

Potensi ekstrak daun nusa indah putih (*Mussaenda pubescens*) sebagai agen antibakteri pada pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 1055

Endah Kartikawati ¹, Taufik Septiyan Hidayat ^{*2}, Putri Febria Imriani ¹,
Yunita Al Azzahra ³, Syumillah Saepudin ¹

¹ Program Studi Farmasi, Fakultas Mipa, Universitas Al Ghifari

² Program Studi D3 Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Holistik

³ Akademi Farmasi Bumi Siliwangi

* Korespondensi : Jl. Terusan Kapten Halim No. 09, Salam Mulya, Pondok Salam - Purwakarta

Email : taufikseptiyan44@gmail.com

ABSTRAK

Latar Belakang: Masyarakat Indonesia telah lama memanfaatkan tanaman obat sebagai alternatif pengobatan alami, termasuk daun *Mussaenda pubescens* (Nusa Indah Putih) yang memiliki senyawa bioaktif. Metabolit sekunder tanaman ini memiliki khasiat dalam mengatasi penyakit - penyakit infeksi, salah satunya disebabkan oleh *Staphylococcus aureus*, bakteri yang secara alami ditemukan sebagai flora normal namun juga patogen oportunistik.

Tujuan: Penelitian ini dilakukan untuk mengidentifikasi kemampuan antibakteri dari ekstrak daun Nusa Indah Putih pada pertumbuhan bakteri *S. aureus*.

Metode: Metode penelitiannya adalah eksperimental yang kegiatannya meliputi determinasi, membuat simplisia, menetapkan kadar air dan susut pengeringan, ekstraksi dengan maserasi etanol 70%, serta skrining fitokimia. Berbagai konsentrasi ekstrak (50%, 25%, 12,5%, dan 6,25%) diteteskan pada cakram, dengan kloramfenikol sebagai kontrol positif dan DMSO 5% kontrol negatif.

Hasil: Hasil skrining fitokimia teridentifikasi adanya senyawa saponin, alkaloid, tanin, flavonoid, dan terpenoid/steroid. Ekstrak daun Nusa Indah Putih mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan kategori sedang pada konsentrasi 50% (zona hambat 5,8 mm setelah dikurangi disc kosong), sedangkan konsentrasi 25%, 12,5%, dan 6,25% menghasilkan hambatan lemah. Diperoleh perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) setelah dianalisis oleh ANOVA pada tiap kelompok perlakuan.

Simpulan: Berdasarkan hasil penelitian, ekstrak daun Nusa Indah Putih teridentifikasi adanya senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, serta steroid/terpenoid. Selain itu, ekstrak daun nusa indah putih menunjukkan aktivitas antibakteri dengan kemampuan menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.

Kata kunci: antibakteri, daun Nusa Indah Putih, *Staphylococcus aureus*

ABSTRACT

Background: Indonesian people have long used medicinal plants as an alternative natural treatment, including *Mussaenda pubescens* (Nusa Indah Putih) leaves which have bioactive compounds. The secondary metabolites of this plant have properties in treating infectious diseases, one of which is caused by *Staphylococcus aureus*, a bacteria that is naturally found as normal flora but is also an opportunistic pathogen.

Objective: This research was conducted to identify the antibacterial ability of Nusa Indah Putih leaf extract on the growth of *S. aureus* bacteria.

Method: The research method is experimental, the activities include determination, making simplicia, determining water content and drying loss, extraction with 70% ethanol maceration, and phytochemical screening. Various concentrations of extract (50%, 25%, 12.5%, and 6.25%) were dropped on the discs, with chloramphenicol as a positive control and 5% DMSO as a negative control.



Results: The results of phytochemical screening identified the presence of saponins, alkaloids, tannins, flavonoids and terpenoids/steroids. Nusa Indah Putih leaf extract was able to inhibit the growth of *Staphylococcus aureus* in the medium category at a concentration of 50% (5.8 mm inhibition zone after deducting empty discs), while concentrations of 25%, 12.5% and 6.25% produced weak inhibition. A significant difference was obtained ($p < 0.05$) after analysis by ANOVA in each treatment group.

Conclusion: Based on the research results, Nusa Indah Putih leaf extract was identified as containing alkaloids, flavonoids, tannins, saponins, and steroids/terpenoids. In addition, White Nusa Indah leaf extract shows antibacterial activity with the ability to inhibit the growth of *Staphylococcus aureus*.

Keywords: antibacterial, Nusa Indah Putih leaves, *Staphylococcus aureus*.

PENDAHULUAN

Masyarakat Indonesia sudah sejak lama memanfaatkan tumbuhan tradisional sebagai obat. Tanaman obat sampai saat ini kebutuhannya semakin meningkat, bahkan industri telah memproduksi dalam skala besar beberapa bahan alam. Tanaman obat adalah kelompok tanaman yang diketahui mengandung senyawa bioaktif yang berkhasiat dalam membantu pencegahan, peringan gejala, maupun penyembuhan berbagai penyakit. Sejak zaman dahulu, masyarakat telah mempercayai bahwa tanaman memiliki potensi sebagai sumber pengobatan alami untuk berbagai gangguan kesehatan. [1]. Daun *Mussaenda pubescens*, yang dikenal sebagai Nusa Indah Putih, merupakan satu dari beberapa tanaman hayati Indonesia yang memiliki peluang besar untuk dimanfaatkan sebagai obat tradisional.

Tanaman Nusa indah putih (*Mussaenda pubescens*) termasuk ke dalam familia Rubiaceae atau kopi-kopian. Nusa Indah Putih biasanya tumbuh liar di pinggiran hutan atau semak, dengan habitat mulai dari dataran rendah hingga tinggi. Tanaman ini mampu mencapai 2–3 meter, bercabang banyak, berdaun tunggal, dan tampak rimbun. Hasil analisis fitokimia adanya flavonoid, tanin, steroid, dan saponin. Pengujian MIC selanjutnya mengindikasikan bahwa *Staphylococcus aureus* dapat dihambat pertumbuhannya oleh ekstrak daun nusa indah. Senyawa flavonoid diketahui memiliki mekanisme antibakteri yang bakterisid, antara lain dengan cara mendegradasi struktur membran sel bakteri dan merusak struktur protein. [2].

Perubahan pola hidup masyarakat turut berkontribusi terhadap meningkatnya kasus berbagai penyakit, yang sebagian besar disebabkan oleh mikroorganisme patogen, seperti bakteri. Bakteri *S. aureus* termasuk Gram positif berbentuk kokus, dan dapat hidup pada manusia sebagai flora normal, khususnya di area aksila, lipat paha (inguinal), perineum, dan bagian anterior rongga hidung. Diperkirakan sekitar 25–30% populasi manusia menjadi carrier bakteri ini, terutama pada permukaan kulit dan di dalam rongga hidung. [3]. Salah satu pendekatan yang dilakukan adalah memanfaatkan formulasi berisi senyawa aktif yang efektif dalam menghambat atau mematikan bakteri. Senyawa ini digolongkan sebagai antibakteri dan secara medis umumnya disebut antibiotik.

METODE PENELITIAN

Alat dan bahan Penelitian

Dalam kegiatan penelitian menggunakan beberapa alat yaitu timbangan analitik, aluminium foil, lemari pendingin (kulkas), *water bath*, tabung reaksi, *evaporator* putar, gelas ukur, gelas beaker, petridisk, dan cawan porselen. Selain itu, digunakan pula mikropipet, plat tetes, bunsen, batang pengaduk, inkubator, autoklaf, jangka sorong, ose, spatel, *moisture balance*, dan pinset.

Bahan Penelitian

Penelitian ini menggunakan bahan meliputi serbuk daun Nusa Indah Putih sebagai bahan tanaman yang diekstrak, serta

berbagai bahan kimia dan reagen pendukung, yaitu Dimethyl Sulfoxide (DMSO) 5%, Kloramfenikol 5 µg, etanol 70%, media MHA, larutan H₂SO₄ pekat, NaCl, HCl 2N, NaOH 1N, aquades, amonia pekat, CHCl₃, asetat anhidrid, pereaksi Liebermann-Burchard, FeCl₃, pereaksi Mayer, , dan pereaksi Dragendorff. Selain itu, digunakan pula bahan pendukung seperti kasa, kapas, dan kertas coklat.

Penyiapan Bahan dan Determinasi Tanaman

Sampel berupa daun Nusa Indah Putih seberat 1,5 kg didapatkan dari daerah budidaya tanaman hias yang berlokasi di Kota Padang, Identifikasi spesimen tanaman kemudian dilaksanakan di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan herbarium jatinangor, Universitas Padjadjaran.

Pembuatan Simplisia

Tahap awal pengolahan daun Nusa Indah Putih meliputi sortasi basah. Cuci daun dengan air mengalir, dirajang, kemudian keringkan tiak langsung dibawah sinar matahari. Simpan simplisia setelah kering dalam wadah yang rapat dan kedap udara, serta ditempatkan di tempat yang terhindar dari pancaran sinar matahari.

Penetapan Kadar Air Simplisia

Kadar air simplisia daun Nusa Indah Putih ditentukan maksimum 10%. Sebanyak 5 gram sampel ditempatkan pada alat *Moisture Balance*, panaskan sampel selama 10 menit pada suhu 100°C. Proses pengeringan dilakukan sampai jarum indikator merah bergerak ke kanan lalu berhenti. Jika jarum sudah tidak menunjukkan perubahan, alat dimatikan dan hasil kadar air dapat diketahui setelah jarum kembali ke titik awal. [4]. Kadar air kurang dari 10% adalah ketentuan kekeringan simplisia. rumusnya sebagai berikut :

$$\% \text{ Kadar air} = \frac{W - W_1}{W} \times 100\%$$

Keterangan:

W = Bobot sampel asal (gram)

W₁ = Bobot sampel setelah dikeringkan (gram)

Penetapan Susut Pengeringan

Masing-masing 2 gr simplisia dan ekstrak masukan ke dalam cawan porselen bertutup yang telah ditara, lalu dipanaskan selama 30 menit pada suhu 105°C. Setelah itu, krus ditempatkan pada oven dengan tutup dibuka dan dikeringkan pada suhu yang sama sampai bobotnya stabil. Krus kemudian didinginkan dalam eksikator. Proses ini dilakukan tiga kali pengulangan, dan hasil yang diperoleh dihitung dalam satuan persentase [5].

$$\%SP = \frac{\text{berat awal} - \text{berat akhir}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

Pembuatan Ekstrak

Ekstraksi dilakukan dengan meserasi 5 kg serbuk simplisia dari tanaman daun Nusa Indah Putih dalam sebuah bejana hitam yang telah ditambahkan etanol 70%. Proses ini dilakukan selama 1 kali 24 jam sebanyak 3 kali. Simplisia daun Nusa Indah Putih direndam selama 24 jam, dengan pengadukan sesekali dalam 6 jam pertama. Kemudian, larutan direndam disaring menggunakan kain planel untuk menghasilkan filtrat. Filtrat dipisahkan dan proses diulangi dari hari pertama hingga hari ketiga. Setelah proses ekstraksi berlangsung selama tiga hari, filtrat diperoleh dengan cara pemisahan dan pengumpulan, *rotary evaporator* dignakan untuk menghilangkan pelarut . Dari proses ini, diperoleh ekstrak kental yang kemudian digunakan untuk menghitung rendemen ekstrak dengan menggunakan rumus yang telah ditentukan sebagai berikut :

$$\%Rendemen = \frac{\text{Bobot Ekstrak}}{\text{Bobot Simplisia}} \times 100\%$$

Penapisan Fitokimia Uji Alkaloid

Sebanyak 2 gram ekstrak daun Nusa Indah Putih dilarutkan dalam 5 mL larutan HCl 2 N, lalu dimasukan pada tiga tabung reaksi dalam jumlah yang sama. Satu tabung dijadikan blanko, lalu tabung ke 2 diberi tiga tetes pereagen Dragendorff dan tabung ke 3

diberi tiga tetes pereagen Mayer. Adanya endapan jingga pada tabung kedua dan endapan putih pada tabung ketiga mengindikasikan kandungan alkaloid dalam sampel ekstrak. [6].

Uji Flavonoid

Wilstater Cyanidin adalah metode yang digunakan untuk uji flavonoid. Ekstrak daun Nusa Indah Putih masukkan dalam tabung reaksi, tambahkan tiga tetes amil alkohol, dua tetes HCl, dan sedikit serbuk logam magnesium (± 2 mg). Hasil positif ditunjukkan oleh Perubahan warna menjadi kuning kemerahan [6].

Uji Terpenoid-Steroid

a. Lieberman-Burchard

1 mL sampel ditambahkan dengan pereagen Liebermann-Burchard. Terbentuknya warna merah pada larutan menunjukkan Hasil positif untuk uji terpenoid.

b. Salkowski

Campurkan 1 mL sampel dan 1 mL kloroform dan 1 mL (H_2SO_4) pekat. Munculnya warna biru atau hijau pada larutan menunjukkan Reaksi positif terhadap senyawa steroid.

Uji Saponin

Mencampur sebanyak 2 mL ekstrak daun Nusa Indah Putih dengan aquades sebanyak 5 mL, lalu kocok sampai adanya busa yang stabil. Setelah itu, masukan 1 tetes larutan HCl 2N. Terbentuknya busa yang tetap stabil setelah penambahan asam menunjukkan Hasil positif [6].

Uji Tanin

Campurkan 2 mL ekstrak daun *Mussaenda pubescens* dengan 3 tetes larutan FeCl_3 1%, kemudian tambahkan 2–3 tetes (H_2SO_4) pekat. Amati perubahan warna yang dihasilkan. Hasil positif jika terbentuk larutan berwarna kuning kecoklatan [6].

Pengujian Aktivitas Antibakteri Sterilisasi Alat

Semua peralatan yang dipakai menjalani proses sterilisasi sebelum

digunakan untuk penelitian. Peralatan berbahan kaca/gelas serta media MHA disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Selain itu, alat logam seperti pinset dan ose disterilkan menggunakan metode dibakar langsung di atas api.

Pembuatan Larutan

1. Kontrol Negatif

Untuk kontrol negatif, disiapkan DMSO 5% sebanyak 50 mL.

2. Kontrol Positif

Kontrol positif dilakukan dengan cakram antibiotik kloramfenikol 5 μg per disc.

Pembuatan Media Uji Mueller Hinton Agar (MHA)

Mueller Hinton Agar (MHA) sebanyak 53,2 gram dimasukan pada tabung berisi 140 mL aquadest. Campuran larutan selanjutnya dipanaskan hingga mendidih dan homogen sambil diaduk, lalu disterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit.

Pembuatan Standar Kekeruhan Larutan (larutan McFarland)

Larutan McFarland diperoleh dengan mencampurkan 9,5 mL H_2SO_4 1% dengan 0,5 mL $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 1,175% dalam tabung reaksi dan dikocok. Tingkat kekeruhan yang dihasilkan berfungsi sebagai acuan dalam menyetarakan konsentrasi suspensi bakteri.

Pembuatan Suspensi Bakteri

Bakteri *Staphylococcus aureus* yang telah diremajakan pada media Nutrient Agar dilarutkan dalam media cair berupa NaCl 0,90%, dan kekeruhannya disesuaikan dengan standar 0,5 McFarland. Spektrofotometri dilakukan dalam kisaran panjang gelombang 600–625 nm setelah suspensi dipastikan homogen. Hasil pengukuran menunjukkan nilai absorbansi 0,08–0,10, yang merepresentasikan konsentrasi kurang lebih 1×10^8 CFU/mL.

Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Daun Nusa Indah Putih

Pembuatan larutan induk ekstrak daun nusa indah putih dilakukan menggunakan konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, dan 6,25%. Untuk konsentrasi tertinggi (50%), ditimbang 5 gram ekstrak, dilarutkan dalam 10 mL DMSO 5%, lalu ditempatkan dalam labu ukur. Dari larutan tersebut, 5 mL diambil untuk menghasilkan konsentrasi 25% setelah diencerkan hingga tanda batas. Selanjutnya, larutan 25% diencerkan lagi untuk memperoleh konsentrasi 12,5%, dan kemudian dari larutan ini dibuat konsentrasi 6,25%. Sebagai pembanding, kloramfenikol dipakai sebagai kontrol positif dan kontrol negative menggunakan DMSO 5%. Masing-masing kontrol diambil 1 mL menggunakan mikropipet, kemudian dibiarkan selama kurang lebih 1 menit.

Pengujian Antibakteri

Pada uji ini, suspensi bakteri 25 µL ditetaskan pada media MHA dalam cawan petri yang sudah mengeras, kemudian disebarkan merata di permukaannya. Selanjutnya ambil disc cakram satu persatu, masukkan kedalam cawan petri dengan mengambil masing-masing 10 µL. Larutan ekstrak konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, dan 6,25% ditetaskan masing-masing ke cakram steril. Cakram antibiotik kloramfenikol 5 µg digunakan sebagai kontrol positif, kontrol negative menggunakan DMSO 5%. Proses inkubasi seluruh media dilakukan selama 24 jam pada suhu 37°C. Zona bening yang muncul di sekitar cakram menjadi indikator aktivitas antibakteri, kemudian ukurannya ditentukan dengan bantuan jangka sorong. ulang sebanyak tiga kali agar data yang diperoleh lebih akurat.

Analisis Data

Hasil pengukuran zona bening di sekitar cakram melalui uji ANOVA. Uji lanjut Duncan dilakukan jika analisis menunjukkan adanya perbedaan nyata untuk mengidentifikasi perbedaan antar kelompok.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Pengumpulan Bahan

Daun nusa indah putih yang didapat dari Koto Tengah, Kota Padang, Sumatera Barat bulan November, sehingga didapatkan simplisia basah dari masing-masing sampel daun nusa indah putih sebesar 1250 gram dan setelah dilakukan proses pembuatan simplisia maka diperoleh sismplisia kering dari daun nusa indah putih sebesar 300 gram.

Hasil Determinasi Tanaman

Sampel ditentukan melalui proses identifikasi di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Herbarium Jatinangor, departemen biologi Universitas Padjadjaran. Berdasarkan surat hasil determinasi nomor 18/HB/01/2024, tanaman yang digunakan dipastikan sebagai Daun Nusa Indah Putih (*Mussaenda pubescens*). Proses ini bertujuan untuk memastikan identitas botani dan keaslian sampel agar tidak terjadi kekeliruan dalam pengambilan maupun penggunaannya. Dengan demikian, validitas data penelitian dapat lebih terjamin.

Pembuatan Simplisia

Daun Nusa Indah Putih yang dipergunakan harus dalam kondisi masih segar dan hijau secara keseluruhan, tanpa terkontaminasi oleh kapang atau jamur. Simplisia dibuat dengan tahapan berupa sortasi basah, pencucian, pengeringan, sortasi kering, dan penghalusan. Pada tahap pencucian, sampel dicuci dengan air mengalir lalu rajang untuk menghilangkan kotoran yang masih melekat. Selanjutnya, sampel dikeringkan dengan cara dijemur namun tidak langsung terkena sinar matahari agar kadar air dalam daun berkurang, mencegah perubahan kimia dan reaksi enzimatik, serta mencegah pertumbuhan jamur dan bakteri yang tidak diinginkan. Proses penghalusan atau penyerbukan sampel bertujuan untuk memudahkan kontak dengan pelarut selama proses maserasi karena luasnya permukaan kontak. Sehingga kontak dengan pelarut menjadi lebih efisien, ekstraksi dan memudahkan pelarut untuk menarik senyawa yang

berada dalam sampel. Hasil akhir berupa serbuk simplisia seberat 300 gram.

Penetapan Kadar Air

Tabel 1. Hasil Penetapan Kadar Air

Simplisia	Kadar Air %
Daun Nusa Indah Putih	7.5

Pengujian kadar air ini tujuannya agar batas kandungan air dalam sampel dapat diketahui, guna menjamin kestabilan dan mutu simplisia. Proses ini dilakukan menggunakan alat Moisture Analyzer. Kadar air kurang dari 10% adalah syarat simplisia terbaik. Hasil pengujian kadar air pada daun Nusa Indah Putih menunjukkan nilai sebesar 7,5%, yang berarti telah memenuhi syarat sebagai simplisia kering yang baik.

Penetapan Susut Pengeringan

Tabel 2. Hasil Penetapan Susut Pengeringan

Simplisia	Susut Pengeringan (%)
Daun Nusa Indah Putih	7.2

Perhitungan :

$$\text{Rumus : } \frac{W1-W2}{W2} \times 100\%$$

Keterangan :

W1 : berat cawan kosong + sampel awal (sebelum pemanasan)

W2 : berat cawan kosong + sampel akhir (setelah pendinginan)

W3 : berat sampel

Diketahui :

- Berat cawan kosong = 61,05 g
- Berat simplisia = 5 g
- Berat cawan + simplisia awal = 66,92 g
- Berat cawan + simplisia akhir = 66,56 g

Jawab :

- Susut Pengeringan =

$$= \frac{W1-W2}{W2} \times 100\%$$

$$= \frac{66,92-66,56}{5} \times 100\%$$

$$= \frac{0,36}{5} \times 100\%$$

$$= 7.2 \%$$

Pengujian ini dilakukan dengan oven dengan suhu 105°C untuk mengetahui kadar zat yang menguap saat pengeringan. Hasil ini menunjukkan tingkat kemurnian dan potensi kontaminasi pada simplisia. syarat batas maksimal senyawa yang menguap dalam proses pengeringan tidak > 11%. Standar susut pengeringan yang dapat diterima adalah <10%, mengingat parameter ini mewakili air dan senyawa lain yang hilang saat proses pengeringan. Daun Nusa Indah Putih menunjukkan rata-rata susut pengeringan 7,2%, yang berarti nilai tersebut memenuhi persyaratan karena tidak melebihi batas maksimum.

Pembuatan Ekstrak

Ekstrak dibuat dengan cara dimaserasi dengan larutan etanol 70% sebab langkah-langkahnya cukup mudah dilakukan dan tidak memerlukan instrumen yang kompleks. Prinsip kerja maserasi didasarkan pada penyerapan pelarut ke dalam dinding sel tumbuhan, sehingga memungkinkan zat aktif larut ke dalam pelarut. Senyawa aktif berpindah dari dalam sel ke pelarut akibat adanya gradien konsentrasi larutan di dalam dan luar sel (4).

Perhitungan rendemen dilakukan guna membandingkan berat ekstrak yang dihasilkan terhadap bobot awal simplisia kering, serta menilai seberapa besar senyawa bioaktif yang dapat terekstraksi. Rendemen ekstrak dari hasil ekstraksi didapat sebesar 12,41%.

Skrining Fitokimia Ekstrak

Untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder ekstrak daun Nusa Indah Putih maka skrining fitokimia dilakukan pada ekstrak.

Tabel 6. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Nusa Indah Putih

Nama Senyawa	Hasil Uji
Alkaloid (Mayer, Dragendorff)	+
Flavonoid	+
Terpenoid/Steroid	+
Saponin	+
Tanin	+

Keterangan :

- (+) : Mengandung senyawa metabolit
(-) : Tidak mengandung senyawa metabolit sekunder

Uji Alkaloid

Kehadiran senyawa alkaloid ditunjukkan melalui reaksi dengan pereaksi Dragendorff dan Mayer. Jika saat penambahan Mayer menghasilkan endapan berwarna putih, sedangkan pereaksi Dragendorff menghasilkan endapan merah jingga maka ekstrak dikatakan mengandung alkaloid. Prinsip uji ini mengacu pada terbentuknya presipitat akibat pertukaran ligan, di mana atom N pada alkaloid dengan pasangan electron bebas dapat menggantikan ion iodida dari pereaksi. Pereaksi Mayer dibuat dari merkuri (II) klorida dan kalium iodida, sedangkan pereaksi Dragendorff berisi kalium iodida serta bismuth subnitrat dalam larutan asam asetat glasial. HCl ditambahkan untuk menciptakan medium asam, sebab alkaloid yang bersifat basa lebih mudah larut dalam kondisi tersebut. [7].

Uji Flavonoid

Senyawa flavonoid, yang memiliki inti α -benzopiron, menghasilkan garam flavilium berwarna saat direaksikan dengan asam klorida pekat dan serbuk magnesium dalam amil alkohol, sehingga reaksi ini dapat digunakan sebagai metode identifikasi.[8]. Adanya senyawa flavonoid pada sampel dapat dikenali ketika menghasilkan warna merah, kuning, atau jingga pada lapisan amil alkohol. Fungsi Penambahan amil alkohol

pada uji flavonoid untuk memisahkan senyawa flavonoid dari senyawa yang telah terbentuk dengan protonasi flavonoid. Hasil pengujian fitokimia pada sampel menunjukkan hasil positif pada ekstrak daun Nusa Indah Putih terjadinya perubahan warna menjadi jingga.

Uji Terpenoid/Steroid

Deteksi senyawa terpenoid dapat dilakukan menggunakan metode Liebermann-Burchard, yang memanfaatkan CH_3COOH anhidrida dan H_2SO_4 pekat sebagai pereaksi. Keberadaan terpenoid ditandai dengan munculnya warna merah, jingga, atau ungu. Mekanisme reaksi melibatkan interaksi antara pereaksi dan struktur terpenoid yang menghasilkan kompleks berwarna. Dalam uji ini memperlihatkan perubahan warna menjadi merah, yang menandakan adanya kandungan terpenoid pada ekstrak [9]. Metode Salkowski mendeteksi steroid dengan menambahkan kloroform dan asam sulfat pekat; hasil positif tampak dari terbentuknya dua lapisan, merah di atas dan biru-hijau di bawah [10].

Uji Saponin

Keberadaan saponin ditunjukkan oleh busa yang stabil > 10 menit dan tahan terhadap penambahan HCl 2N, yang muncul karena kemampuannya melarut dalam air dan menurunkan tegangan permukaan larutan [11]. HCl 2N berfungsi meningkatkan kepolaran, yang membuat gugus hidrofil lebih stabil dan mendukung kestabilan buih yang terbentuk. [12]. Terbentuknya busa yang stabil dan tidak menghilang setelah beberapa waktu menunjukan positif saponin pada bunga nusa indah. Kehadiran busa ini mengindikasikan adanya senyawa glikosida tipe saponin, yang memiliki kemampuan menghasilkan busa saat larut dalam air. Saponin merupakan senyawa glikosida yang, melalui proses hidrolisis, dapat terurai menjadi komponen gula (glukosa) dan aglikon, yang berkontribusi terhadap sifat pembentukan busa tersebut. [13].



Uji Tanin

Dilakukan uji tanin dengan menambahkan larutan FeCl₃ 1%. Hasil uji menunjukkan bahwa ekstrak daun Nusa Indah Putih positif mengandung tanin, karena terbentuk warna coklat kehijauan karena FeCl₃ yang bereaksi dengan gugus hidroksil pada senyawa tanin.

Hasil Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Nusa Indah Putih

Pada penelitian ini Variabel independen adalah variasi konsentrasi ekstrak daun Nusa Indah Putih yaitu 50%, 25%, 12,5% dan 6,25%. Adapun variabel dependennya adalah diameter ukuran zona hambat pada bakteri *Staphylococcus aureus*. Kontrol positif dilakukan dengan antibiotik kloramfenikol, sedangkan kontrol negatif menggunakan DMSO 5%. metode cakram digunakan untuk Uji daya hambat, dan hasil pengamatan tercantum pada Tabel 7.

Tabel 7. Hasil Pengamatan Diameter Zona Hambat (mm)

Konsentrasi	Uji 1	Uji 2	Uji 3	Rata-rata
+	26,15 mm	30,11 mm	25,77 mm	27,34 mm
-	6,00 mm	6,00 mm	6,00 mm	6,00 mm
50%	9,005 mm	12,47 mm	13,89 mm	11,80 mm
25%	8,35 mm	9,45 mm	9,69 mm	9,16 mm
12,5%	7,62 mm	9,175 mm	8,48 mm	8,42 mm
6,25%	7,00 mm	7,13 mm	8,45 mm	7,52 mm

Efektivitas antibakteri daun Nusa Indah Putih terhadap *Staphylococcus aureus* ditunjukkan oleh terbentuknya zona di sekitar cakram kertas. menunjukkan bahwa ekstrak tersebut memiliki sifat antibakteri. Pada kontrol positif antibiotik kloramfenikol, diameter yang didapatkan termasuk kategori sensitif. Antibiotik kloramfenikol 5 µg diketahui efektif menghambat *S. aureus*, dengan zona hambat berkisar antara 22–33 mm pada konsentrasi 10 µg per cakram [15]. Maka jika dibandingkan dengan diameter zona bening pada variasi konsentrasi ekstrak daun Nusa Indah Putih di konsentrasi 50% dan 25% mempunyai kriteria zona hambat kuat sedangkan pada konsentrasi 12,5% dan 6,25% dikategorikan lemah [16]. Uji yang dilakukan memperlihatkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak, semakin besar pula diameter zona hambat yang dihasilkan.

Saponin, Flavonoid, tanin, dan steroid dalam ekstrak daun Nusa Indah Putih diduga bertindak sebagai agen antimikroba terhadap *S. aureus* melalui mekanisme merusak membran sel, menghambat enzim, dan men-denaturasi protein bakteri [2].

Sebelumnya, larutan uji yang telah dipersiapkan dites menggunakan uji fitokimia. Ekstrak daun Nusa Indah Putih mengandung Saponin, Flavonoid, tanin, dan steroid alkaloid. Alkaloid menghambat sintesis peptidoglikan dinding sel bakteri, menyebabkan kematian sel, sedangkan flavonoid bertindak bakterisid melalui denaturasi protein dan kerusakan membran sel. saponin adalah glikosida triterpenoid atau turunan steroid yang menghasilkan buih dalam air dan bersifat antibakteri dengan cara merusak permeabilitas membran hingga memicu hemolisis. [2]. Tanin bertindak sebagai agen antibakteri dengan cara menimbulkan lisis sel melalui gangguan sintesis dinding polipeptida, serta menginaktivasi enzim dan mengintervensi jalur protein bakteri. [17].

Pada senyawa metabolit terpenoid, mekanisme antibakteri dalam senyawa terpenoid melibatkan kerusakan membran karena sifat lipofiliknya. Aktivitas antibakteri terpenoid merusak porin dan menurunkan permeabilitas membran sel. Akibatnya, transportasi nutrisi terganggu dan pertumbuhan bakteri menjadi

terhambat atau bahkan terhenti. Aktivitas antibakteri steroid terjadi melalui gangguan integritas membran sel bakteri, memicu kebocoran isi sel dan kematian mikroba, yang menjadi salah satu faktor penting dalam uji bakteri. Media uji turut menjadi faktor penting, sebab MHA menyediakan nutrisi yang sesuai untuk kultur berbagai jenis bakteri. Sifatnya yang netral membuatnya tidak mengganggu proses pengujian antibakteri. Ketebalan media MHA dijaga uniform dengan penggunaan volume yang setara di setiap cawan petri. Kemudian perlu diperhatikan kontrol suspensi bakteri untuk memastikan bahwa media yang digunakan memungkinkan pertumbuhan bakteri yang dituju. Kontrol media, kontrol pelarut, dan kontrol sampel diperlukan untuk memeriksa sterilitas masing-masing sehingga dapat dipastikan tidak ada kontaminasi mikroba lain selama pengujian aktivitas antibakteri. Analisis ANOVA dilakukan menggunakan SPSS versi 1 untuk menilai perbedaan signifikan antara perlakuan dan kontrol. Uji ini mensyaratkan data yang normal dan homogen, dan dengan $\text{sig} > 0,05$ hasil pengujian menunjukkan data terdistribusi normal dan homogen.

Data rata-rata diameter zona hambat diuji dengan ANOVA, dan hasilnya disajikan pada Tabel 8.

Tabel 8. Hasil Uji ANOVA Ekstrak Etanol Nusa Indah Putih Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

ANOVA					
Hasil					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	130.249	4	32.562	9.312	.002
Within Groups	34.967	10	3.497		
Total	165.216	14			

Keterangan: Diameter disc kosong sebesar 6 mm.

Tabel 9. Hasil Uji Duncan Ekstrak Etanol Nusa Indah Putih Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

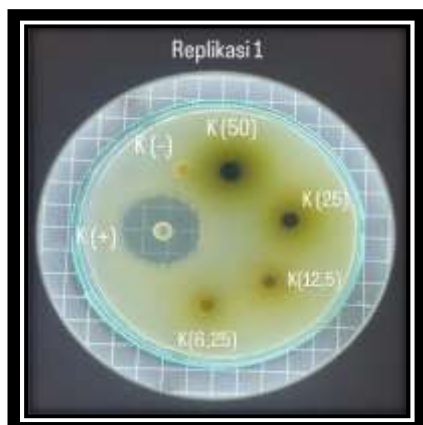
Hasil			
Duncan ^a			
Bahan Uji	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Kontrol Negatif	3	6.0000	
Formula 1	3		11.0333
Kontrol Positif	3		12.5533
Formula 2	3		13.6033
Formula 3	3		14.2233
Sig.		1.000	.080

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Berdasarkan data dalam Tabel 7, diketahui bahwa rerata kontrol positif berdiameter zona hambat mencapai 27,34 mm, daripada pada konsentrasi 50% (11,80 mm), konsentrasi 25%, (9,16%), konsentrasi 12,5% (8,42%), dan konsentrasi 6,25% (7,52 mm). Zona hambat pada kontrol positif lebih luas karena kloramfenikol termasuk antibiotik berspektrum luas yang bekerja efektif terhadap bakteri gram positif maupun gram negatif. Senyawa tersebut bekerja dengan mencegah terbentuknya ikatan peptida dan menghentikan sintesis protein saat rantai asam amino memanjang. Jika dibandingkan dengan konsentrasi ekstrak yang telah disiapkan, konsentrasi 50% dianggap lebih tinggi daripada konsentrasi 25% dan 12,5% dan 6,25%. Namun, tidak bisa mencapai tingkat konsentrasi kontrol positif pada kloramfenikol sebagai antibiotik murni. Jika merujuk pada Tabel 7, kategori antibakteri dapat diklasifikasikan sebagai berikut: Klasifikasi zona hambat: >20 mm sangat kuat, 10–20 mm kuat, 5–10 mm sedang, dan <5 mm lemah [18]. Berdasarkan perhitungan dengan mengurangi rerata diameter zona hambat dengan diameter disk kosong, didapatkan bahwa kontrol positif memiliki rata-rata zona hambat adalah 21,34 mm (kategori: kuat), untuk konsentrasi ekstrak 50% adalah 5,8 mm (kategori: sedang), untuk konsentrasi ekstrak 25% adalah 3,16

mm (kategori: lemah), konsentrasi ekstrak 12,5% adalah 2,42 mm (kategori: lemah) dan konsentrasi 6,25% adalah 1,52 mm (kategori: lemah).



Gambar 1. Hasil Uji Antibakteri

KESIMPULAN

Ekstrak daun Nusa Indah Putih terbukti memiliki aktivitas antibakteri dari ekstrak daun *Mussaenda pubescens* terhadap bakteri dengan menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.

SARAN

Untuk selanjutnya perlu dilakukan uji lebih menggunakan ekstrak dan fraksi daun Nusa Indah Putih terhadap jenis bakteri lain untuk mengetahui aktivitasnya sebagai antibakteri.

DAFTAR PUSTAKA

1. M. Putri, D. P., Lesmina, F., Pradilla, R., Khairiah, A., & Des, "Kajian Etnobotani Tumbuhan Obat Oleh Etnis Minangkabau di Desa Sintuak, Sumatra Barat," *Pros. Semin. Nas. Biol.*, 2023.
2. M. Utari, P. D., Darwis, W., & Sariyanti, "Uji Efektivitas Antibakteri Daun Tanaman Nusa Indah (*Mussaenda pubescens* ait. f) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* (Rosenbach)," *J. Kedokt. Rafflesia*, vol. 8, no. 1, pp. 1–7, 2022.
3. Soedarto, *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: CV. Sagung Seto, 2014.
4. S. Saepudin, T. S. Hidayat, Y. Al-Azzahra, and A. Cahyati, "UJI AKTIVITAS ANTIINFLAMASI EKSTRAK BATANG AKAR KUNING (*Arcangelisia flava* (L.) Merr.) SECARA IN VITRO," *J. Buana Farma*, vol. 4, no. 1, pp. 1–10, 2024, doi: 10.36805/jbf.v4i1.934.
5. T. S. Hidayat, D. Rohdiana, S. Saepudin, D. Febrianty, and Y. Al Azzahra, "UJI AKTIVITAS ANALGESIK FRAKSI DAUN SENGGANI (*Clidemia hirta* [L] D.Don) PADA MENCIT PUTIH GALUR SWISS WEBSTER," *J. Buana Farma*, vol. 4, no. 1, pp. 11–23, 2024, doi: 10.36805/jbf.v4i1.935.
6. E. Kartikawati, S. Saepudin, A. Marni, T. S. Hidayat, and Y. Al Azzahra, "Uji aktivitas antibakteri dan analisis KLT - bioautografi ekstrak etanol 70% daun *Peperomia obtusifolia* (L.) A. Dietr terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 2305," *J. Holist. Heal. Sci. (Jurnal Ilmu Holistik dan Kesehatan)*, vol. 8, no. 2, pp. 113–124, 2025, doi: 10.51873/jhhs.v8i2.343.
7. Harbone J B, "Penentuan Cara Modern Menganalisis Tumbuhan," *Inst. Teknol. Bandung*, 2006.
8. S. V. and S. Marlina S.D., "Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq.Swartz.) dalam Ekstrak Etanol, Biofarmasi," *Biofarmasi*, vol. 2, no. 1, pp. 26–31, 2005.
9. V. R. Karlina, "Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Dan *Escherichia Coli*," *J. Ilmu Kesehat. dan Kedokteran. Univ. Muslim Nusantara*, 2022.
10. Fadiyah, "Uji Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Maserasi Buah Rukam (*Flacourtia Rukam*)," *J. Sains dan Terap. Kim. Univ. Bangka Belitung*, 2019.
11. Setyowati, W.A.E, "Skrining Fitokimia dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian (*Durio zibethinus* Murr.) Varietas Petruk," *J. Semin. Nas. Kim. dan Pendidik. Kim. VI*, 2014.
12. E. S. Simaremare, "Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Gatal (*Laportea Decumana*

- (Roxb.),” 2014.
13. D. Fadhila, “Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Daun Cemara Sumatera (*Taxus sumatrana*),” *J. Pendidik. Kim. Univ. Riau*, 2023.
 14. Ergina, “Ji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder Pada Daun Palado (*Agave angustifolia*) Yang Diekstraksi Dengan Pelarut Air Dan Etanol,” *J. Akad. Kim. Univ. Tadulako*, 2014.
 15. M. Fredella, D. M., Rahman, A. O., & Miftahurrahmah, “Perbandingan Daya Hambat Minyak Atsiri Green Tea Dan Tea Tree Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus*,” *J. Med. Stud.*, vol. 2, no. 1, pp. 68–75, 2022.
 16. M. M. Rahayuningsih, S. R., Patimah, S. S., Mayanti, T., & Rustama, “Aktivitas Antibakteri Ekstrak n-Heksana Daun Mangrove (*Rhizophora stylosa* Griff) Terhadap Bakteri Patogen Pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*),” *J. Mar. Res.*, vol. 12, no. 1, pp. 1–6, 2023.
 17. R. Saptowo, A., & Supriningrum, “Uji aktivitas antibakteri ekstrak kulit batang sekilang (*embeliaborneensis* scheff) terhadap bakteri *propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*,” *Al Ulum J. Sains dan Teknol.*, vol. 7, no. 2, pp. 93–97, 2022.
 18. R. Amalia, A., Sari, I., & Nursanty, “Aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat daun sembung (*Blumea balsamifera* (L.) DC.) terhadap pertumbuhan bakteri Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA),” *Pros. Semin. Nas. Biol. Teknol. dan Kependidikan*, vol. 5, no. 1, 2018.