



STANDARDISASI EKSTRAK DAN UJI ANTIBAKTERI FRAKSI DAUN AFRIKA (*Vernonia amygdalina* Del.) TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* ATCC 25922

Iklila Zahra¹

¹Akademi Analis Farmasi Dan Makanan Sunan Giri Ponorogo
iklilazhr21@gmail.com

Abstrak

Obat tradisional merupakan bahan atau ramuan berupa tumbuhan, bahan hewan atau bahan lainnya. Syarat obat tradisional salah satunya yaitu bahan baku harus terstandar menurut Farmakope Herbal Indonesia dan Materia Medika Indonesia. Salah satu contoh obat tradisional adalah tanaman daun afrika (*Vernonia amygdalina* Del.). Daun afrika memiliki beberapa kandungan kimia seperti flavanoid, alkaloid, tanin dan kandungan kimia lainnya yang diyakini berkhasiat untuk pengobatan beberapa penyakit seperti diabetes, hipertensi, asam urat dan antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan standardisasi ekstrak etanol daun afrika dengan menentukan parameter spesifik yang meliputi identifikasi, organoleptis dan kandungan kimia pada ekstrak, sedangkan untuk parameter non-spesifik meliputi bobot jenis, kadar air, susut pengeringan, kadar sari, kadar abu, serta untuk mengetahui potensi antibakteri ekstrak dan fraksi daun afrika pada *Escherichia coli* dengan menggunakan metode difusi cakram. Pengujian parameter spesifik menunjukkan hasil kandungan kimia adalah alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, steroid dan triterpenoid. Parameter non spesifik menunjukkan bobot jenis $1,21 \pm 0,03 \text{g/ml}$, kadar air $9,24 \pm 0,17\%$, susut pengeringan $9,76 \pm 0,28\%$, kadar sari larut air $23,26 \pm 1,13\%$, kadar sari larut etanol $13,79 \pm 0,54\%$, kadar abu total $9,41 \pm 0,09\%$ dan kadar abu tidak larut asam $2,87 \pm 0,19\%$. Uji antimikroba difusi cakram, didapatkan aktivitas tertinggi pada ekstrak daun afrika sebesar $17,31 \pm 0,17 \text{mm}$.

Kata Kunci: Standardisasi, Ekstrak, Fraksi, Daun Afrika Antibakteri

Abstract

Traditional medicine is material or potion form plants, ingredients animal or material other. Condition drug one of the traditional that is material raw must standardized according to Indonesian Herbal Pharmacopoeia and Indonesian Materia Medika. one example drug traditional is plant leaf africa (*Vernonia amygdalina* Del.). African leaves own a number of content chemistry like flavanoids, alkaloids, tannins and ingredients chemistry others believed nutritious For treatment a number of disease such as diabetes, hypertension, acid vein and antibacterial. Study This aim For do standardization extract ethanol leaf Africa with determine the specific parameters that include identification, organoleptic and content chemistry on the extract, meanwhile for non-specific parameters covers weight type, water content, shrinkage drying, juice content, content ash, as well Forknow potency antibacterial extracts and fractions leaf africa on *Escherichia coli* with use method diffusion disc. Specific parameter testing show results content chemistry are alkaloids, flavonoids, saponins, tannins, steroids and triterpenoids. Nonspecific parameters show weight type $1.21 \pm 0.03 \text{g/ml}$, moisture content $9.24 \pm 0.17\%$, shrinkage drying $9.76 \pm 0.28\%$, water soluble essence content $23.26 \pm 1.13\%$, soluble essence content ethanol $13.79 \pm 0.54\%$, content total ash $9.41 \pm 0.09\%$ and content ash No late acid $2.87 \pm 0.19\%$. Antimicrobial test diffusion disc, found activity highest in extracts leaf Africa of $17.31 \pm 0.17 \text{mm}$.

Keywords: Standardization, Extracts, Fractions, Antibacterial African Leaves

@Jurnal @Jurnal Ners Prodi Sarjana Keperawatan & Profesi Ners FIK UP 2025

* Corresponding author :

Address : Kampus Akafarma Sunan Giri, Jl. Batoro Katong 32, Ponorogo

Email : iklilazhr21@gmail.com

Phone : +62 85-708-012-370

PENDAHULUAN

Flora di Indonesia banyak dimanfaatkan untuk kehidupan sehari-hari, salah satunya dimanfaatkan untuk obat tradisional (Kusmana & Hikmat, 2015). Syarat obat tradisional salah satunya yaitu bahan baku harus memenuhi persyaratan mutu yang sesuai dengan Farmakope Herbal Indonesia, Materia Medika Indonesia dan atau referensi ilmiah. Sehingga bahan baku harus distandarkan sesuai persyaratan (BPOM, 2014). Standardisasi obat herbal Indonesia terutama standardisasi ekstrak mempunyai arti yang penting untuk menjaga mutu obat tradisional. Batasan mengenai persyaratan-persyaratan sangat penting untuk menjamin keamanan penggunaan obat tradisional sekaligus sebagai acuan memproduksi obat tradisional berskala industri (Medicinal, 2015).

Pemanfaatan bahan alam sebagai zat aktif obat telah kembali dikembangkan, salah satunya yaitu bahan yang dimanfaatkan sebagai antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli*. Salah satu obat tradisional yang biasa digunakan adalah daun afrika (*Vernonia amygdalina* Del.). Daun afrika digunakan sebagai obat sakit perut oleh masyarakat di sekitar daerah tempat tinggal peneliti. Penggunaan daun afrika sebagai obat sakit perut telah lama digunakan secara turun temurun. Daun afrika merupakan salah satu jenis tumbuhan yang ada di Indonesia. Beberapa kandungan daun afrika saponin, terpenoid, flavonoid, asam fenolat, terpen, dan tanin (Del et al., 2011). Daun afrika juga dikenal dengan nama daun seribu penyakit diyakini berhasiat untuk pengobatan diabetes, hipertensi, mengurangi kolesterol, asam urat, pembuangan racun dalam tubuh (detoksifikasi), rematik, susah tidur, kesemutan, demam, sakit kepala, infeksi tenggorokan, menghilangkan dahak, melancarkan buang air seni, menguatkan fungsi lambung, batuk dan gangguan pencernaan ("PENGARUH PENAMBAHAN GINGGER KERING (Zingiber Officinale) TERHADAP MUTU DAN DAYA TERIMA TEH HERBAL DAUN AFRIKA SELATAN (*Vernonia Amygdalina*)," 2015). Manfaat lain dari daun afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) adalah sebagai antibakteri. (P. E. Ghamba, 2012) menyatakan pada penelitiannya bahwa ekstrak air dengan etanol daun afrika mempunyai pengaruh antimikroba terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella spp.*, dan *Candida albicans* dengan konsentrasi berkisar antara 12,5 dan 50 mg / ml. Beberapa penelitian, daun afrika sangat berpotensi sebagai sumber senyawa aktif dari beberapa golongan pelarut. Sehingga diperlukan fraksinasi ekstrak beberapa pelarut golongan untuk mendapatkan partisi yang lebih efektif sebagai antimikroba (Nuria et al., 2014)

Berdasarkan uraian diatas, peneliti

melakukan penelitian aktivitas antibakteri dari ekstrak dan fraksi daun afrika pada bakteri *Escherichia coli* karena bakteri ini merupakan bakteri yang sering berhubungan dengan manusia. Bakteri ini merupakan bakteri bagian dari mikroflora yang secara normal ada dalam saluran pencernaan manusia (Kusumawati, 2020). Bakteri *Escherichia coli* menjadi patogen jika jumlah bakteri ini dalam saluran pencernaan meningkat atau berada di luar usus. Beberapa macam penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Escherichia coli* antara lain adalah infeksi saluran kemih, infeksi meningitis, diare, kejang perut, demam, gangguan pada ginjal dan infeksi intestine (Radji, 2019).

METODE

Alat Dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi : Cawan petri (Normax), erlenmeyer (Pyrex), pipet volume (Pyrex), batang pengaduk (Lokal), tabung reaksi (Pyrex), Lampu Spiritus (Lokal), Rak tabung (Lokal), Inkas (local), Incubator (Memert), Autoclave (SG41 46 280A), Oven (Binder), Timbangan (SCA 301), Obyek glass (Slides), Beaker Glass (Pyrex, Duran), Mikroskop (13A), Gelas Ukur (Pyrex), Labu destilasi (Pyrex). Bahan yang digunakan pada penelitian ini meliputi : Media Nutrient Agar (NA), Pelarut DMSO, Antibiotik Kloramfenikol Aquadest steril, Etanol, Formalin, Sampel Ekstrak dan Fraksi Daun Afrika, bakteri *Escherichia coli* yang diperoleh dari Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya

Ekstraksi Dan Fraksinasi

Pembuatan ekstrak etanol daun afrika digunakan perbandingan 1:10, yaitu ditimbang 1 kg serbuk daun afrika, kemudian direndam dengan cara ditambahkan pelarut etanol 96% 10L. Ekstrak direndam selama 3 hari dengan sesekali diaduk, disaring, Kemudian filtrat diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C sampai menjadi ekstrak kental (BPOM, 2014). Fraksinasi dilakukan dengan ekstraksi cair-cair menggunakan pelarut n-heksa, etil asetat dan air. Ekstrak kental ditimbang 20gram dilarutkan dengan akuades 40 ml, kemudian masukkan ke dalam corong pisah dan ditambahkan dengan 40 ml n-heksan di kocok lalu diamkan sampai terbentuk 2 lapisan kemudian pisahkan. Fraksi air diekstraksi cair-cair dengan ditambah 40 ml etil asetat dikocok lalu di diamkan sampai terbentuk 2 lapisan, lapisan etil asetat (lapisan bawah) dipisahkan. Kemudian fraksi yang diperoleh diuapkan dengan *rotary evaporator* sampai kental (Pakpahan, 2020)

Standardisasi Ekstrak

Pengujian organoleptis yang dilakukan meliputi deskripsi tentang bentuk, warna, bau dan rasa yang diamati pada ekstrak tanaman. Uji parameter spesifik selanjutnya yaitu identifikasi

kandungan kimia pada ekstrak. **Alkaloid**, ekstrak pada tabung diberikan 0,5 ml HCl 2%. Tabung dibagi dua, satu tabung tambahkan dengan 2-3 tetes reagen *drageendroff* dan tabung dua ditambahkan dengan reagen mayer. Hasil positif adanya alkaloid jika tabung satu berwarna merah bata, merah, jingga dan tabung dua terdapat endapan putih atau kekuningan (Kartika et al., 2019) **Flavonoid**, 1 ml ekstrak diberikan 3 ml etanol, dikocok. Filtrat yang diperoleh di tambahkan dengan Mg 0,1 g dan tambahkan 2 tetes HCl. Hasil positif mengandung flavonoid jika terbentuk warna merah, orange atau hijau (Kartika et al., 2019). **Tanin**, 2 gram ekstrak ditambahkan etanol sampai terendam, ambil 1 ml tambahkan 2-3 tetes larutan FeCl₃ 1%. Hasil positif mengandung tannin jika terbentuk hitam kebiruan atau hijau (Y. P. Utami et al., 2017). **Saponin**, 1 ml ekstrak dilarutkan dalam aquadest, didihkan. Hasil positif akan membentuk busa. **Triterpenoid dan Steroid**, 1 ml ekstrak ditambahkan dengan 0,5 ml kloroform dan 0,5 ml asam asetat anhidrat, ditambahkan 1-2 ml H₂SO₄. Hasil positif mengandung triterpenoid jika terbentuk cincin kecoklatan atau violet pada lapisan batas dua pelarut, dan jika hasil positif mengandung steroid jika terbentuk warna hijau kebiruan (Y. P. Utami et al., 2017).

Pengujian non-spesifik meliputi, **Bobot jenis**, dilakukan dengan metode piknometer. **Kadar air**, dilakukan pengujian menggunakan metode gravimetric pada suhu pada suhu 105°C selama 5 jam. **Susut pengeringan**, pengujian susut pengeringan dilakukan dengan metode oven pada suhu 105°C selama 30 menit. **Kadar sari larut air**, menggunakan pelarut air-kloroform, diamkan selama 18 jam. Filtrat diuapkan sebagai hasil kadar sari larut air. **Kadar sari larut etanol**, menggunakan pelarut etanol 96%, diamkan selama 18 jam. Filtrat diuapkan sebagai hasil kadar sari larut etanol. **Kadar abu total**, menggunakan kurs dipanaskan dengan suhu ±600°C. **Kadar abu tidak larut asam**, hasil kadar abu total, didihkan dengan 25 ml HCl selama 5 menit. Saring kemudian pijarkan pada suhu ±600°C

Konsentrasi Larutan Uji

Variasi konsentrasi larutan uji dibuat pada 20, 40, 60 dan 80 dari ekstrak kental etanol, fraksi polar, semi polar dan non-polar daun afrika sesuai perhitungan masing-masing konsentrasi kemudian dilarutkan dengan DMSO 10% sampai volume 10 ml.

Table 1. Perhitungan konsentrasi larutan uji daun afrika

Konsentrasi Larutan Uji (%)	mg/ml	Volume Pelarut DMSO 10% (ml)
20	200	ad 10
40	400	ad 10
60	600	ad 10
80	800	ad 10

Sterilisasi Alat

Alat dicuci dengan aquadest, Bungkus dengan kertas, mulut alat ditutup kapas, Sterilkan dengan oven pada suhu 170°C-180°C selama 1-2 jam

Pembuatan Media

Serbuk *nutrient agar* (NA) 10 gram, masukkan erlrmeyer 1L kemudian ditambahkan aquadest sebanyak 500 ml. Serbuk *Mueller Hinton Agar* (MHA) 38 g dilarutkan dalam 1liter aquades.

Sterilisasi Media

Media dimasukkan pada autoklaf, diatur suhu pada 121°C selama 15 menit, biarkan suhu autoklaf turun menjadi 0°C, buka autoklaf, lalu ambil media (Radji, 2019)

Peremajaan Bakteri

Media NA dipanaskan di atas hotplate sampai mencair, kemudian dituang kedalam 3 buah tabung reaksi, kemudian diletakkan dalam keadaan miring dan dibiarkan memadat. Satu ose dari biakan murni bakteri diambil, kemudian digoreskan kedalam media NA miring dan diinkubasikan selama 24 jam dengan suhu 37°C (Oktasila et al., 2019)

Suspensi Bakteri

Satu ose biakan bakteri yang telah diremajakan, disuspensikan ke dalam tabung berisi 5 ml media NA hingga diperoleh kekeruhan standar McFarland dan diinkubasi selama selama 18-24 jam dalam inkubator bersuhu 35±2°C untuk bakteri. Suspensi mikroba tersebut diencerkan menggunakan NA steril sampai didapat absorbansi pada rentang 0,08-0,13 (1-2×10⁸ CFU/mL) menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 625 nm (setara dengan 0,5 McFarland). Sebagai blangko digunakan media cair NA (Aristyawan et al., 2018)

Uji Antibakteri *Escherichia Coli* Secara Difusi Cakram

Uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi kertas cakram. Siapkan kertas cakram kemudian direndam dalam larutan uji pada seri konsentrasi ekstrak etanol dan fraksi aktif daun afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) konsentrasi 20, 40, 60, 80% selama ±15 menit (Zeniusa et al., 2019). Kertas cakram diletakkan pada permukaan media MHA yang telah berisi bakteri dengan jumlah pada satu cawan berisi 4 konsentrasi ekstrak dan masing-masing fraksi aktif, dengan dilakukan pengulangan secara triplo (Riana Ningsih et al., 2016). Cawan petri yang sudah diberi perlakuan diinkubasi pada 35±2°C selama 24 - 48 jam. Zona hambat diukur berdasarkan daerah jernih disekeliling cakram yang menunjukkan tidak ada pertumbuhan bakteri. Kemudian dibandingkan dengan Kontrol negatif (DMSO 10%) dan Kontrol positif (kloramfenikol) 30µg/disc. Zona hambat tersebut diukur dengan satuan mm

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kriteria daun yang digunakan berumur lebih dari 3 minggu dengan warna daun hijau tua yang menandakan bahwa daun tersebut golongan daun tua karena semakin tua umur daun, maka semakin banyak kandungan senyawa bioaktif yang terakumulasi didalamnya (Rahman et al., 2014). Pengujian identifikasi dilakukan pada uji makroskopis dengan pengamatan secara langsung terhadap bentuk fisik dari daun afrika.



Gambar 1. Daun Afrika

Sebanyak 20.000gram daun afrika, diperoleh serbuk daun afrika sebanyak 2.000 gram. Ekstraksi diperoleh dari 2.000gram serbuk menjadi ekstrak kental sebanyak 278,6gram dengan randemen sebesar 13,93%. Persyaratan randemen yang baik menurut Kementerian Kesehatan Republik Indonesia tahun 2010 adalah >10%. Rendemen merupakan perbandingan berat kering produk yang dihasilkan dengan berat bahan baku (Yuniarifin et al., 2006). Menurut (Dewatisari et al., 2018), nilai rendemen berkaitan dengan banyaknya kandungan bioaktif yang terkandung dalam tanaman. Metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak dapat bersifat polar, semi polar dan non polar sehingga untuk memaksimalkan mendapat ekstrak senyawa metabolit sekunder dilakukan fraksinasi dengan variasi pelarut (Pakpahan, 2020) . Fraksinasi dilakukan untuk memisahkan komponen-komponen senyawa aktif dari ekstrak yang telah dihasilkan. Pemisahan secara partisi cair-cair harus memiliki perbedaan kelarutan antara pelarut dan zat terlarut serta kedua pelarut yang digunakan tidak saling tercampur (Nuria et al., 2014). Hasil fraksinasi dari ekstrak etanol daun afrika terdapat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil fraksinasi ekstrak etanol daun afrika

Fraksi Uji	Bobot fraksi kental (gram)	Randemen (%)
Etil asetat	35,1	13,61
Air	62,7	24,31
N-Heksan	49,5	19,19

Total randemen yang didapatkan yaitu sebesar 57,11%. Hasil tersebut jauh dari jumlah yang seharusnya yaitu 100%. Hal tersebut disebabkan karena kurangnya pendiaman saat pemisahan. Sehingga senyawa belum terpisah secara sempurna.

Pengujian standardisasi dilakukan setelah mendapatkan ekstrak kental. Standardisasi ekstrak terdiri dari parameter spesifik dan non-spesifik. Parameter spesifik merupakan pengujian yang bertujuan untuk mengetahui aspek kandungan kimia kualitatif dan aspek kuantitatif kadar senyawa yang bertanggung jawab secara langsung

terhadap aktiviats farmakologi tertentu. Hasil pengujian parameter spesifik meliputi organoleptis dan kandungan kimia dalam ekstrak (Ditjen POM RI, 2000). Uji organolptis bertujuan untuk mengukur berdasarkan kesukaan dan kenginan pada suatu produk (Nugrahani et al., 2021). Hasil pengamatan pemeriksaan organoleptik pada ekstrak daun afrika yaitu mempunyai warna hijau pekat kehitaman, mempunyai bau khas ekstrak sedikit pengar, rasa pahit dan bentuk berupa ekstrak kental. Pengujian kandungan kimia dalam ekstrak atau yang bisa disebut dengan skrining fitokimia merupakan salah satu cara yang dapat dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa metabolit sekunder pada suatu bahan alam. Skrining fitokimia bertujuan untuk memberikan gambaran awal mengenai kandungan senyawa tertentu dalam bahan alam yang diteliti (Vifta & Advistasari, 2018). Data hasil pengujian menggunakan metode fitokimia pada ekstrak daun afrika terdapat pada tabel berikut

Tabel 3. Hasil pengujian kandungan kimia dengan metode fitokimia

No.	Senyawa	Pereaksi	Hasil	Keterangan	
				I	II
1.	Alkaloid	Dragendrof	Merah bata/jingga	+	+
2.	Flavonoid	HCl dan FeCl3	Merah	+	+
3.	Saponin	Kocok kuat, HCl	Buih tidak hilang	+	+
4.	Tannin	FeCl3 1 N	Hijau kehitaman	+	+
5.	Triterpeno id/ Steroid	Eter, H2SO4	Hijau kebiruan	+	+

Pada skrining alkaloid prinsipnya yaitu reaksi pengendapan yang terjadi karena adanya penggantian ligan. Atom nitrogen yang memiliki pasangan elektron bebas pada alkaloid dapat menggantikan ion dalam pereaksi dagendrof. Dragendroff menghasilkan endapan merah bata atau jingga karena nitrogen membentuk ikatan kovalen koordinat dengan K⁺ ion logam. Endapan tersebut adalah kalium-alkaloid (Marliana et al., 2005). Pada skrining flavonoid, hasil uji flavonoid yang positif ditandai dengan terbentuknya warna jingga, kuning atau merah yang tertarik pada lapisan amil alkohol karena terjadinya reduksi dengan Mg dan HCl pekat (Nainggolan et al., 2018). Uji skrining saponin merupakan bentuk glikosida dari sapogenin, sehingga akan bersifat polar. Saponin merupakan senyawa yang bersifat aktif pada permukaan dan dapat menyebabkan terbentuknya busa pada saat dikocok dalam air (Kristanti et al., 2019). Timbulnya busa pada uji saponin menunjukkan adanya glikosida yang memiliki kemampuan untuk membentuk busa dalam air dihidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lain. Penambahan HCl bertujuan untuk meningkatkan polaritas sehingga gugus hidrofilik akan berikatan dengan lebih stabil sehingga busa yang terbentuk menjadi stabil (Marliana et al.,

2005). Uji skrining tannin, golongan tannin merupakan senyawa fenolik yang cenderung larut dalam air dan pelarut polar. Pengujian tannin pada ekstrak akan membentuk warna hijau atau biru kehitaman (Nainggolan et al., 2018). Pengujian steroid dan triterpenoid, analisis senyawa didasarkan pada kemampuan senyawa tersebut membentuk warna dengan H₂SO₄ pekat dalam pelarut asam setat anhidrat. Hasil dari positif triterpenoid dan steroid menunjukkan warna hijau kebiruan.

Pengujian parameter non-spesifik bertujuan untuk mengetahui segala aspek yang tidak terkait dengan aktivitas farmakologi secara langsung tetapi mempengaruhi keamanan dan stabilitas ekstrak dan sediaan yang dihasilkan (Ditjen POM, 2000). Data hasil pengujian parameter non-spesifik ekstrak etanol daun afrika dapat dilihat pada tabel 4 dibawah ini

Tabel 4. Hasil pengujian parameter standardisasi non-spesifik

No.	Parameter	Hasil	Syarat (Depkes RI, 2008)
1.	Bobot Jenis	1,21 ± 0,03 g/ml	-
2.	Kadar Air	7,24± 0,17 %	≤ 10%
3.	Susut Pengerinan	8,76 ± 0,28%	< 11%
4.	Kadar Sari	23,26 ± 1,13%	≥ 18%
	Larut Air	13,79 ± 0,54%	≥ 6%
5.	Kadar Sari Larut Etanol		
	Kadar Abu	9,41 ± 0.09%	≤ 10%
	Total	2,87 ± 0,19%	≤ 3%
	Kadar Abu Tidak Larut Asam		

Hasil dari pengujian parameter standardisasi non-spesifik ekstrak etanol daun afrika yang dibandingkan dengan persyaratan dari Departemen Kesehatan RI tahun 2008 bahwa semua hasil parameter standardisasi non-spesifik memenuhi persyaratan. Pengujian kadar air dilakukan untuk mencegah terjadinya pertumbuhan mikroba pada ekstrak. Kadar air yang tinggi dapat menyebabkan pertumbuhan mikroba pada ekstrak karena air merupakan media pertumbuhan mikroorganisme dan juga sebagai media reaksi enzimatik yang dapat menguraikan senyawa aktif (Supriningrum et al., 2017). Susut pengeringan, digunakan untuk memberikan batas maksimum (kisaran) jumlah senyawa yang hilang selama proses pengeringan (Ditjen POM RI, 2000). Penetapan kadar sari larut dalam air bertujuan untuk memberikan gambaran awal tentang jumlah senyawa kimia polar yang dapat diekstraksi. Penentuan kadar ekstrak larut etanol bertujuan untuk mengetahui kadar senyawa yang larut dalam etanol. Jumlah senyawa dalam ekstrak daun afrika yang dilarutkan dalam etanol lebih kecil dibandingkan dengan jumlah senyawa yang dilarutkan dalam air. Hal ini dikarenakan air

dapat melarutkan senyawa polar yaitu flavonoid, saponin, dan tanin. penentuan kadar abu yang bertujuan untuk memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal hingga terbentuk ekstrak (Ditjen POM RI, 2000). Menurut (Saragih, 2014) semakin tinggi kadar abu maka semakin tinggi pula mineral yang terkandung dalam bahan tersebut. Penentuan kadar abu total dengan penambahan HCl bertujuan untuk mengetahui cemaran yang berasal dari faktor luar seperti pasir dari tanah dan debu yang menempel pada waktu pengeringan (Suharti et al., 2017). Menurut (Redaksi, 2018) adanya kadar abu tidak larut asam yang rendah menunjukkan adanya pasir atau pengotor lainnya dalam kadar yang rendah.

Standardisasi ekstrak telah dilakukan, pengujian selanjutnya berupa pengujian terkait antibakteri dari ekstrak terhadap *Escherichia coli*. Sebelum bakteri digunakan untuk pengujian, dilakukan terlebih dahulu peremajaan bakteri yang bertujuan untuk mendapatkan biakan yang baru dan muda, sehingga dapat berkembang biak dengan baik dan dapat digunakan sesuai dengan fungsinya (Wijayati et al., 2014). Diameter zona hambat sangat dipengaruhi oleh konsentrasi ekstrak, dimana ekstrak dengan konsentrasi lebih tinggi akan mendapatkan zona hambat yang besar. Zona hambat juga dipengaruhi oleh temperatur inkubasi, waktu pemasangan cakram serta jarak cakram antimikroba (Nathan & Scobell, 2012). Hasil dari pengukuran zona hambat antibakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 terdapat pada table 5 dibawah ini.

Tabel 5. Hasil pengujian antibakteri ekstrak dan fraksi daun afrika terhadap bakteri *Escherichia coli*

Sediaan	Kontrol + I (mm)	Kontrol - I (mm)	20% (mm)	40% (mm)	60% (mm)	80% (mm)
Ekstra k daun afrika	27,1± 0,16	0	6,48 ± 0,17	10,67 ±0,2	13,18 ± 0,21	17,31 ±0,17
Fraksi N-heksan	25,23 ± 1,60	0	3,8 ±0,4	5,77± 0.70	7.2±0 .75	9.93± 1.82
Fraksi etil asetat	25,53± 1,75	0	4,67± 1,16	6,27± 0,40	8,77± 0,73	11,8± 0,56
Fraksi air	26,57± 1,33	0	4,87± 0,86	7,37 ± 0,45	9,4 ±0,89	13,42 ±0,56

Keterangan:
Kontrol + menggunakan disk antibiotik kloramfenikol 30µg
Kontrol – menggunakan dmso 10%
Ekstrak daun afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) memiliki zona hambat terbesar yang disebabkan karena adanya senyawa kimia dalam ekstrak yang masih lengkap belum terjadi pemisahan senyawa berdasarkan kepolaran. Kontrol negatif tidak memberikan zona hambat pada hasil penelitian. Hal ini menunjukkan bahwa DMSO 10% yang digunakan sebagai kontrol negatif merupakan kosolven yang baik yang dapat

melarutkan sampel uji tanpa memberikan efek penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri. Kontrol positif kloramfenikol digunakan karena kloramfenikol merupakan antibiotik berspektrum luas yang aktif terhadap bakteri gram positif dan gram negatif. Kloramfenikol bekerja dengan menghambat sintesis protein bakteri (Sari et al., 2021). Pada penelitian yang telah dilakukan sebelumnya oleh (Suryati et al., 2016) menunjukkan bahwa kloramfenikol mampu menghambat bakteri *Escherichia coli* dengan sangat kuat. Sedangkan kontrol negatif menggunakan DMSO 10%. Karena DMSO merupakan pelarut yang dapat melarutkan senyawa polar maupun nonpolar. Selain itu DMSO tidak memberikan daya hambat pertumbuhan bakteri, sehingga tidak mengganggu hasil dari pengujian aktivitas antibakteri (E. R. Utami, 2012). Pengujian statistik *One way ANOVA* menunjukkan bahwa sediaan ekstrak atau fraksi yang mempunyai perbedaan secara signifikan yaitu pada fraksi etil asetat dan ekstrak daun afrika dengan nilai signifikansi $<0,05$. Dari hasil tersebut dapat dilihat bahwa perbedaan konsentrasi menyebabkan zona hambat yang berbeda. Karena semakin tinggi konsentrasi, semakin tinggi pula kandungan zat aktif yang terkandung dalam ekstrak, sehingga memiliki aktivitas antibakteri lebih tinggi.

SIMPULAN

Pengujian parameter standardisasi spesifik pada ekstrak etanol Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) didapatkan hasil Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) mengandung senyawa kimia berupa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, steroid dan triterpenoid. Parameter non-spesifik berupa bobot jenis 1,21 g/ml, kadar air 7,24%, susut pengeringan 8,76%, kadar sari larut air 23,26%, kadar sari larut etanol 13,79%, kadar abu total 9,41% dan kadar abu tidak larut asam 2,87%. Parameter non-spesifik ekstrak kental telah memenuhi persyaratan sesuai dengan literatur. Ekstrak dan fraksi daun afrika telah dilakukan pengujian antibakteri terhadap *Escherichia coli*, hasilnya yaitu ekstrak etanol daun afrika pada semua konsentrasi memiliki aktivitas antimikroba paling efektif daripada fraksi polar, semi polar dan non-polar karena pada ekstrak etanol daun afrika masih memiliki kandungan senyawa yang lengkap.

DAFTAR PUSTAKA

Aristyawan, A. D., Sugijanto, N. E., & Suciati, S. (2018). Potensi Antibakteri dari Ekstrak Etanol Spons *Agelas cavernosa*. *JURNAL FARMASI DAN ILMU KEFARMASIAN INDONESIA*. <https://doi.org/10.20473/jfiki.v4i12017.39-43>

BPOM. (2014). Persyaratan Mutu Obat Tradisional. In *Badan Pengawas Obat dan*

Makanan.

Del, V., Ijeh, I. I., & Ejike, C. E. C. C. (2011). Current perspectives on the medicinal potentials of. *Journal of Medicinal Plants Research*.

Depkes RI. (2008). Farmakope Hebal Indonesia. *Farmakope Herbal Indonesia*.

Dewatisari, W. F., Rumiyanti, L., & Rakhmawati, I. (2018). Rendemen dan Skrining Fitokimia pada Ekstrak Daun *Sansevieria* sp. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*. <https://doi.org/10.25181/jppt.v17i3.336>

Ditjen POM. (2000). Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat Cetakan Pertama. *Departemen Kesehatan Republik Indonesia*.

Ditjen POM RI. (2000). Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat, Cetakan Pertama, Depkes RI, Jakarta. *Departemen Kesehatan RI*.

Kartika, E. P., Marchaban, M., & Sudarsono, S. (2019). Aktivitas Antibakteri Minyak Sirih Merah (*Piper Crocatum* Ruiz & Pav.) Dalam Bentuk Sediaan Emulsi dan Mikroemulsi. *Majalah Farmaseutik*. <https://doi.org/10.22146/farmaseutik.v14i2.42597>

Kristanti, A., Aminah, N., Tanjung, M., & Kurniadi, B. (2019). Buku ajar Fitokimia. *Reka Buana : Jurnal Ilmiah Teknik Sipil Dan Teknik Kimia*.

Kusmana, C., & Hikmat, A. (2015). Keanekaragaman Hayati Flora di Indonesia. *Journal of Natural Resources and Environmental Management*.

Kusumawati, A. H. (2020). Mikrobiologi Farmasi. *Erlangga*.

Marliana, S. D., Suryanti, V., & Suyono. (2005). Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq . Swartz .) dalam Ekstrak Etanol. *Biofarmasi*.

Medicinal, I. (2015). Pasokan dan Permintaan Tanaman Obat Indonesia Serta Arah Penelitian dan Pengembangannya. *Perspektif: Review Penelitian Tanaman Industri*, 8(1).

Nainggolan, M. T., Simaremare, E. S., & Pratiwi, R. D. (2018). Evaluasi Stabilitas Sediaan Krim Ekstrak Etanol Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Delile) dengan Basis Vanishing Cream (VC). *JURNAL BIOLOGI PAPUA*. <https://doi.org/10.31957/jbp.129>

Nathan, A. J., & Scobell, A. (2012). Prescott Microbiology. In *Foreign Affairs*.

Nugrahani, R., Andayani, Y., & Hakim, A. (2021). Karakteristik Fisik Serbuk Ekstrak Buncis (*Phaseolus vulgaris* L) dengan Variasi Lama Penyimpanan. *Journal Syifa Sciences and Clinical Research*.

- <https://doi.org/10.37311/jsscr.v3i1.9850>
- Nuria, M. C., Chabibah, Z., Banu, S., & Fithria, R. F. (2014). PENELUSURAN POTENSI FRAKSI n-HEKSAN DAN ETIL ASETAT DARI EKSTRAK METANOL DAUN GUGUR KETAPANG (*Terminalia catappa* L.) SEBAGAI ANTIDIARE. In *e-Publikasi Ilmiah Fakultas Farmasi Unwahas Semarang*.
- Oktasila, D., Nurhamidah, N., & Handayani, D. (2019). UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAUN JERUK KALAMANSI (*Citrofortunella microcarpa*) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli*. *Alotrop*. <https://doi.org/10.33369/atp.v3i2.10122>
- P. E. Ghamba. (2012). In vitro antibacterial activity of crude ethanol, acetone and aqueous *Garcinia kola* seed extracts on selected clinical isolates. *AFRICAN JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY*. <https://doi.org/10.5897/ajb11.1956>
- Pakpahan, D. T. (2020). UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI N-HEKSAN, ETIL ASETAT, DAN BUTANOL DAUN PETAI CINA (*Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit) TERHADAP BAKTERI *Propionibacterium acnes* DAN *Staphylococcus epidermidis* SECARA IN VITRO. *INDONESIA NATURAL RESEARCH PHARMACEUTICAL JOURNAL*. <https://doi.org/10.52447/inspj.v5i2.1824>
- PENGARUH PENAMBAHAN GINGER KERING (*Zingiber officinale*) TERHADAP MUTU DAN DAYA TERIMA TEH HERBAL DAUN AFRIKA SELATAN (*Vernonia amygdalina*). (2015). *Teknologi Pangan : Media Informasi Dan Komunikasi Ilmiah Teknologi Pertanian*, 6(2). <https://doi.org/10.35891/tp.v6i2.470>
- Radji, DR. & DR. M. (2019). Buku ajar mikrobiologi : panduan mahasiswa farmasi dan kedokteran. In *EGC Medical Publisher*.
- Rahman, N., Bahriul, P., & Diah, A. (2014). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Salam (*Syzygium Polyanthum*) Dengan Menggunakan 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil. *Jurnal Akademika Kimia*, 3(3).
- Redaksi, T. (2018). Kata Pengantar dan Daftar Isi. *Jurnal Sains Manajemen Dan Bisnis Indonesia*. <https://doi.org/10.32528/jsmbi.v8i2.1784>
- Riana Ningsih, D., Zufahair, & Kartika, D. (2016). Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Serta Uji Aktivitas Ekstrak Daun Sirsak Sebagai Antibakteri. *Jurnal Molekul*.
- Saragih, R. (2014). Uji Kesukaan Panelis Pada Teh Daun Torbangun (*Coleus amboinicus*). *Journal Kesehatan Dan Lingkungan*.
- Sari, S. M., Dewi, A. M., Safitri, E. I., & Cut Nuria, M. (2021). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Herba Krokot (*Portulaca oleracea* L.) Dari Beberapa Metode Ekstraksi Antibacterial Activity of Ethanol Extract of *Portulaca oleracea* L. Obtained From Several Extraction Methods. In *Pharmaceutical Journal of Indonesia*.
- Suharti, N., Lenggogeni, Y. G., & Husni, E. (2017). Karakterisasi Simplisia dan Ekstrak Etanol Serta Uji Aktivitas Antioksidan Rimpang Jahe Merah (*Zingiber Officinale* Var. *Vubrum Theilade*) yang Diinokulasi Fungi Mikoriza Arbuskula (FMA). *Jurnal Sains Dan Teknologi Farmasi*.
- Supriningrum, R., Handayani, F., & Liya. (2017). Karakterisasi dan Skrining Fitokimia Daun Singkil (*Premna corymbosa* Rottl & Willd). *Jurnal Ilmiah Ibnu Sinamiah Ibnu Sina*.
- Suryati, S., Dillasamola, D., & Rahadiant, F. (2016). Pengaruh Ekstrak Etanol Daun *Vernonia amygdalina*, Del terhadap Kadar Kreatinin Serum Mencit Putih Jantan. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*. <https://doi.org/10.29208/jsfk.2016.3.1.103>
- Utami, E. R. (2012). ANTIBIOTIKA, RESISTENSI, DAN RASIONALITAS TERAPI. *SAINSTIS*. <https://doi.org/10.18860/sains.v0i0.1861>
- Utami, Y. P., Umar, A. H., Syahrini, R., & Kadullah, I. (2017). Standardisasi Simplisia dan Ekstrak Etanol Daun Leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn.). *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences*.
- Vifta, R. L., & Advistasari, Y. D. (2018). Skrining Fitokimia, Karakterisasi, dan Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak dan Fraksi-Fraksi Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* B.). *Prosiding Seminar Nasional Unimus*.
- Wijayati, N., Astutiningsih, C., Mulyati, S., & Artikel, I. (2014). Transformasi α -Pinena dengan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25923. *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education*.
- Yuniarifin, H., Bintoro, V. P., & Suwarastuti, A. (2006). PENGARUH BERBAGAI KONSENTRASI ASAM FOSFAT PADA PROSES PERENDAMAN TULANG SAPI TERHADAP RENDEMEN , KADAR ABU DAN VISKOSITAS GELATIN. *Indonesian Tropis Animal Agricultural*.
- Zeniusa, P., Ramadhian, M. R., Nasution, S. H., & Karima, N. (2019). Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Teh Hijau terhadap *Escherichia coli* Secara In Vitro. *Majority*.