autoklaf (Tomy), oven (memmert), *Laminar flow* (18-oneV915S), hot plate dan alat-alat yang umum digunakan di laboratorium mikrobiologi dan organik.

2.2. Prosedur penelitian

Ekstraksi Daun Sarang Banua (*Clerodendrum fragrans*)

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi. Sebanyak 4,0 kg daun sarang banua segar dikeringkan dalam ruangan, dihaluskan dan dimaserasi dengan pelarut yang bertingkat kepolarannya (*n*-heksana, etilasetat dan etanol), masing masing selama 3 x 24 jam. Ekstrak etanol hasil maserasi disaring dan filtrat diuapkan menggunakan *rotary evaporator*, diperoleh ekstrak etanol kental daun sarang banua.

Pemurnian Ekstrak Etanol Daun Sarang Banua (*Clerodendrum fragrans* Vent Willd)

Pemurnian ekstrak etanol daun sarang banua dimulai dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) ekstrak etanol daun sarang banua. Hasil profil kromatogram kemudian disinari dengan sinar UV pada gelombang panjang dan pendek, sebagai penampak bercak digunakan serum sulfat 10% dalam metanol dan dipanaskan diatas plat panas. Dari hasil pengamatan kromatogram KLT

tersebut diperoleh pelarut sebagai fase gerak yang sesuai untuk digunakan pada kromatografi kolom vakum (KVC). Kemudian ekstrak etanol daun sarang banua difraksinasi dengan kromatografi kolom vakum dengan fase diam berupa silika gel dan pemilihan fase gerak didasarkan pada orientasi yang telah dilakukan sebelumnya menggunakan KLT. Diameter tabung kolom 9,5cm, tinggi 10 cm diisi dengan silika gel $\frac{3}{4}$ dari isi tabung dengan pada bagian bawah dilapisi dengan kertas saring, silika kemudian diisi dengan perlahan-lahan kemudian dipadatkan agar tidak ada zat yang terlewat saat proses isolasi. Pada bagian atas dilapisi dengan kertas saring. Kemudian ekstrak etanol daun *C. fragrans* dimasukkan ke dalam kolom dan secara perlahan-lahan pelarut fase gerak dialirkan berdasar variasi perbandingan pelarut dan kenaikan kepolarannya. Eluen ditampung dalam botol/vial dan dilakukan uji KLT. Eluen pada vial/botol yang sama kromatogram Rfnya digabungkan menjadi fraksi fraksi.

Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Kromatografi Kolom KVC Ekstrak Etanol Daun *C. fragrans* Pembuatan Media dan Sterilisasi

Media pertumbuhan bakteri dibuat menggunakan media *Muller-Hinton Agar* (MHA). Serbuk MHA ditimbang sebanyak 38,0 gr dan dicampur dengan 1 L akuades, sedangkan untuk *Muller-Hinton Broth* (MHB) dilarutkan sebanyak 21,0 gr dalam 1L akuades. Kemudian masing-masing larutan dipanaskan dan diaduk menggunakan *stirer* diatas *hotplate* hingga mendidih. Cawan petri, tabung reaksi, beserta wadah yang telah dicuci bersih dan dikeringkan dibungkus dengan kertas dan plastik, sedangkan kertas cakram dimasukkan ke dalam cawan petri bersih. Media MHA, MHB dan semua alat disterilisasi dalam autoklaf 121°C selama 15 menit.

7

Peremajaan dan Pembuatan Suspensi Bakteri

Bakteri yang akan digunakan terlebih dahulu dibiakkan sebelum digunakan untuk pengujian. Jarum ose yang digunakan terlebih dahulu dipanaskan dengan lampu spiritus, kemudian didinginkan selama 30 detik. Dengan jarum ose tersebut diambil bakteri *Salmonella enterica* ATCC 14028 dan dimasukkan ke dalam cawan petri yang berisi MHA, lalu dimasukkan ke dalam inkubator untuk diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Kultur bakteri tersebut selanjutnya

diambil sebanyak satu ose dan diinokulasi ke tabung reaksi yang berisi 50 mL NaCl fisiologis 0,9 % lalu divortex hingga kekeruhannya mencapai standar McFarland 0,5. Pensuspensian bakteri ke dalam NaCl 0.9 % sama dengan pengenceran bakteri 10^{-6} CFU/mL (Standar McFarland 0,5).⁸

Uji Daya Hambat Metode Difusi Cakram Kertas

Uji difusi cakram kertas diawali dengan memasukkan 100 μ L inokulum ke atas media agar, kemudian diratakan menggunakan *Sprider*, didiamkan kurang lebih 5 menit, kemudian diletakkan cakram sedemikian sehingga masing-masing cakram pada permukaan plat berjarak 24 mm. Cakram kertas ditekan kuat pada permukaan agar sehingga dapat dipastikan cakram kontak langsung dengan inokulum plat agar. Selanjutnya diatas setiap cakram kertas diteteskan 20 μ L larutan uji, DMSO (kontrol negatif) dan chloramphenicol disc (Oxoid,UK) sebagai kontrol positif. Kemudian plat agar ditutup dan ditempatkan ke dalam inkubator pada suhu 37°C. Setelah 16-18 jam diinkubasi, setiap plat diperiksa. Munculnya zona hambat pertumbuhan bakteri dapat dilihat dari timbulnya zona bening di sekitar cakram. Selanjutnya diukur menggunakan jangka sorong, sehingga diperoleh diameter zona hambat pertumbuhan bakteri. Kontrol positif yang digunakan adalah cakram antibiotik kloramfenikol 30 μ g (Oxoid,UK), sedangkan kontrol negatif yang digunakan adalah pelarut DMSO.^{5,7,8,9}

Penentuan Minimum Inhibitory Concentration (MIC) dengan Metode Mikrodilusi (CLSI, 2012 M07-A9)

Disiapkan larutan uji dengan melarutkan sampel dalam pelarut DMSO dengan konsentrasi sebesar 1000 μ g/mL. Penentuan MIC dilakukan dengan cara memasukkan media cair MHB yang sudah disuspensi dengan bakteri dimasukkan ke dalam setiap lubang *microplate* sebanyak 100 μ L. Kolom pertama dan kedua dari mikroplate masing-masing diisi dengan 100 μ L media cair (kontrol negatif), sedangkan untuk kolom kedua diisi dengan 100 μ L media air yang tersuspensi bakteri (kontrol positif). Larutan uji 1000 μ g/mL dimulai dari kolom dua belas seri konsentrasi larutan dilakukan dengan memindahkan 100 μ L larutan dari lubang dua belas ke lubang sebelas, dari lubang sebelas diambil lagi sebanyak 100 μ L dan dimasukkan ke lubang sepuluh, hal yang sama

dilakukan sampai ke lubang tiga. Jumlah larutan dalam masing-masing lubang adalah 100 µL. *Microplate* selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.^{2,7}

Penentuan *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC) dengan Metode Mikrodilusi

Uji MBC dilakukan dengan inokulasi semua larutan uji, dengan cara mengambil sebanyak 10 µL dari setiap lubang dari plat *microplate*, kemudian ditumbuhkan diatas media agar MHA pada suhu 37°C selama 24 jam. MBC didefinisikan sebagai konsentrasi terendah dari larutan uji yang dapat membunuh bakteri.^{2,7}

Uji Fitokimia

a) Uji Senyawa Golongan Flavonoid

Uji keberadaan senyawa golongan flavonoid dilakukan dengan menambahkan dua tetes larutan FeCl₃ 5 % pada lima tetes sampel pada plat tetes. Terjadinya perubahan warna menjadi kehijauan atau biru kehitaman menunjukkan adanya flavonoid.

b) Uji Senyawa Golongan Alkaloid

Uji keberadaan senyawa golongan alkaloid dilakukan dengan menambahkan 0,5gr sampel dengan 1 mL HCl 2N dan ditambah dengan 9 mL aquades selanjutnya ditambah dengan 5 tetes pereaksi Dragendorff, adanya endapan merah bata menandakan adanya golongan alkaloid.

c) Uji Senyawa Golongan Steroid dan Triterpenoid

Uji keberadaan senyawa golongan steroid dan terpenoid dilakukan dengan menambahkan 0,5gr fraksi dengan 10 tetes asetat anhidrat ditambah dengan 2 tetes asam sulfat pekat dikocok dan dibiarkan beberapa menit, timbulnya warna merah dan ungu menunjukkan positif triterpenoid, timbulnya warna hijau dan biru menunjukkan positif steroid.

c) Uji Senyawa Golongan Saponin

Uji keberadaan senyawa golongan saponin dilakukan dengan menambahkan 1 mL sampel dengan 10 mL aquadest dikocok hingga 10 menit dan meninggalkan busa lalu ditunggu hingga 10 menit jika busa tidak hilang tambahkan dengan HCl 2N. Jika busa tidak hilang menandakan adanya senyawa saponin.

d) Uji Senyawa Golongan Tanin

Uji keberadaan senyawa golongan tanin dilakukan dengan menambahkan 0.5 gr fraksi dengan 10 mL akuades dan ditambah dengan 3

tetes FeCl₃ 1%, timbulnya warna hijau kehitaman menunjukkan positif mengandung tannin.^{4,10,11}

III. Hasil dan Diskusi

3.1. Analisis hasil penelitian

Hasil fraksinasi ekstrak daun sarang banua disajikan pada Tabel 1.

Table 1. Hasil Fraksinasi Ekstrak Etanol Daun Sarang Banua Menggunakan Kromatografi Kolom Vakum

Fraksi Gabungan	No. Tabung	Fase Gerak Kolom	Berat (g)
FA	1-2	Hex : EtilAc (9:1)	0,14
FB	3-7	Hex : EtilAc (8:2 ~ 4:6)	1,10
FC	8-19	Hex : EtilAc (7:3) ~ EtilAc : Met (1:9)	3,80
FD	20	Metanol	0,32

Dari keempat fraksi gabungan tersebut, fraksi FC yang paling banyak jumlahnya dan dilakukan uji aktivitas antibakteri terhadap fraksi gabungan FC.

Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

Diameter zona bening hasil uji daya hambat fraksi FC terhadap *Salmonella enterica* dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Diameter Zona Hambat Fraksi FC Terhadap *Salmonella enterica*

Zat Uji	Status	Diameter Zona Hambat (mm)		
		d ₁ (mm)	d ₂ (mm)	Rataan (mm)
Fraksi Kromat KVC (1%)	FC Sampel Uji	19,6	16,9	18,25±1,35
DMSO	kontrol negatif	0	0	0
Kloramfenicol	kontrol positif	15,9	18,9	17,40 ±1,50

Pada penelitian ini DMSO digunakan sebagai pelarut sampel fraksi FC dan tidak menghasilkan zona bening. Hal ini menunjukkan bahwa pelarut DMSO tidak memiliki aktivitas antibakteri. Fraksi FC hasil kromatografi kolom vakum ekstrak daun sarang banua (*Clerodendrum fragrans*) 1%

memiliki rata-rata zona hambat terhadap bakteri *Salmonella enteric* sebesar 18,25±1,35.

Menurut Davis dan Stout, aktivitas antibakteri dapat dikatakan lemah jika diameter zona hambat jika lebih kecil atau sama dengan 5 mm, dikatakan sedang jika zona hambat 5-10 mm, dikatakan kuat jika zona hambat 10-19 mm dan dikatakan sangat kuat jika zona hambatnya lebih besar atau sama dengan 20 mm.⁹ Berdasarkan hal ini, fraksi FC hasil kromatografi kolom vakum ekstrak daun sarang banua (*Clerodendrum fragrans*) 1% memiliki aktivitas antibakteri kategori kuat terhadap bakteri *Salmonella enteric*.

Besar potensi daya hambat fraksi FC hasil kromatografi kolom vakum ekstrak daun sarang banua jika dibandingkan kloramfenicol (kontrol positif) adalah sebesar 104,88% (18,25/17,40 X 100%).

Hasil Penentuan MIC (Minimum Inhibitory Concentration) dan MBC (Minimum Bactericidal Concentration)

Data hasil pengukuran MIC dan MBC dari fraksi FC disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil uji MIC dan MBC

No	Zat Uji	Bakteri yang digunakan <i>S. enterica</i>	
		MIC (µg/mL)	MBC (µg/mL)
1	Kloramfenikol (5000 ppm)	31,25	62,5
2	Fraksi FC (10000 ppm)	125	125

Hasil penelitian diperoleh nilai MIC dan MBC dari fraksi FC sama yaitu 125 µg/mL. Hal menunjukkan bahwa konsentrasi minimum fraksi FC untuk dapat menghambat (MIC) dan membunuh (MBC) bakteri *Salmonella enterica* adalah 125 µg/mL. Hal ini memperlihatkan bahwa nilai MIC dan MBC pada fraksi FC masih lebih tinggi, jika dibandingkan dengan antibiotik kloramfenikol. Nilai MBC kloramfenikol pada bakteri *S. enterica* yaitu 62,5 µg/mL sedangkan untuk nilai penghambat (MIC) yaitu 31,25 µg/mL.

Hasil Uji Fitokimia

Hasil uji skrining fitokimia fraksi FC disajikan pada Tabel 4.

Table 4. Hasil Uji Skrining Fitokimia Fraksi FC

No	Uji Fitokimia	Fraksi FC
1.	Alkaloid	+
2.	Flavonoid	+++
3.	Saponin	++
4.	Steroid & Triterpenoid	++
5.	Tanin	+++

Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi FC hasil kromatografi dari ekstrak etanol daun sarang banua (*Clerodendrum fragrans*) mengandung lima golongan senyawa metabolit sekunder yaitu flavonoid dan tannin dalam jumlah lebih banyak dari saponin, steroid & triterpenoid, dan alkaloid.

Fraksi FC dari hasil kromatografi kolom ekstrak etanol daun *Clerodendrum fragrans* memiliki rata-rata zona hambat terhadap bakteri *Salmonella enteric* sebesar 18,25±1,35 termasuk dalam kategori antibakteri kuat terhadap bakteri *Salmonella enteric*. Fraksi FC banyak mengandung flavonoid dan tannin yang bersifat polar. Simorangkir *et al* dan Moore *et al*, menyatakan bahwa senyawa dalam ekstrak polar dapat mudah berpenetrasi pada dinding sel bakteri gram negatif karena adanya gugus hidrofilik.

Hal ini menyebabkan terhambatnya pertumbuhan pada bakteri *Salmonella enteric* yang dapat mengganggu pertumbuhan pada dinding sel bakteri sehingga terjadi lisis.^{5,12} Menurut Achmad, flavonoid merupakan kelompok senyawa fenol terbesar di alam.¹³ Masduki menambahkan bahwa flavonoid yang terdapat di dalam obat tradisional dapat menghambat pertumbuhan bakteri.¹⁴ Diduga penghambatan pertumbuhan *S. enterica* juga karena ada efek fenolik dari flavonoid yang terdapat di dalam fraksi FC dari ekstrak daun sarang banua (*Clerodendrum fragrans* Vent Willd).

Bakteri *Salmonella enterica* adalah termasuk golongan bakteri gram negatif. Menurut Geo *et al.*, dinding sel bakteri gram negatif mengandung gugus protein yang disebut porin yang membentuk pori-pori hidrofilik pada lapisan membran luar sel sehingga senyawa polar dapat lebih mudah menembus dinding sel bakteri

Salmonella enterica.¹⁵ Dzulkarnain *et al.* juga mengemukakan bahwa tannin mempunyai sifat sebagai anti spasmolitik, yang mengkerutkan usus sehingga gerak peristaltic usus berkurang. Akan tetapi, efek spasmolitik ini kemungkinan dapat mengkerutkan dinding sel atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas itu sendiri. Akibat terganggunya permeabilitas, sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati.¹⁶ Aktivitas antibakteri fraksi FC kemungkinan juga disebabkan karena adanya tannin yang terdapat di dalam fraksi FC. Zuhud juga melaporkan salah satu tanaman yang memiliki aktivitas antibakteri yang mengandung senyawa tannin adalah kedawung, kulit batang dan kulit akar kedawung mengandung cukup (12-14%) tannin.¹⁷

Senyawa terpenoid yang terdapat dalam fraksi FC kemungkinan juga bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membrane luar dinding sel bakteri dan membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Cowan melaporkan rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa yang dibutuhkan sel bakteri akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri yang mengakibatkan sel bakteri kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati.¹⁸

Aktivitas antibakteri senyawa fraksi FC dari pemurnian ekstrak etanol daun sarang banua (*Clerodendrum fragrans*) terhadap bakteri *salmonella enterica* diduga menghambat proses sintesis dinding sel bakteri, sehingga sel lisis. Interaksi antibakteri dengan bakteri *Salmonella enterica* yang menyebabkan perubahan permeabilitas dinding sel bakteri, sehingga menyebabkan terjadinya ketidakseimbangan tekanan internal sel dan kebocoran elektrolit intraseluler, seperti kalium dan protein dengan berat molekul rendah lainnya yaitu asam nukleat dan glukosa, yang pada akhirnya sel bakteri akan mengalami lisis. Hal ini sejalan dengan penelitian Su pai-wei *et al.* menyatakan bahwa aktivitas antibakteri dalam perubahan morfologi sel yang lebih besar dapat terjadi kerusakan integritas membran sel yang menyebabkan sel lisis.¹⁹

Pada penentuan aktivitas antibakteri fraksi FC dari ekstrak daun tumbuhan sarang banua digunakan antibiotik kloramfenikol. Kloramfenikol adalah antibiotik ampuh dan efisien yang

digunakan sebagai standar kontrol positif sejak bertahun-tahun untuk melawan banyak patogen.²⁰ Respon yang diberikan fraksi FC dan kloramfenikol terhadap bakteri *Salmonella enterica* berbeda, dimana kloramfenikol lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella enterica* dibandingkan dengan fraksi daun sarang banua (*Clerodendrum fragrans*). Shukla *et al* menyatakan bahwa kloramfenikol memiliki spektrum luas dengan kekuatan daya hambat yang tinggi dalam menghambat dan membunuh bakteri.²⁰

Namun ditinjau dari uji daya hambat, fraksi FC memiliki rata-rata zona bening 18,25±1,35 mm lebih besar dibandingkan rata-rata zona bening kloramfenikol 17,40±1,50 mm (Tabel 3). Menurut Davis dan Stout, diameter zona bening pada metode difusi cakram sebesar 18,25±1,35 mm termasuk dalam kategori daya hambat kuat.⁹ Daya hambat yang kuat dari fraksi FC kemungkinan disebabkan oleh senyawa flavonoid dan tannin yang terdapat pada fraksi FC. Fraksi FC hasil kromatografi vakum ekstrak etanol daun sarang banua (*Clerodendrum fragrans* Vent Willd) mempunyai aktivitas antibakteri kategori kuat terhadap *S. enterica* sebagai penyebab dari sakit perut, demam, diare/sembelit.

Aplikasi

Aplikasi dari hasil penelitian ini, fraksi dari ekstrak daun sarang banua (*Clerodendrum fragrans* Vent Willd) dapat dikembangkan sebagai obat herbal untuk sakit perut, penyakit diare/sembelit dan demam.

IV Kesimpulan

Fraksi FC hasil kromatografi vakum dari ekstrak etanol daun sarang banua (*Clerodendrum fragrans* Vent Willd) mempunyai aktivitas antibakteri kategori kuat terhadap *Salmonella enterica* dengan zona hambat sebesar 18,25±1,35 mm lebih besar dibandingkan kloramfenikol 17,40±1,50 mm, dengan nilai MIC dan MBC sebesar 125 µg/mL. Fraksi FC mengandung flavonoid dan tannin yang lebih banyak daripada saponin, steroid & triterpenoid dan alkaloid.

Acknowledgement

Terimakasih kepada Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat, Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan, Kementerian

Riset Teknologi dan Pendidikan Tinggi, sesuai Kontrak Penelitian PUDPT tahun 2019 No. 190/SP2H/LT/DRPM/2019..

Referensi

1. Simorangkir, M., Sitepu, M., dan Simanjuntak P., (2013), *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Ranti Hitam (Solanum blumei Nees ex Blume) Terhadap Salmonella typhimurium*, *Prosiding SNYube 2013*, ISBN 978 602- 17282-2-2-Hal 382-389.
2. Abakar, H., Bakhiet, S., & Abadi, R. (2017). Antimicrobial activity and minimum inhibitory concentration of Aloe vera sap and leaves using different extracts. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6(3):298-303.
3. Udayan D, S.N. Nasir, S.K. Padinchareveetil and A.K. Thumadath, (2013), Evaluation of Phytochemical Constituents, Proximate and Fluorescence Analysis of Ethanolic Extract and Its Fractions of *Clerodendrum philippinum* Schauer Found in Wayanad Region of Kerala, India , *Research Journal of Chemical Sciences* 4, 1-6.
4. Simorangkir, M, B. Nainggolan, S. Silaban, (2018, October), *Secondary Metabolite Phytochemical Analysis of n-Hexane, Ethyl Acetate and Ethanol Extracts of Sarang Banua (Clerodendrum fragrans Vent Willd) Leaves*, AISTSSE.
5. Simorangkir, M, W. Hutabarat, B. Nainggolan, S. Silaban, (2019, April), Antioxidant and Antibacterial Activities of Non-polar To Polar Solvent Extracts of Sarang Banua (*Clerodendrum fragrans Vent Willd) Leaves*, *Rasayan J.Chem.*, 12 (2), 959-965.
6. Simorangkir, M, B. Nainggolan, S. Silaban, (2019, Agustus), *Potensi Antibakteri Ekstrak n-Heksana, Etil Asetat, Etanol Daun Sarang Banua (Clerodendrum fragrans Vent Willd)*, *Jurnal Biosains.*, 5 (2), 92-98.
7. Pelczar, J.M dan E.S.C. Chan, (2005), *Dasardasar Mikrobiologi*, Jakarta, UI Press.
8. McFarland Standard. *Dalynn Biologicals* No. TM50 – TM60.
9. Davis, W.W. and T.R Stout., (1971), Disc plate methods of microbiological antibiotic assay. *J. Microbiology*, (4):659 -665.
10. Harborne, J.B. (1998). *Phytochemical methods: a guide to modern techniques of plant analysis. 3rd edition*. Chapman & Hall. London, UK, 302.
11. Udayaprakash, N.K. (2012). Phytochemical screening, antibacterial and free radical scavenging effects of *Artemisia nilagirica*, *Mimosa pudica* and *Clerodendrum siphonanthus* - An in-vitro study. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine and Aromatic Plant Science and Biotechnology*, S601-S604. **1(1)**:142-150.
12. Moore K L and Agur A M R. (2002). *Anatomi klinis dasar*. Hipokrates. Jakarta. Hlm. 505
13. Achmad S. A., (1986). *Kimia Organik Bahan Alam*. Penerbit Karunika, Jakarta
14. Masduki I, (1996). *Efek Antibakteri Ekstrak Biji Pinang (Areca catechu) terhadap S. aureus dan E. coli*. *Cermin Dunia Kedokteran* 109. Pp. 4-21
15. Geo, F.B., Janet, S.B., & Stephen, A.M. (2005). *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Salemba Medika.
16. Dzulkarnain B., D. Sundari A. Chozin, (1996). *Tanaman Obat Bersifat Antibakteri di Indonesia*. *Cermin Dunia Kedokteran*, 110:35-48.
17. Zuhud. (2001). *Aktivitas Antimikroba Ekstrak kedawung (parkia roxburghii G. Don. Bul. Teknologi dan Industri Pangan XII no, 1:6-12*
18. Cowan, M.M. (1999). Plant Products as Antimicrobial Agents Clinical. *Microbiology Reviews*, **12(4)**: 564–582
19. Su Pai-Wei., Yang, C.H., Yang, J.F., Su Pei-Yu., and Chuang, L.Y. (2015). Antibacterial Activities and Antibacterial Mechanism of *Polygonum cuspidatum* Extracts against Nosocomial Drug Resistant Pathogens. *Molecules*. **20**:11119 – 11130.
20. Shukla, P., Bansode, F.W., & Singh, R.K. (2011). Chloramphenicol Toxicity: A Review. *Journal of Medicine and Medical Sciences*, **2(13)**: 1313-1316.