

**ANALISIS KORELASI ANTARA KADAR FLAVONOID
DENGAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK
ETANOL DAN FRAKSI-FRAKSI DAUN KERSEN
(*Muntingia calabura* L.) TERHADAP *Staphylococcus aureus***

Dellyna Feronica Manik¹, Triana Hertiani²,

Hady Anshory¹.

Farmasi Universitas Islam Indonesia¹, Farmasi Universitas Gadjah Mada²

dellynaferonica@gmail.com

ABSTRAK

Daun kersen (Muntingia calabura L.) diketahui mengandung beberapa senyawa yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap Staphylococcus aureus, salah satunya adalah flavonoid. Flavonoid bekerja sebagai antibakteri dengan beberapa mekanisme aksi, diantaranya menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sitoplasma dan menghambat metabolisme energi dari bakteri. Hasil penelitian ini diharapkan dapat mengetahui kadar bunuh minimum (KBM) ekstrak dan fraksi daun kersen terhadap S. aureus, untuk mengetahui aktivitas antibakteri yang paling besar dari ekstrak etanol dan masing-masing fraksi serta korelasi antara aktivitas antibakteri dengan kandungan flavonoid total. Serbuk sampel kering dimaserasi dengan etanol 96%. Ekstrak etanol dipartisi dengan fraksinasi cair-cair secara berturut-turut menggunakan heksan, etil asetat, dan air. Ekstrak etanol dan masing-masing fraksi kemudian diuji aktivitas antibakterinya terhadap S. aureus dengan metode dilusi menggunakan media Mueller Hinton Broth (MHB) pada konsentrasi 20 mg/mL, 15 mg/mL, 10 mg/mL, dan 5 mg/mL. Sebagai kontrol pembanding digunakan antibiotik Seftazidim, pelarut DMSO, dan media MHB. Kuersetin digunakan sebagai standar pembanding dalam mengukur kandungan flavonoid total menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. Analisis hasil dilakukan dengan membandingkan kadar flavonoid total dari ekstrak etanol dan masing-masing fraksi dengan KBM. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi etil asetat merupakan fraksi yang paling aktif dengan KBM 0,312 mg/mL, sekaligus sebagai fraksi yang memiliki kadar flavonoid total paling besar yaitu sebesar 5,624 % QE. Analisis korelasi Pearson menunjukkan aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol dan masing-masing fraksi, 93% dipengaruhi oleh kandungan flavonoid total.

Kata kunci: *Muntingia calabura*, antibakteri, *Staphylococcus aureus*, dilusi, kadar flavonoid total.

ABSTRACT

Muntingia calabura L. leaves are known to contain several compounds which have antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*, including flavonoids. The actions of flavonoid as antibacterial are through several mechanisms, such as inhibiting nucleic acid synthesis, cytoplasmic membrane function and energy metabolism in bacteria. The aims of this study were to know the antibacterial activity of ethanol extract and each fractions of *Muntingia calabura L.* leaves against *Staphylococcus aureus*, to determine Minimum Bactericidal Concentration (MBC), and the correlation between the antibacterial activity towards total flavonoid contents. Dried pulverized sample was macerated in 96% ethanol. After solvent evaporation, the extract was partitioned by using liquid-liquid fractionation with hexane, ethyl acetate and water, successively. After solvent removal, the ethanol extract, hexane, ethyl acetate and water fractions were tested for antibacterial activity by dillution method in Mueller Hinton Broth with concentrations of 20 mg/mL, 15 mg/mL, 10 mg/mL and 5 mg/mL. Ceftazidim, DMSO and MHB media were used as controls. Determination of total flavonoid content was undertaken by UV-Visible spectrophotometry with quercetin as reference standard. Analysis was conducted by comparing the total flavonoids content of ethanol extract and each fractions with the MBCs. The results showed that the ethyl acetate fraction was the most active by showing MBC value at 0.312 mg/mL, and showed the highest total flavonoid content of 5,624 % QE. Pearson correlation analysis revealed that the antibacterial activity of ethanol extract and each fractions was influenced by the total flavonoid contents at 93%.

Keywords: *Muntingia Calabura*, antibacterial, *Staphylococcus aureus*, dillution, total flavonoid contents

PENDAHULUAN

Angka kejadian penyakit infeksi terus meningkat dalam beberapa tahun terakhir. Penyakit infeksi yang disebabkan bakteri banyak menyerang penduduk di negara berkembang, termasuk Indonesia⁽¹⁾. *Staphylococcus aureus* merupakan kuman penyebab utama infeksi pada manusia yang dapat menyebabkan berbagai infeksi berat yang terjadi baik di komunitas maupun rumah sakit⁽²⁾.

Dewasa ini penggunaan obat tradisional dari tumbuh-tumbuhan lebih disukai masyarakat daripada obat sintetis^(3,4). Banyak orang membiasakan diri menghindari penggunaan bahan kimia sintetis dan lebih memilih bahan-bahan alam. Indonesia memiliki ragam jenis tanaman yang dapat dibudidayakan sebagai obat untuk mengobati berbagai penyakit, karena terdapat banyak kandungan kimia yang berperan sebagai obat⁽⁵⁾, salah satunya adalah flavonoid.

Flavonoid pada beberapa tumbuhan diketahui memiliki sifat antibakteri dimana menurut Mirzoeva *et al.* (1997) flavonoid mampu melepaskan energi transduksi terhadap membran sitoplasma bakteri dan menghambat motilitas bakteri⁽⁶⁾. Mekanisme lainnya dikemukakan oleh Di Carlo *et al.* (1999) dan Estrela *et al.* (1995) bahwa gugus hidroksil pada struktur flavonoid mengakibatkan perubahan komponen organik dan transpor nutrisi yang akhirnya menimbulkan efek toksik terhadap bakteri^(7,8).

Di Indonesia, buah kersen (*Muntingia calabura* L.) banyak tumbuh di pinggir jalan, di halaman rumah, di pinggir selokan dan tempat-tempat yang tidak kondusif untuk tumbuh. Sejauh ini, pemanfaatan daun kersen dirasa kurang⁽⁹⁾. Secara ilmiah, beberapa jenis flavonoid dan flavon telah diisolasi dan diidentifikasi dari *Muntingia calabura* L.⁽¹⁰⁾. Tanaman ini mengandung banyak flavonoid yaitu flavon, flavanon, dan flavan⁽¹¹⁾. Ekstrak daun *Muntingia calabura* L. memiliki aktivitas antiinflamasi, antipiretik, antibakteri (diantaranya *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Bacillus cereus*) dan aktivitas *antistaphylococcal* (*Staphylococcus aureus*)⁽¹⁰⁾.

Sebagai salah satu upaya pemanfaatan daun sebagai bagian dari pengobatan infeksi, perlu dilakukan analisis untuk mengetahui pengaruh kadar flavonoid terhadap aktivitas antibakteri daun kersen. Penelitian

ini bertujuan untuk mengetahui kadar bunuh minimum (KBM) ekstrak dan fraksi daun kersen terhadap *S. aureus*, untuk mengetahui aktivitas antibakteri yang paling besar dari ekstrak etanol dan masing-masing fraksi serta korelasinya antara aktivitas antibakteri dengan kandungan flavonoid total.

METODE PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: alat maserasi (Pyrex), neraca analitik (Mettler Toledo tipe PL 303, Dragon 205), Glinder (Fomac), Rotary evaporator (Heidolph tipe Heizbad WB), waterbath, corong pisah (Pyrex), tabung reaksi (Pyrex), pipet ukur dengan berbagai ukuran (Pyrex), cawan petri, autoklaf, LAF (ESCO Class II BSC), incubator (Memmert), mikropipet (Transferpette), dan alat spektrofotometer UV-Vis (Hitachi U-2800).

Bahan

Bahan utama yang digunakan pada penelitian ini adalah Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.). Bahan-bahan lain yang digunakan antara lain: etanol 96%, n-heksan, etil asetat, metanol, aquades, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi dan Parasitologi Farmasi UII, Standar kuersetin, Nutrient Broth (NB) dan Nutrient Agar (NA), Mueller Hinton Broth (MHB), Mueller Hinton Agar (MHA), MSA (Manitol Salt

Agar), DMSO, Antibiotik Seftazidim (Merk *Seftazidim*), Larutan standar McFarland, NaCl 0,9%, etanol 95%, AlCl_3 10%, Kalium asetat, pereaksi semprot anisaldehyd asam sulfat, FeCl_3 , Dragendorf, Vanillin asam sulfat, Liebermann Burchard dan AlCl_3 , amoniak.

Metode Kerja

A. Ekstraksi

Ekstraksi sampel dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Sebanyak 100 gram simplisia dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dan direndam dengan 600 mL etanol 96%. Hasil ekstrak disaring sebagai filtrat 1, simplisia yang telah diekstrak kemudian diekstrak kembali dengan 400 mL etanol sebagai filtrat 2. Filtrat 1 dan 2 dicampurkan, kemudian dievaporasi pada suhu 40°C dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak pekat.

B. Fraksinasi

Sebagian ekstrak kental etanol dipartisi menggunakan metanol 90% dan heksan dengan perbandingan 1:1 sehingga diperoleh fraksi metanol 1 dan fraksi heksan 1. Fraksi metanol 1 ditambahkan heksan lagi dengan volume yang sama, sehingga diperoleh fraksi metanol 2 dan fraksi heksan 2. Fraksi heksan 1 dan 2 kemudian dicampur.

Ekstrak ditambahkan dengan air dan etil asetat dalam corong pisah

dengan perbandingan 1:1, diperoleh fraksi air dan fraksi etil asetat. Hasil akhir diperoleh 4 bagian, yaitu ekstrak etanol, fraksi heksan, air, dan etil asetat.

C. Analisis Profil KLT

Fase gerak yang digunakan adalah kloroform : aseton (3 : 1) v/v, fase diam yang digunakan silika gel F_{254} . Masing-masing ekstrak dan fraksi dibuat 7 totolan pada plat KLT menggunakan *microsyringe* 5 μL . Bercak dideteksi pada lampu UV 254 nm dan 366 nm kemudian diberi berbagai pereaksi semprot, seperti anisaldehyd asam sulfat, FeCl_3 , Dragendorf, KOH etanolik, vanillin asam sulfat, Liebermann Burchard dan AlCl_3 untuk ekstrak etanol dan masing-masing fraksi.

D. Dilusi

Masing-masing ekstrak etanol, fraksi heksan, air dan etil asetat dilarutkan dalam pelarut DMSO 10%. Media yang digunakan pada uji dilusi cair adalah *Mueller Hinton Broth*. Seri kadar dibuat dengan pengenceran bertingkat menjadi beberapa konsentrasi: 20 mg/mL, 15 mg/mL, 10 mg/mL, dan 5 mg/mL. Sembilan belas tabung reaksi disiapkan, tabung reaksi 1-16 digunakan untuk uji dan tabung reaksi 17-19 masing-masing untuk kontrol positif, negatif, dan kontrol pelarut.

Masing-masing tabung ditambahkan bakteri *S. aureus* sebanyak

50 µL. Untuk kontrol positif, dimasukkan 4,9 mL media + 50 µL antibiotik standar (Seftazidim) + 50 µL *S. aureus*. Kontrol negatif dimasukkan 4,95 mL media + 50 µL *S. aureus*. Sedangkan kontrol pelarut dimasukkan 2,95 mL media + 2 mL DMSO 10 % + 50 µL *S. aureus*. Setelah itu semua tabung uji dan kontrol diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Untuk mengetahui KBM ekstrak dan fraksi daun kersen, konsentrasi sampel yang dianggap sebagai KHM digoreskan pada media *Mueller Hinton Agar*. Hasil dilusi kemudian diinkubasi kembali pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Replikasi dilakukan sebanyak 3 kali.

- E. Pengukuran Kadar Flavonoid Total
- Total flavonoid dari ekstrak dan fraksi-fraksi daun kersen dihitung berdasarkan metode kolorimetri yang dilakukan oleh Chang *et al.* (2002). Setiap 0,2 mL larutan sampel ditambahkan 3,7 mL etanol 95%, 0,1 mL AlCl_3 10%, 0,1 mL kalium asetat 1 M dan ditambahkan aquades hingga tanda batas, lalu dicampur hingga homogen dan didiamkan selama 30 menit. Kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum. Kuersetin digunakan sebagai kurva kalibrasi dengan konsentrasi 100-600 µg/mL. Replikasi data dilakukan sebanyak 3 kali⁽¹²⁾.

Kadar flavonoid total dihitung ekuivalen dengan jumlah (g) kuersetin/100 g sampel⁽¹²⁾. Kadar flavonoid total yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan metode *One Sample Kolmogorov-Smirnov test* dengan taraf kepercayaan 95% untuk melihat apakah data yang diperoleh tiap kelompok terdistribusi normal atau tidak. Apabila terdistribusi normal, dilanjutkan dengan uji ANOVA dengan taraf kepercayaan 95% untuk melihat perbedaan signifikan dari tiap kelompok, dilanjutkan uji Tukey untuk mengetahui lebih lanjut perbedaan antar kelompok. Setelah itu dilihat korelasi antara keduanya menggunakan korelasi *Pearson*, untuk mengetahui aktivitas penghambatan terhadap *S. aureus* berbanding lurus atau tidak dengan kadar flavonoid total yang terkandung dari masing-masing ekstrak dan fraksi yang berbeda.

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Determinasi Tanaman

Determinasi *Muntingia calabura* L. Hasil uji determinasi menggunakan literatur kunci determinan *Flora of Java* adalah sebagai berikut:

1b – 2b – 3b – 4b – 6b – 7b – 9b – 10b – 11b – 12b – 13b – 14a – 15a (Golongan 8) – 109b – 119b – 120b – 128b – 129b – 135b – 136b – 139b – 140b – 142b – 143b – 146b – 154b

– 155b – 156b – 162b – 163b – 167b – 169b – 171b – 177b – 179a – 180b – 182b – 183b – 184b – 185b – 186b (74. *Tiliaceae*) – 1a (*Muntingia calabura* L.).

B. Hasil Ekstraksi dan Fraksinasi

Sebanyak 150 gram ekstrak etanol difraksinasi berturut-turut dengan heksan, etil asetat, dan air. Ekstrak etanol dengan warna hijau pekat kehitaman diperoleh sebanyak 199,62 g dan rendemen 30,7%; Fraksi heksan dengan warna hitam pekat diperoleh sebanyak 11,56 g dan rendemen 1,78%; Fraksi etil asetat dengan warna coklat kehitaman diperoleh sebanyak 105,57 g dan rendemen 16,24%; Fraksi air dengan warna merah bata-pekat kehitaman diperoleh sebanyak 28,25 g dan rendemen 4,35%.

C. Hasil Identifikasi KLT

Profilkromatogram memperlihatkan bahwa pada fraksi air tidak ditemukan adanya spot setelah proses eluasi menggunakan fase gerak kloroform : aseton (3:1) pada plat KLT silika gel F₂₅₄. Hal ini kemungkinan disebabkan senyawa-senyawa yang terkandung di dalam fraksi air bersifat polar. Lebih lanjut, pada ekstrak etanol, fraksi heksan, dan fraksi etil asetat menunjukkan adanya spot-spot yang dapat dilihat baik pada sinar tampak (visibel) berwarna kuning kecoklatan dan UV 254 nm berwarna hitam. Warna tersebut tidak menunjukkan perbedaan baik

sebelum maupun sesudah diuapi amoniak. Kebanyakan flavonoid tidak dapat terlihat langsung secara visibel maupun UV 254 nm. Penguapan amoniak dapat memperkuat intensitas warna, sesuai dengan sifatnya bahwa flavonoid akan berpendar apabila dilihat dengan sinar UV 366 nm.

Sebelum dan sesudah penguapan dengan amoniak, untuk ekstrak etanol, fraksi etil asetat, dan fraksi air pada sinar UV 366 nm terdapat lengkungan seperti cincin berwarna biru. Menurut Markham (1998), jenis flavonoid yang mungkin menyebabkan perubahan warna tersebut adalah isoflavon yang tidak mengandung 5-OH bebas. Untuk warna merah jingga redup jenis flavonoid yang mungkin adalah antosianidin 3-glikosida sedangkan fluorosensi kuning yang terdapat pada fraksi etil asetat menunjukkan jenis flavonoid yang mungkin adalah auron yang mengandung 4'-OH bebas dan beberapa 2- atau 4-OH khalkon⁽¹³⁾.

Hasil identifikasi senyawa kimia dengan berbagai pereaksi semprot: AlCl₃, anisaldehydasulfat, Dragendorf, FeCl₃, Liebermann Burchard, dan vanilin as. sulfat menunjukkan bahwa ekstrak dan fraksi selain mengandung senyawa flavonoid juga mengandung senyawa lain, seperti tanin, fenolik, steroid, dan triterpenoid.

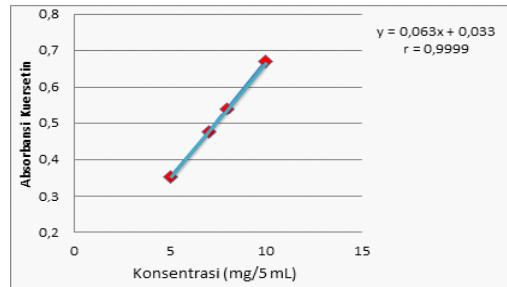
D. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

Hasil yang diperoleh sebagai berikut, fraksi yang paling aktif adalah

fraksi etil asetat dengan KBM 0,312 mg/mL. Artinya, pada konsentrasi 0,312 mg/mL fraksi etil asetat masih mampu membunuh bakteri (memiliki aktivitas antibakteri). Terbaik kedua sebagai ekstrak/fraksi yang memiliki aktivitas antibakteri adalah ekstrak etanol dengan KBM 1,250 mg/mL. Terbaik ketiga adalah fraksi air dengan KBM 2,500 mg/mL. Untuk fraksi heksan, hingga konsentrasi 40 mg/mL masih tidak memiliki aktivitas antibakteri, sehingga dapat dikatakan bahwa KBM untuk fraksi heksan adalah >40 mg/mL. Hal ini diperkuat dengan penelitian yang dilakukan oleh Handayani (2013), pada uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi paper disk menunjukkan bahwa fraksi heksan pada konsentrasi 1%, 2%, dan 4% tidak memiliki diameter zona hambat yang berarti fraksi heksan tidak dapat menghambat pertumbuhan *S. aureus*⁽¹⁴⁾.

E. Hasil Pengukuran Kandungan Flavonoid Total

Panjang Gelombang (λ) maksimum yang diperoleh untuk kuersetin adalah 428 nm pada konsentrasi 50 ppm dengan *operating time* 30 menit, dimana pada waktu ini absorbansi kuersetin yang dihasilkan relatif stabil. Kemudian kurva baku dibuat dengan konsentrasi 5 ppm, 7 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm, karena pada konsentrasi tersebut dihasilkan absorbansi yang memenuhi kisaran absorbansi yang baik, yakni 0,2 - 0,8.



Gambar 1. Grafik Hubungan antara Konsentrasi kuersetin (ppm) dan Absorbansi Kuersetin (n= 3).

Data kurva baku yang diperoleh (Gambar 1) digunakan untuk membuat persamaan regresi linier, dimana diperoleh persamaan regresi $Y = 0,063 + 0,033$ dengan nilai koefisien korelasi ($r = 0,9999$). Persamaan regresi ini digunakan untuk menghitung kandungan flavonoid total dalam ekstrak dan fraksi daun kersen.

Kandungan flavonoid total ditentukan dari masing-masing sampel. Setiap ekstrak dibuat konsentrasi tertentu kemudian direaksikan dengan $AlCl_3$. kandungan flavonoid total secara berurutan dari yang paling besar adalah fraksi etil asetat 5,624%, ekstrak etanol 2,687%, fraksi heksan 1,322%, dan fraksi air 1,131%. Untuk fraksi heksan diperoleh kadar flavonoid total lebih tinggi dibandingkan fraksi air. Hal ini tidak sesuai dengan data aktivitas antibakteri yang menunjukkan fraksi heksan hingga konsentrasi 40 mg/mL tidak memiliki aktivitas antibakteri. Secara teori, heksan merupakan pelarut yang bersifat non polar, sedangkan flavonoid yang dapat

bereaksi dengan $AlCl_3$ adalah flavonoid terhidrolisis yang bersifat semipolar.

Spektrofotometri UV-Vis merupakan pengukuran interaksi antara radiasi elektromagnetik panjang gelombang tertentu yang sempit dan mendekati monokromatik, dengan molekul atau atom dari suatu zat kimia. Hal ini didasarkan pada kenyataan bahwa molekul selalu mengabsorpsi cahaya elektromagnetik jika frekuensi cahaya tersebut sama dengan frekuensi getaran dari molekul tersebut. Untuk analisa kuantitatif, penggunaannya didasarkan pada hukum Lambert-Beer yang menyatakan hubungan empirik antara intensitas cahaya yang ditransmisikan dengan tebalnya larutan serta hubungan antara intensitas tersebut dengan konsentrasi zat⁽¹⁵⁾. Karena larutan uji pada fraksi heksan tidak jernih seperti fraksi lainnya, dikhawatirkan absorbansi yang terhitung tidak terjadi akibat interaksi antara radiasi elektromagnetik dengan molekul atom dari suatu zat kimia yang ada dalam fraksi heksan tetapi absorbansi yang tinggi dari fraksi heksan disebabkan rendahnya transmisi cahaya melainkan cahaya yang dipantulkan kembali tanpa adanya interaksi dengan molekul dari fraksi heksan.

F. Korelasi Antara Aktivitas Antibakteri dengan Kandungan Flavonoid Total

Pada Gambar 2a persamaan garis regresi linier hubungan kandungan

flavonoid total (x) dengan KBM (y), ekstrak dan fraksi daun kersen menunjukkan nilai intersep sebesar 2,305 dan nilai slope sebesar -0,447 dengan koefisien korelasi $r = -0,47$. Hal ini menunjukkan bahwa peran kontribusi senyawa flavonoid terhadap aktivitas antibakteri sebesar 47%, sementara itu sisanya 53% merupakan kontribusi senyawa lain yang juga berpotensi sebagai antibakteri.

Analisis menggunakan metode *One Sample Kolmogorov-Smirnov test* dengan taraf kepercayaan 95%. Hasil uji normalitas menunjukkan bahwa data yang diperoleh terdistribusi normal. Analisa kemudian dilanjutkan dengan uji ANOVA dengan hasil signifikansi 0,000 ($p < 0,05$) yang berarti kadar flavonoid total tiap ekstrak dan fraksi memiliki perbedaan secara bermakna. Dari hasil uji Tukey menunjukkan fraksi air dengan konsentrasi 200 ppm dengan fraksi heksan 100 ppm tidak memiliki perbedaan kadar flavonoid total yang bermakna ($p > 0,05$), tetapi memiliki perbedaan yang bermakna dengan ekstrak etanol dan fraksi etil asetat 100 ppm ($p < 0,05$). Fraksi air 200 ppm memiliki perbedaan kadar flavonoid total yang bermakna dengan ekstrak etanol dan fraksi etil asetat 100 ppm ($p < 0,05$). Ekstrak etanol 100 ppm memiliki perbedaan kadar flavonoid total yang bermakna dengan fraksi air, heksan, dan etil asetat ($p < 0,05$). Fraksi etil asetat 100 ppm memiliki perbedaan kadar flavonoid total yang

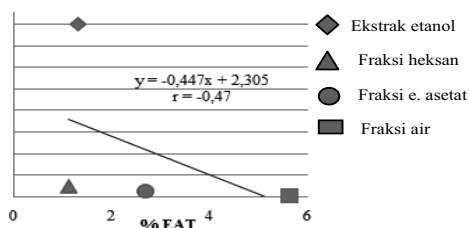
bermakna dengan fraksi air, heksan, dan ekstrak etanol ($p < 0,05$).

Selanjutnya, untuk melihat korelasi antara kadar flavonoid total dengan besarnya KBM dilakukan perhitungan secara statistik dengan metode korelasi *Pearson*. Diperoleh nilai signifikansi (sig (2-tailed)) sebesar 0,138, tidak terdapat korelasi yang bermakna antara dua variabel yang diuji ($p > 0,05$). Diperoleh nilai korelasi -0,454, berdasarkan hasil tersebut diketahui bahwa besarnya aktivitas antibakteri hanya 45% dipengaruhi oleh kandungan flavonoid total dengan interpretasi sedang. Adapun hasil analisis data menunjukkan adanya korelasi negatif (nilai r minus) dapat diinterpretasikan bahwa antara 2 variabel yang diujikan berlawanan arah, yakni semakin besar kandungan flavonoid totalnya maka semakin kecil nilai KBM. Dengan kata lain semakin besar kandungan flavonoid totalnya, semakin tinggi aktivitas antibakterinya.

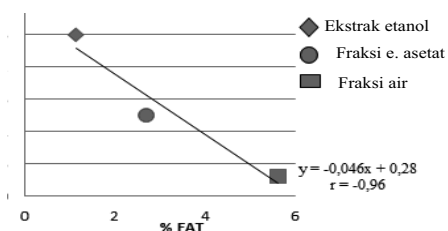
Adapun korelasi apabila nilai KBM dan kandungan flavonoid total dari fraksi heksan tidak dimasukkan (Gambar 2b). Berdasarkan grafik tersebut menunjukkan korelasi yang

lebih baik dengan nilai $r = -0,96$ yang menandakan bahwa peran kontribusi senyawa flavonoid terhadap aktivitas antibakteri sebesar 96 %, sementara itu sisanya 4 % merupakan kontribusi senyawa lain yang juga berpotensi sebagai antibakteri.

Analisis menggunakan metode *One Sample Kolmogorov-Smirnov test* dengan taraf kepercayaan 95%. Hasil uji normalitas menunjukkan bahwa data yang diperoleh terdistribusi normal. Analisis kemudian dilanjutkan dengan uji Anova dengan hasil signifikansi 0,000 ($p < 0,05$) yang berarti kadar flavonoid total tiap ekstrak dan fraksi memiliki perbedaan secara bermakna. Dari hasil uji Tukey menunjukkan fraksi air konsentrasi 200 ppm memiliki perbedaan kadar flavonoid total yang bermakna dengan ekstrak etanol dan fraksi etil asetat 100 ppm ($p < 0,05$). Ekstrak etanol 100 ppm memiliki perbedaan kadar flavonoid total yang bermakna dengan fraksi air dan etil asetat 100 ppm ($p < 0,05$). Fraksi etil asetat 100 ppm memiliki perbedaan kadar flavonoid total yang bermakna dengan fraksi air dan ekstrak etanol 100 ppm ($p < 0,05$).



(2 a) dengan fraksi heksan



(2 b) tanpa fraksi heksan

Gambar 2. Korelasi kadar total flavonoid dan aktivitas antibakteri dengan fraksi heksan dan tanpa fraksi heksan

Selanjutnya, untuk melihat korelasi antara kadar flavonoid total dengan besarnya nilai KBM dilakukan perhitungan secara statistik dengan metode korelasi *Pearson*. Diperoleh nilai signifikansi (sig (2-tailed)) sebesar 0,000, terdapat korelasi yang bermakna antara dua variabel yang diuji ($p < 0,05$). Diperoleh nilai korelasi -0,937, berdasarkan hasil tersebut diketahui bahwa besarnya aktivitas antibakteri 93% dipengaruhi oleh kandungan flavonoid total dengan interpretasi sangat kuat. Adapun hasil analisis data menunjukkan adanya korelasi negatif (nilai r minus) dapat diinterpretasikan bahwa antara 2 variabel yang diujikan berlawanan arah, yakni semakin besar kandungan flavonoid totalnya maka semakin kecil nilai KBM. Dengan kata lain semakin besar kandungan flavonoid totalnya, semakin tinggi aktivitas antibakterinya.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

1. KBM untuk fraksi heksan > 40 mg/mL, fraksi air 2,5 mg/mL, ekstrak etanol 1,25 mg/mL dan fraksi etil asetat 0,312 mg/mL.
2. Aktivitas antibakteri yang paling besar dari ekstrak dan fraksi daun kersen (*Muntingia calabura*) terhadap *Staphylococcus aureus* adalah fraksi etil asetat dengan Kadar Bunuh Minimum (KBM) sebesar 0,312 mg/mL.

3. Kandungan flavonoid total mempengaruhi besarnya aktivitas antibakteri. Sebesar 93% aktivitas antibakteri dipengaruhi oleh kandungan flavonoid total yang menunjukkan semakin besar kandungan flavonoid totalnya, semakin tinggi pula aktivitas antibakterinya.

Saran

Perlu dilakukan identifikasi lebih lanjut terkait senyawa-senyawa lain yang juga memiliki aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi daun kersen serta perlu dilakukan pengembangan formulasi sediaan antibakteri daun kersen agar pemanfaatannya dapat dioptimalkan.

DAFTAR PUSTAKA

- Radji, M., 2011, *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*, EGC, Jakarta.
- Anonim, 2009, *Meninggococcal, Staphylococcal, and Streptococcal Infections*, http://www.who.int/vaccine_research/documents/Meningo20091103.pdf (diakses pada tanggal 13 Februari 2013).
- Dripa, S., Endang, I., Achmad, B., Soedjak, N., Indriyatni U., dan Ramadhani, R. B., 2004, *Farmakologi Dasar dan Klinik*, Edisi 8, Salemba Medika, Jakarta.
- Anonim, 2013, *Tingkat Manfaat dan Keamanan Tanaman Obat dan Obat Tradisional Farmasi Bahan*

- Alam UGM*, <http://www.fbaugm.wordpress.com/2008/08.10> (diakses pada tanggal 13 Februari 2013).
- Kardinan, A., dan Kusuma F. R., 2004, *Meniran Penambah Daya Tahan Tubuh Alami*, Agromedia Pustaka, Jakarta.
- Mirzoeva, O. K., Grishanin, R. N., Calder, P. C., 1997, Antimicrobial Action of Propolis and Some of Its Components: the Effect on Growth, Membrane Potential and Motility of Bacteria, *Microbial. Res.*, 152 (5): 239-46.
- Di Carlo, G., Mascolo, N., Izzo, A. A., Capasso, F., 1999, Flavonoids: Old and New Aspects of a Class of Natural Therapeutic Drugs, *Life. Sci.*, 65 (4): 337-53.
- Estrela, C., Sydney, G. B., Bammann, L. L., Felipe, Jr. O., 1995, Mechanism of Action Calcium and Hydroxyl Ions of Calcium Hydroxide on Tissue and Bacteria, *Brazil. Dent. J.*, 6 (2): 85-90.
- Setiyaningsih, A., Yuniarti, E., Anwar, N., 2010, Dodol Kersen (*Muntingia calabura*) dengan Kandungan Vitamin C Tinggi Sebagai Peningkat Daya Tahan Tubuh, *Laporan Penelitian*, Fakultas Teknologi Industri Pertanian Bogor, Bogor.
- Zakaria, Z.A., Sufian, A. S., Ramasamy, K., Ahmat, N., Sulaiman, M. R., Arifah, A. K., Zuraini, A., Somchit, M. N., 2010, In Vitro Antimicrobial Activity of *Muntingia calabura* Extracts and Fractions, *Afr. J. Microbiol. Res.*, 4 (4): 304-305.
- Chen, J.J., Lin, R. W., Duh, C. Y., Huang, H. Y., Chen, I. S., 2004, Flavones and Cytotoxic Constituents from the Stem Bark of *Muntingia calabura*, *J. Chinese. Chem. soc.*, 51 (3): 665.
- Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., Chern, J. C., 2002, Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods, *J. Food. Drug. Anal.*, Vol. 10 (3): 178-182.
- Markham, K. R., 1998, *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, ITB Press, Bandung, 1-2. 10. 38-39.
- Handayani, T., 2013, Analisis Korelasi antara Kadar Fenolik dengan Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) terhadap *Staphylococcus aureus*, *Skripsi*, Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta.
- Roth, H. J., 1994, *Analisis Farmasi*, Cetakan kedua, diterjemahkan oleh Sardjono Kisman dan Slamet Ibrahim, Penerbit UGM press, Yogyakarta.