



Uji aktivitas antibakteri dan analisis KLT - bioautografi ekstrak etanol 70% daun *Peperomia obtusifolia* (L.) A. Dietr terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 2305

Endah Kartikawati ¹, Syumillah Saepudin ^{*1}, Aulia Marni ¹,
Taufik Septiyan Hidayat ², Yunita Al Azzahra ³

¹ Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Al Ghifari, Bandung, Indonesia

² Program Studi D3 Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Holistik, Purwakarta, Indonesia

³ Akademi Farmasi Bumi Siliwangi, Bandung, Indonesia

* Korespondensi: Jalan Cisaranten Kulon No. 140 Arcamanik, Bandung, Indonesia

Email: symillas1221@gmail.com

ABSTRAK

Latar belakang: *Peperomia obtusifolia* (L.) A. Dietr merupakan tanaman dari keluarga Piperaceae. *Peperomia obtusifolia* (L.) A. Dietr secara empiris dapat digunakan untuk menyembuhkan berbagai jenis penyakit seperti pengobatan asma, sakit maag, nyeri, peradangan dan infeksi bakteri.

Tujuan penelitian: Mengetahui daya hambat dari ekstrak etanol 70% daun *Peperomia obtusifolia* (L.) A. Dietr terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

Metode penelitian: Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol 70% daun *Peperomia obtusifolia* (L.) A. Dietr dengan metode difusi secara *in vitro* (Kirby-Bauer) menggunakan kertas cakram dengan konsentrasi 6,25; 12,5; 25; dan 50%. Pengujian dengan metode KLT-Bioautografi menggunakan Bioautografi kontak langsung. Aktivitas antibakteri terhadap ekstrak daun *Peperomia obtusifolia* dilakukan dengan uji KLT-Bioautografi menggunakan fase gerak metanol : n-heksan (8:2).

Hasil: Berdasarkan hasil uji *Duncan*, konsentrasi terbaik ekstrak etanol 70% daun *Peperomia obtusifolia* (L.) A. Dietr yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* yaitu konsentrasi 50% dengan rata-rata zona hambat sebesar $7,08 \pm 0,18$ mm. Hasil pengujian menggunakan metode KLT-Bioautografi menunjukkan bahwa tidak adanya zona hambat pada bercak noda kromatografi lapis tipis.

Simpulan: Konsentrasi terbaik dari semua konsentrasi ekstrak etanol 70% daun *Peperomia obtusifolia* (L.) A. Dietr terdapat pada konsentrasi 50% dengan rata-rata zona hambat sebesar $7,08 \pm 0,18$ mm. Pada metode KLT-Bioautografi ekstrak daun *Peperomia obtusifolia* (L.) A. Dietr, pada profil kromatografi terdapat tiga bercak noda dengan nilai Rf 1: 0,71, Rf 2: 0,65, dan Rf 3: 0,57, dan Bioautografi kontak tidak mampu memberikan zona hambat.

Keyword: *Peperomia obtusifolia* (L.) A. Dietr, Antibakteri, *Escherichia coli*, Difusi cakram (Kirby-Bauer), KLT-Bioautografi

ABSTRACT

Background: *Peperomia obtusifolia* (L.) A. Dietr is a plant from the Piperaceae family. *Peperomia obtusifolia* is a traditional plant that can cure various types of diseases such as treating asthma, stomach ulcers, pain, inflammation and bacterial infections.

Research purposes: to determine the inhibitory power of *Peperomia obtusifolia* (L.) A. Dietr leaf extract on the growth of *Escherichia coli* bacteria

Research methods: Testing of antibacterial activity used an *in vitro* diffusion method (Kirby-Bauer) using disc paper with concentrations of 6.25%, 12.5%, 25% and 50% with 5% DMSO which had

previously been carried out by the extraction process using a maceration method using solvent ethanol 70%, and testing using the TLC-Bioautography method using direct contact Bioautography. Antibacterial activity against the 70% ethanol extract of *Peperomia obtusifolia* (L.) A. Dietr leaves was carried out using the TLC-Bioautografio test using the mobile phase methanol: n-hexane (8:2). The test results were analyzed using One Way ANOVA and Duncan's test

Results: Based on Duncan's test results, the best concentration of *Peperomia obtusifolia* (L.) A. Dietr leaf extract which is most effective in inhibiting the growth of *Escherichia coli* bacteria is a concentration of 50% with an average inhibition zone of 7.08 ± 0.18 mm. The test results using the TLC-Bioautography method show that there was no inhibition zone in the thin layer chromatography spots

Conclusion: The best concentration of all ethanol extracts of 70% leaves of *Peperomia obtusifolia* (L.) A. Dietr was found at a concentration of 50% with an average inhibition zone of 7.08 ± 0.18 mm. In the TLC-Bioautographic method of leaf extract of *Peperomia obtusifolia* (L.) A. Dietr, on the chromatographic profile there were three stain spots with values of Rf 1: 0.71, Rf 2: 0.65, and Rf 3: 0.57, and contact bioautography was unable to provide an inhibition zone.

Keywords: *Peperomia obtusifolia* (L.) A. Dietr, Antibacterial, *Escherichia coli*, Disc diffusion (Kirby-Bauer), TLC-Bioautography

PENDAHULUAN

Indonesia dikenal sebagai pusat keanekaragaman hayati dunia. Sekitar 9.600 spesies tumbuhan berkhasiat obat tumbuh di Indonesia dan kurang lebih 300 spesies yang telah dimanfaatkan sebagai bahan baku obat tradisional (1).

Salah satu tanaman yang juga secara tradisional digunakan yaitu tanaman dengan genus *Peperomia* yang berasal dari tanaman famili Piperaceae. Genus *Peperomia* ini memiliki lebih dari 1000 spesies dan sekitar 100 spesies *Peperomia* tersebar di Asia termasuk Indonesia (2).

Peperomia memiliki sekitar 1700 spesies umum hampir seluruh wilayah tropis, tanaman ini memiliki banyak kegunaan sebagai obat tradisional untuk pengobatan asma, sakit maag, infeksi bakteri, nyeri, dan peradangan. Spesies *Peperomia* menghasilkan beberapa golongan metabolit sekunder seperti flavonoid, secolignan, zat fenolik terprenilasi, kromen, poliketida, lignan, tetrahidrofuran, terpenoid, meroterpenoid, dan amida (3).

Peperomia obtusifolia (L.) A. Dietr dikenal luas sebagai *baby rubber* atau tanaman peplan hijau. Di Amerika Tengah menggunakan tanaman ini untuk mengobati gigitan serangga dan ular serta sebagai penyakit kulit (4). Penelitian sebelumnya pada *Peperomia obtusifolia* (L.) A. Dietr

menghasilkan isolasi kroma, flavonoid, lignin, dan metabolit sekunder lainnya. Beberapa aktivitas biologis telah dijelaskan untuk senyawa yang diisolasi spesies ini, seperti trypanocidal, anti-inflamasi, dan antibakteri (3).

Daun *Peperomia obtusifolia* (L.) A. Dietr memiliki potensi sebagai bahan baku obat tradisional. Pada penelitian yang telah dilakukan oleh Ruiz Mostacero et al (2019) terhadap daun *Peperomia obtusifolia* (L.) A. Dietr dengan menggunakan ekstrak n-heksan dan diklorometana, untuk menguji aktivitas antibakteri pada bakteri *Staphylococcus aureus* (5).

Pengujian antibakteri menggunakan metode KLT-Bioautografi mulai banyak dilakukan. Bioautografi merupakan suatu metode yang dapat digunakan untuk mendeteksi senyawa bioaktif antimikroba yang belum teridentifikasi dengan cara menghambat aktivitas mikroba tersebut pada suatu kromatogram (6).

METODOLOGI PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain autoklaf, *Laminar Air Flow*, inkubator, *Moisture analyzer*, *rotary*

evaporator, water bath, jarum ose dan alat-alat yang umumnya digunakan di Laboratorium.

Bahan

Bahan penelitian yang digunakan yaitu simplisia daun *Peperomia obtusifolia* (L.) A. Dietr, bakteri *Escherichia coli* ATCC 2305, etanol 70%, media *Mueller Hinton Agar* (MHA), dimetil sulfoksida (DMSO), Ciprofloxacin (Cipro Cip5), H₂SO₄, BaCl₂, plat silika gel Gf₂₅₄, kloroform, N-heksan, metanol, aquadest, HCl p, serbuk Mg, pereaksi Dragendorff, amoniak, FeCl₃ 1 %, gelatin 1%, KOH alkoholis, pereaksi Liebermann-Burchard.

Pengumpulan Bahan dan Determinasi Tanaman

Simplisia yang digunakan dalam penelitian ini yaitu daun *Peperomia obtusifolia* (L.) A. Dietr yang diperoleh di daerah Ujungberung, Bandung. Tanaman kemudian dilakukan determinasi tanaman di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjajaran, Jatinangor.

Pembuatan Simplisia

Daun *Peperomia obtusifolia* (L.) A. Dietr ditimbang dicuci bersih dengan air yang mengalir untuk membersihkan daun dari pengotor (sortasi basah), kemudian dilakukan perajangan untuk mempermudah proses pengeringan. Kemudian dikeringkan di bawah sinar matahari, lalu dilakukan sortasi kering dan dihaluskan menjadi

serbuk, dan disimpan dalam wadah tertutup rapat.

Penetapan Kadar Air

Penetapan kadar air dilakukan menggunakan alat *Moisture analyzer*. Sebanyak 5 g sampel diletakkan merata di atas piringan aluminium pada alat. Kemudian atur alat pada suhu 100°C selama 10 menit. Kadar air yang tertera pada *Moisture analyzer* kemudian dicatat (7).

Penetapan Susut Pengerinan

Simplisia sebanyak 2 g dimasukkan ke dalam cawan penguap yang sebelumnya telah ditimbang, kemudian disimpan pada suhu 105°C selama 2 jam. Waktu dimulai setelah oven mencapai suhu. Setelah 2 jam, cawan penguap berisi sampel didinginkan terlebih dahulu, kemudian dihitung persentasenya (Kemenkes, 2017).

$$\% \text{ Susut pengeringan} = \frac{B_1 - B_2}{B} \times 100 \%$$

Keterangan:

B1 = berat cawan sebelum pemanasan (g)

B2 = berat cawan setelah pemanasan (g)

B = berat simplisia (g)

Penetapan Kadar Sari Larut Air

Simplisia ditimbang sebanyak 5 gram. Kemudian tempatkan pada Erlenmeyer tutup sumbat, ke dalamnya tambahkan air jenuh kloroform sebanyak 100 ml. Kemudian kocok secara berkala. Setelah 24 jam, saring hasil maserasi lalu sebanyak 20 ml filtrat diuapkan pada suhu 105°C hingga bobot tetap. Hitung kadar dalam persen sari larut air (8)

Kadar Sari Larut Air (%) =

$$\frac{\text{Berat akhir} - \text{Berat cawan kosong}}{\text{Berat simplisia}} \times \frac{\text{Vol. pelarut}}{\text{Vol. ekstrak cair}} \times 100 \%$$

Penetapan Kadar Sari Larut Etanol

Simplisia ditimbang sebanyak 5 gram. Tambahkan 100 ml etanol 96% kedalam Erlenmeyer sumbat. Kemudian

kocok secara berkala. Setelah 24 jam, saring hasil maserasi lalu sebanyak 20 ml filtrat diuapkan pada suhu 105°C hingga bobot tetap. Hitung kadar dalam persen sari larut etanol (8).

Kadar Sari Larut Etanol (%) =

$$\frac{\text{Berat akhir} - \text{Berat cawan kosong}}{\text{Berat simplisia}} \times \frac{\text{Vol. pelarut}}{\text{Vol. ekstrak cair}} \times 100 \%$$

Ekstraksi

Sebanyak 70 gram simplisia daun *Peperomia obtusifolia* (L.) A. Dietr ditempatkan dalam bejana maserasi. Kemudian masukan pelarut etanol 70% hingga simplisia terendam, lalu ditutup dan dibiarkan selama 1x24 jam sambil sesekali diaduk. Setelah 24 jam hasil maserasi disaring dan diperoleh ekstrak cair. Proses maserasi dilakukan selama 3 hari dengan pergantian pelarut setiap 24 jam. Ekstrak cair diuapkan menggunakan alat *rotary evaporator* hingga setengah pelarut menguap. Kemudian diuapkan menggunakan *water bath* hingga diperoleh ekstrak dengan konsistensi yang kental. Nilai rendemen ekstrak kental dihitung menggunakan rumus (9):

$$\text{Rendemen ekstrak} = \frac{\text{Berat ekstrak kental}}{\text{Berat simplisia}} \times 100\%$$

Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia dilakukan untuk menentukan kandungan metabolit sekunder pada simplisia dan ekstrak daun *Peperomia obtusifolia* (L.) A. Dietr. Penapisan fitokimia yang dilakukan yaitu meliputi :

Penapisan Alkaloid

Sebanyak 1 gram sampel ditempatkan ke dalam tabung reaksi dan dibasakan dengan 5 mL amoniak 10% lalu diamkan selama 5 menit, kemudian ditambahkan 5 mL kloroform. Kocok tabung reaksi selama 1 menit, lalu pipet lapisan kloroform dan tempatkan pada tabung reaksi baru. Pada tabung reaksi yang berisi kloroform ditambahkan 4 ml HCL 2N, kocok perlahan. Ambil lapisan HCL 2N dan tempatkan pada 2 tabung reaksi. Filtrat pertama ditetesi dengan larutan pereaksi Dragendorff, filtrat kedua sebagai blanko. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya endapan merah bata (10).

Penapisan Flavonoid

Sebanyak 2 mL sampel ditempatkan dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan dengan 2 ml larutan KOH alkoholis. Terjadinya perubahan menjadi warna

kuning menunjukkan hasil positif senyawa flavonoid (11).

Penapisan Fenol

Sebanyak 2 ml sampel ditempatkan pada tabung reaksi kemudian ditambahkan 2 tetes larutan FeCl_3 1%. Sampel dinyatakan positif fenol jika terdapat perubahan warna biru atau hijau kehitaman (9)

Penapisan Tanin

Sebanyak 5 ml sampel ditempatkan pada tabung reaksi kemudian ditambahkan dengan 2 ml gelatin 1%. Adanya endapan menunjukkan adanya tannin (9).

Penapisan Saponin

Sebanyak 5 ml sampel ditempatkan pada tabung reaksi kemudian ditambahkan dengan 5 ml akuades lalu dikocok kuat selama 10 detik. Hasil positif saponin akan menghasilkan busa yang tidak hilang selama 10 menit (12).

Penapisan Steroid atau Triterpenoid

Sebanyak 5 mL sampel ditambahkan dengan 1 ml pereaksi Liebermann – Burchard melalui dinding tabung reaksi. Hasil positif senyawa steroid ditunjukkan dengan perubahan warna menjadi hijau kebiruan dan hasil positif senyawa triterpenoid ditunjukkan dengan terbentuknya cincin kecoklatan atau violet (13).

Pembuatan Medium Pembenihan

Medium *Mueller Hinton Agar* (MHA) digunakan dalam penelitian ini. Sebanyak 10,2 gram media *Mueller Hinton Agar* (MHA) kemudian dilarutkan dalam 300 mL aquadest, dipanaskan kemudian disterilkan dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C . setelah itu, media dibiarkan hingga cukup dingin. Selanjutnya media MHA yang masih cair dituang ke dalam cawan petri sebanyak 20 ml, dan biarkan hingga memadat (14).

Peremajaan Bakteri

Peremajaan bakteri *Escherichia coli* dilakukan dengan memindahkan bibit koloni dari media yang lama ke media yang baru.

Sebanyak 1 ose bakteri digoreskan pada media MHA yang baru secara aseptis, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (14).

Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Bakteri uji *Escherichia coli* yang telah dilakukan peremajaan diambil kurang lebih 1 ose kemudian dimasukkan dalam 3 mL NaCl fisiologis. Hasil suspensi kemudian dibandingkan kekeruhannya dengan larutan *Mc Farland* 0,5 menggunakan pengukuran nilai absorbansi pada alat Spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 625 nm. Nilai absorbansi larutan *Mc Farland* 0,5 yaitu 0,08-0,1 pada panjang gelombang 625 nm (15).

Uji Aktivitas Antibakteri Metode Cakram

Metode penelitian ini menggunakan cakram Kirby-Bauer. Metode ini dilakukan dengan mengamati zona hambat yang terbentuk disekitar cakram (16). Penelitian ini dilakukan terhadap 6 sampel yang terdiri dari:

- Kontrol positif: Ciprofloxacin 5 µg (cakram cipro cip5)
- Kontrol negatif : Larutan DMSO 5%
- Konsentrasi dengan ekstrak daun *Peperomia obtusifolia* (L.) A. Dietr 6,25%, 12,5%, 25%, dan 50%.

Pada cawan diberi label sesuai dengan komponen pengujian. Kemudian pada masing-masing cakram direndam selama 15 menit dengan sampel yang telah ditentukan konsentrasinya, setelah itu kertas cakram diletakkan/ditempelkan ke dalam cawan petri, kemudian diinkubasi selama 24 jam (16).

Pengamatan Dan Pengukuran Zona Bening

Pengamatan yang dilakukan setelah inkubasi. Diameter zona bening yang terbentuk merupakan daerah yang menunjukkan kepekaan bakteri terhadap antibiotik atau larutan uji yang digunakan. Diameter zona bening diukur dalam satuan millimeter (mm) menggunakan jangka

sorong dengan cara mengukur diameter zona bening vertical lalu dibagi dua (17).

Pengujian Dengan Metode KLT-Bioautografi

Hasil pemantauan KLT ekstrak etanol 70% daun *Peperomia obtusifolia* (L.) A. Dietr di uji aktivitas antibakterinya dengan metode KLT-Bioautografi.

Persiapan Plat KLT

Pemisahan senyawa dari ekstrak etanol 70% daun *Peperomia obtusifolia* (L.) A. Dietr dilakukan menggunakan plat silika Gf₂₅₄ berukuran 1x10 cm sebagai fase diam. Selanjutnya beri tanda garis pada tepi atas dan bawah plat dengan jarak 0,5 cm untuk menunjukkan posisi awal tolotan dan tepi atas sebagai tanda batas akhir dari proses elusi. Kemudian plat diaktifkan dengan cara dipanaskan selama 10 menit pada suhu 105°C

Persiapan Fase Gerak (Eluen)

Pembuatan fase gerak dilakukan dengan menempatkan campuran larutan metanol : n-heksan (8:2) ke dalam bejana KLT dan dijenuhkan selama 45 menit. Penjenuhan ini dilakukan agar tekanan uap pada seluruh bejana terdistribusi merata (Saepudin, et al., 2024).

Penotolan Sampel Ekstrak

Sebanyak 100 mg ekstrak kental dilarutkan dengan 2 ml etanol 70%, kemudian sampel ditotolkan sebanyak 5 kali pada tepi bawah plat dengan menggunakan pipa kapiler lalu diangin-anginkan. Setelah itu plat KLT dielusi dengan memasukkan plat KLT ke dalam bejana KLT tegak lurus secara hati-hati. Hasil bercak dilakukan pemantauan kromatografi lapis tipis menggunakan sinar tampak, sinar UV 254 nm dan UV 366 nm. Nilai R_f dapat dihitung dengan rumus (18):

$$\text{Nilai } R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh noda}}{\text{Jarak yang ditempuh eluen}}$$

Uji KLT - Bioautografi

Metode KLT-Bioautografi yang digunakan adalah metode bioautografi langsung. Setelah analit dielusi menggunakan fase gerak, plat KLT diletakkan pada media agar yang memadat dengan posisi silika menghadap bagian permukaan media. Didiamkan selama 30 menit dilemari pendingin, lempeng kromatogram diangkat dan dikeluarkan dari medium. Selanjutnya diinkubasi dengan suhu 37°C selama 1 x 24 jam, dan dilakukan pengamatan untuk melihat adanya zona hambat bakteri (19)

Analisis Data

Analisis data dalam penelitian ini menggunakan penyajian data dalam bentuk tabel. Serta dilakukan analisis secara statistik dengan uji ANOVA dan uji lanjutan yang digunakan untuk melihat perbedaan yang nyata antara perlakuan dengan uji rata-rata *Duncan*

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Pengumpulan Tanaman dan Pembuatan Simplisia

Hasil pengumpulan bahan tanaman berupa daun *Peperomia obtusifolia* (L.) A. Dietr segar sebanyak 300 gram diperoleh dari Kecamatan Ujung Berung, Kota Bandung, Jawa Barat. Hasil determinasi menunjukkan bahwa benar yang digunakan adalah tanaman *Peperomia obtusifolia* (L.) A. Dietr dengan Nomor surat 113/HB/01/2020. Dilakukan pembuatan simplisia terhadap daun *Peperomia obtusifolia* (L.) A. Dietr dan diperoleh simplisia kering sebanyak 95 gram.

Hasil Penetapan Kadar Air

Penetapan kadar air bertujuan untuk mengetahui kandungan air yang terdapat di dalam simplisia. Hasil penetapan kadar air pada daun *Peperomia obtusifolia* (L.) A. Dietr sebesar 5%. Kadar air simplisia dinyatakan memenuhi syarat jika tidak >10% (8).

Hasil Penetapan Susut Pengerinan

Susut pengerinan dilakukan untuk memberikan gambaran batasan maksimal senyawa yang hilang pada saat proses pengerinan. Hasil susut pengerinan pada daun *Peperomia obtusifolia* (L.) A. Dietr sebesar 11%. Susut pengerinan dinyatakan memenuhi syarat jika tidak >10% (8).

Hasil Penetapan Kadar Sari Larut Air dan Etanol

Penetapan kadar sari larut air dan etanol dilakukan untuk mengetahui besaran senyawa yang larut dalam air dan etanol. Hasil penetapan kadar sari larut air pada daun *Peperomia obtusifolia* (L.) A. Dietr sebesar 23% sedangkan hasil penetapan kadar sari larut etanol sebesar 13%. Kadar sari larut air dan etanol dinyatakan memenuhi syarat jika >12% (8).

Hasil Ekstraksi

Dari penelitian yang telah dilakukan didapatkan ekstrak kental daun *Peperomia obtusifolia* (L.) A. Dietr sebesar 32,75 gram dengan hasil persen rendemen ekstrak sebesar 46,78 %.

Hasil Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia dilakukan terhadap simplisia dan ekstrak daun *Peperomia obtusifolia* (L.) A. Dietr. Hasil ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Penapisan Fitokimia

Hasil Pengujian				
Simplisia			Ekstrak	
	Hasil pengujian	Hasil pengamatan	Hasil pengujian	Hasil pengamatan
Alkaloid	(+)(+) (+)	Endapan coklat	(+)(+) (+)	Endapan coklat
Flavonoid	(+)(+)	Jingga	(+)(+)(+)	Merah

Fenol	(+)(+)(+)	Hijau kehitaman	(+)(+)(+)	Hijau kehitaman
Tanin	(+)	Terbentuk sedikit endapan	(+)(+)	Terbentuk endapan
Saponin	(+)(+)	Terbentuk busa	(+)(+)(+)	Terbentuk busa stabil
Steroid	(+)	Kecoklatan	(+)	Kecoklatan

Keterangan :

(+)(+)(+) = Terdeteksi kuat mengandung metabolit sekunder

(+)(+) = Terdeteksi sedang mengandung metabolit sekunder

(+) = Terdeteksi lemah mengandung metabolit sekunder

(-) = Tidak terdeteksi mengandung metabolit sekunder

Hasil uji penapisan fitokimia pada pengujian alkaloid dengan pereaksi Dragendroff hasil positif ditandai dengan terbentuknya endapan merah bata, endapan tersebut merupakan kalium-alkaloid. Dengan menggunakan pereaksi Dragendroff, nitrogen digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan K^+ yang merupakan ion logam (20).

Pengujian flavonoid menunjukkan hasil positif. Pada uji shinoda, ekstrak ditambahkan dengan logam magnesium dan asam klorida (HCl) memberikan warna merah. Penambahan serbuk Mg bertujuan agar gugus karbonil flavonoid berikatan dengan Mg dan fungsi penambahan HCl untuk membentuk garam flavilium yang berwarna merah-jingga (21).

Pada pengujian fenol, hasil positif dinyatakan dengan terbentuknya warna hijau kehitaman setelah ditambahkan dengan larutan $FeCl_3$. Perubahan tersebut terjadi karena adanya pembentukan senyawa kompleks antara ikatan kovalen koordinasi antara ion atom logam atau non logam (22).

Pengujian tanin dengan menambahkan gelatin 1% akan membentuk endapan. Sifat khas tanin adalah mampu mengendapkan protein. Senyawa tanin akan membentuk kopolimer yang memiliki berat jenis lebih besar sehingga tidak larut dalam air (endapan) (22).

Pengujian saponin menunjukkan hasil positif dengan terbentuknya busa yang bertahan lama. Busa yang terbentuk karena adanya kandungan glikosida yang akan membentuk busa dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (23)

Pengujian steroid atau triterpenoid dengan pereaksi Liebermann-Burchard menunjukkan warna coklat, coklat muda, coklat kehitaman, hingga coklat kehijauan. Pereaksi Liebermann-Burchard terdiri dari campuran larutan antara asam asetat dan H_2SO_4 yang sebelumnya telah dilarutkan dengan kloroform, sehingga reaksi yang terjadi pada uji ini adalah suatu kemampuan dari senyawa terpenoid dan steroid yang akan membentuk warna dari pereaksi tersebut (24).

Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak daun *Peperomia obtusifolia* (L.) A.Dietr yang dapat berperan dalam penghambatan pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* diantaranya senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, dan triterpenoid. Senyawa flavonoid diketahui dapat menghambat sintesis protein sehingga terjadi kerusakan pada membran sel bakteri. Alkaloid dapat menghambat pembentukan sel yang dapat menyebabkan kematian pada bakteri. Senyawa saponin memiliki kemampuan untuk mengganggu permeabilitas membrane sel bakteri. Terpenoid memiliki kemampuan untuk merusak dan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri. Hal ini mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi serta terhambatnya perkembangan bakteri hingga menyebabkan kematian bakteri (25,26).

Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun *Peperomia obtusifolia* (L.) A. Dietr

Ekstrak etanol 70% daun *Peperomia obtusifolia* (L.) A. Dietr dilarutkan dengan pelarut dimethyl sulfoxide (DMSO 5%) untuk membuat konsentrasi ekstrak 6,25%, 12,5%, 25%, dan 50%. Selanjutnya

dilakukan uji daya hambat terhadap bakteri *Escherichia coli* dengan menggunakan ekstrak daun *Peperomia obtusifolia* (L.) A. Dietr dengan metode difusi cakram (Kirby Bauer).

Metode difusi cakram merupakan metode pengujian antibakteri menggunakan kertas cakram yang diberikan bahan antibakteri dan ditempatkan pada permukaan atas biakan bakteri. Daerah zona

bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram diukur dan digunakan sebagai data kemampuan aktivitas antimikroba (27).

Hasil penelitian yang telah dilakukan, diperoleh adanya pengaruh ekstrak daun *Peperomia obtusifolia* (L.) A. Dietr terhadap bakteri *Escherichia coli*. hasil tersebut, dapat dilihat adanya area zona bening yang terbentuk dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1.
Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol 70% daun *Peperomia obtusifolia* (L.) A. Dietr terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

Hasil uji ANOVA menunjukkan nilai $p < \alpha$ dengan nilai p (signifikasi) $0,000 < \text{nilai } \alpha < 0,05$. Ekstrak etanol 70% daun *Peperomia obtusifolia* (L.) A. Dietr memiliki pengaruh terhadap bakteri *Escherichia coli*. Data menunjukkan adanya pengaruh dari perlakuan yang diberikan, kemudian

dianalisis menggunakan uji *Duncan* untuk mengetahui ekstrak etanol 70% daun *Peperomia obtusifolia* (L.) A. Dietr memiliki daya hambat terbaik untuk pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* yang dapat dicermati pada Tabel 2.

Tabel 2.
Data rata-rata diameter zona bening dari uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol 70% daun *Peperomia obtusifolia* (L.) A. Dietr terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*

Konsentrasi Ekstrak	Rata-rata <i>clear zone</i> (mm) ± SD*
DMSO 5% (kontrol negatif)	0,00 ± 0,00
Ekstrak 6.25%	0,00 ± 0,00
Ekstrak 12.5%	0,00 ± 0,00
Ekstrak 25%	0,00 ± 0,00
Ekstrak 50%	7,08 ± 0,18
<i>Ciprofloxacin</i> (kontrol positif)	32,56 ± 0,53

Keterangan: Notasi berbeda menunjukkan hasil signifikan dari Uji *Duncan* pada taraf signifikasi 0,05. Data rata-rata 3 kali pengulangan ± standard deviasi.

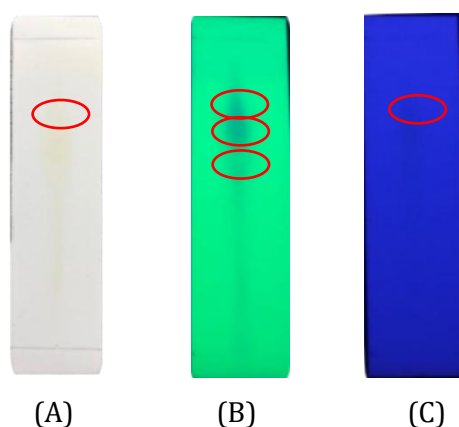
Pada Tabel 3, zona hambat yang dihasilkan ekstrak etanol 70% daun *Peperomia obtusifolia* (L.) A. Dietr pada konsentrasi 6,25%, 12,5%, 25% dan 50%

memiliki aktivitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan terbentuknya zona bening sebagai daerah hambat disekitaran cakram. Hasil uji

Duncan menunjukkan perbedaan dari setiap perlakuan dan diperoleh ekstrak pada konsentrasi 6.25%, 12,5%, dan 25% menunjukkan hasil rata-rata sebesar $0,00 \pm 0,00$ memiliki rata-rata zona hambat terkecil dan diantara konsentrasi ekstrak yang digunakan konsentrasi 50% merupakan konsentrasi yang memiliki aktivitas antibakteri dengan perolehan diameter zona bening rata-rata sebesar $7,08 \pm 0,18$. Pada kontrol positif memiliki rata-rata diameter zona hambat sebesar $32,56 \pm 0,53$ dan rata-rata zona hambat kontrol negatif yaitu $0,00 \pm 0,00$. Hasil tersebut selaras dengan penelitian Egra et al (2019) yang menyatakan bahwa adanya peningkatan

konsentrasi ekstrak tanaman maka, metabolit sekunder dalam ekstrak tanaman juga meningkat (28).

Pada pengujian kedua menggunakan metode KLT-Bioautografi, proses pengujian dilakukan dengan metode bioautografi kontak langsung dengan cara dimana senyawa yang telah ditotolkan pada lempeng KLT diletakkan di atas permukaan medium *Mueler Hinton Agar* (MHA) yang telah diinokulasi bakteri dengan mikroba uji selama 60 menit, kemudian lempeng KLT diangkat secara perlahan dan setelah itu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (29).



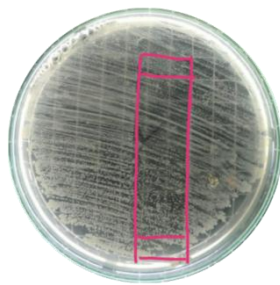
Gambar 2. Kromatogram ekstrak etanol 70% *Peperomia obtusifolia* (L.) A. Dietr menggunakan fase gerak metanol:n-heksan (8:2)

Tabel 3: Hasil pengujian secara KLT-Bioautografi ekstrak etanol 70% menggunakan pengelusi metanol : n-heksan (8:2) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*

Sampel	Bercak ke	Nilai Rf	Zona hambat (mm)
Ekstak etanol 70%	1	0,71	-
	2	0,65	-
	3	0,57	-

Hasil dapat dilihat pada Gambar 2 dan Tabel 3, terdapat tiga bercak yang dihasilkan dan untuk nilai Rf telah

memenuhi ketentuan nilai posisi bercak, karna setiap zat terlarut pada plat KLT yang baik berkisar antara 0,2-0,8 (30).



Gambar 3. Penampakan zona hambat ekstrak etanol 70% menggunakan cairan pengelusi metanol:n-heksan (8:2) terhadap *Escherichia coli*

Berdasarkan hasil yang diperoleh dalam identifikasi profil KLT pada ekstrak daun *Peperomia obtusifolia* dengan menggunakan cairan pengelusi metanol : n-heksan dengan perbandingan (8:2) dapat dilihat pada tabel 3, bahwa pada bakteri *Escherichia coli* tidak menunjukkan adanya zona hambat pada bercak noda kromatografi lapis tipis. Hal ini dapat terjadi karena kurangnya kontak antara kromatogram dengan media pertumbuhan bakteri (29)

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pengolahan data dapat ekstrak etanol 70% daun *Peperomia obtusifolia* (L.) A. Dietr memiliki aktivitas menghambat terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Konsentrasi terbaik dari semua konsentrasi

ekstrak etanol 70% daun *Peperomia obtusifolia* (L.) A. Dietr terdapat pada konsentrasi 50% dengan rata-rata zona hambat sebesar $7,08 \pm 0,18$ mm. Pada metode KLT-Bioautografi ekstrak daun *Peperomia obtusifolia* (L.) A. Dietr, pada profil kromatografi terdapat tiga bercak noda dengan nilai Rf 1: 0,71, Rf 2: 0,65, dan Rf 3: 0,57, dan Bioautografi kontak tidak mampu memberikan zona hambat.

SARAN

Untuk penelitian selanjutnya disarankan untuk melakukan uji KLT – Bioautografi dengan metode yang berbeda seperti bioautografi langsung (*Direct Bioautography*) atau *Agar overlay Bioautography*.

REFERENSI

1. Huda C, Putri AE, Sari DW. Uji aktivitas antibakteri fraksi dari maserat *Zibethinus folium* terhadap *Escherichia coli*. *Jurnal SainHealth*. 2019;3(1):40–5.
2. Wanke S, Neinhuis C, Vanderschaeve L, Goetghebeur P, Samain MS, Mathieu G. Phylogeny of the Genus *Peperomia* (Piperaceae) Inferred from the trnK/matK Region (cpDNA). *Plant Biol*. 2006;8(1):93–102.
3. Ware I, Franke K, Hussain H, Morgan I, Rennert R, Wessjohann LA. Bioactive Phenolic Compounds from *Peperomia obtusifolia*. *Molecules*. 2022;27(14):1–13.
4. Batista ANL, Santos-Pinto JRAD, Batista JM, Souza-Moreira TM, Santoni MM, Zanelli CF, et al. The Combined Use of Proteomics and Transcriptomics Reveals a Complex Secondary Metabolite Network in *Peperomia obtusifolia*. *J Nat Prod*. 2017;80(5):1275–86.
5. Ruiz Mostacero N, Castelli MV, Cutró AC, Hollmann A, Batista JM, Furlan M, et al. Antibacterial activity of prenylated benzopyrans from *Peperomia obtusifolia* (Piperaceae). *Nat Prod Res* [Internet]. 2019;0(0):1–5. Available from: <https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1628751>
6. Yuliawati MK, Syafnir L. Identifikasi Senyawa Aktif Antibakteri Dengan Metode Bioautografi KLT Terhadap Ekstrak Etanol Tangkai Daun Talas (*Colocasia esculenta* (L.) Schott). In: *Prosiding Farmasi Universitas Islam Bandung*. Bandung: Universitas Islam Bandung; 2015. p. 583–90.

7. Arezou R, Maria P, Mehrdad R. Assessment of Soil Moisture Content Measurement Methods: Conventional Laboratory Oven versus Halogen Moisture Analyzer. *Journal of Soil and Water Science*. 2020 Dec 31;4(1).
8. Kemenkes RI. *Farmakope Herbal Indonesia Edisi Kedua*. 2nd ed. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 2017. 209–213 p.
9. Saepudin S, Susilawati Y. ALPHA-GLUCOSIDASE INHIBITOR ACTIVITIES AND PHYTOCHEMICALS SCREENING OF THE PEPEROMIA GENUS CULTIVATED IN INDONESIA. 2022;14(5):117–22.
10. Saepudin S, Dewi L, Nurmallasari R, Kartikawati E, Septiyan Hidayat T, Al Y, et al. Skrining Fitokimia dari Tiga Tanaman Famili Asteraceae dengan Berbagai Pereaksi Kimia. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. 2024;3(3):333–47.
11. Singh V, Kumar R. Study of Phytochemical Analysis and Antioxidant Activity of *Allium sativum* of Bundelkhand Region. *International Journal of Life-Sciences Scientific Research*. 2017 Nov;3(6):1451–8.
12. Tiwari P, Kumar B, Kaur M, Kaur G, Kaur H. Phytochemical screening and Extraction: A Review. *Internationale Pharmaceutica Scientia*. 2011;1(1):98–106.
13. Simaremare ES. Skrining fitokimia ekstrak etanol daun gatal (*Laportea decumana* (Roxb.) Wedd). *PHARMACY: Jurnal Farmasi Indonesia (Pharmaceutical Journal of Indonesia)* . 2014;11(1):98–107.
14. Kartikawati E, Deswati DA, Heidy N. UJI EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAN FRAKSI DAUN JUNGRAHAB (*Baeckea frutescens* L.) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Propionibacterium acnes* ATCC. 1223. *Jurnal Sabdariffarma: Jurnal Ilmiah Farmasi* . 2022;10(2):40–52.
15. Rosmania R, Yanti F. Perhitungan jumlah bakteri di Laboratorium Mikrobiologi menggunakan pengembangan metode Spektrofotometri. *Jurnal Penelitian Sains*. 2020;22(2):76–86.
16. SHCM SHCM. <http://shs-manual.ucsc.edu/policy/kirby-bauerantibiotic-sensitivity>. 2023. Kirby Bauer Antibiotic Sensitivity.
17. Andriani S, Puspariki J, Putriningtias SS. UJI DAYA HAMBAT MASKER GEL PEEL OFF KOMBINASI EKSTRAK DAUN SIRIH CINA (*Paperomia pellucida*) DAN EKSTRAK LIDAH BUAYA (*Aloe vera*) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* DENGAN METODE DIFUSI SUMURAN. *Journal of Holistic and Health Sciences (Jurnal Ilmu Holistik dan Kesehatan)*. 2024 Jul 5;8(1):57–62.
18. Saepudin S, Hanifah HN, Hartono K, Mutiara L, Andita D. PROFIL KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS DAN AKTIVITAS TABIR SURYA EKSTRAK ETANOL 70% DAUN KESUM (*Polygonum minus Huds*). *Jurnal Ilmiah Farmasi Farmasyifa*. 2024 Jul 31;7(2):192–203.
19. Yulistiyani I, Poernomo AT, Isnaeni I. KLT-Bioautografi Ekstrak Etil Asetat Supernatan Hasil Fermentasi *Streptomyces* G Isolat Tanah Rumah Kompos Bratang Surabaya. *JURNAL FARMASI DAN ILMU KEFARMASIAN INDONESIA*. 2021 Apr 27;8(1):1.
20. Tulangow LF. Identifikasi senyawa fitokimia dan uji toksisitas dengan metode BSLT ekstrak etanol bunga ubu-ubu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) dari maluku utara. *Pharmacon*. 2016;5(3).
21. Ramayani SL, Octaviana RW, Asokawati SS. PENGARUH PERBEDAAN PELARUT TERHADAP KADAR TOTAL FENOLIK DAN KADAR TOTAL FLAVONOID EKSTRAK DAUN KITOLOD (*Isotoma longiflora* (L.)). *JAFP (Jurnal Akademi Farmasi Prayoga)*. 2021;6(2):1–10.
22. Noviyanty Y, Hepiyansori H, Agustian Y. Identifikasi dan penetapan kadar senyawa tanin pada ekstrak daun biduri (*Calotropis gigantea*) metode spektrofotometri Uv-Vis. *Jurnal Ilmiah Manuntung*. 2020 Jun 30;6(1):57.
23. Putri PA, Chatri M, Advinda L. Karakteristik saponin senyawa metabolit sekunder pada tumbuhan. *Jurnal Serambi Biologi*. 2023;8(2):252–6.
24. Nurjannah I, Mustariani BAA, Suryani N. SKRINING FITOKIMIA DAN UJI ANTIBAKTERI EKSTRAK KOMBINASI DAUN JERUK PURUT (*Citrus hystrix*) DAN KELOR (*Moringa oleifera* L.) SEBAGAI ZAT AKTIF PADA SABUN ANTIBAKTERI. *SPIN Jurnal kimia & Pendidikan Kimia*. 2022;4(1):23–36.

25. Karlina VR, Nasution HM. Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Dan *Escherichia Coli*. *Journal of Health and Medical Science*. 2022;131–9.
26. Ngajow M, Abidjulu J, Kamu VS. Pengaruh antibakteri ekstrak kulit batang matoa (*Pometia pinnata*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*. *Jurnal Mipa*. 2013;2(2):128–32.
27. Badria SU, Amiriyah D, Fazrani YA, Rahmadani AF, Faisal F. Uji Efektivitas Ekstrak Lengkuas (*Alpinia galanga* L.) terhadap Daya Hambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia Coli*. *Era Sains: Jurnal Penelitian Sains, Keteknik dan Informatika*. 2023;1(4):21–7.
28. Egra S, Mardhiana ., Rofin M, Adiweni M, Jannah N, Kuspradini H, et al. Aktivitas Antimikroba Ekstrak Bakau (*Rhizophora mucronata*) dalam Menghambat Pertumbuhan *Ralstonia Solanacearum* Penyebab Penyakit Layu. *Agrovigor: Jurnal Agroekoteknologi*. 2019 May 21;12(1):26.
29. Nuraeni AD, Kodir RA. Uji Aktivitas Antibakteri *Propionibacterium acnes* Ekstrak Etanol dan Fraksi Daun Karuk (*Piper sarmentosum* Roxb. Ex. Hunter) serta Analisis KLT Bioautografi. *Jurnal Riset Farmasi*. 2021;9–15.
30. Tommy M, Pratama NP, Sari KRP. Perbandingan Kadar Total Fenolik dan Flavonoid Ekstrak Etanol Daun, batang, dan Akar Kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.) dengan Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Pharmacia Mandala Waluya*. 2022;1(5):217–31.