

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSAN, ETIL ASETAT,
AIR DAUN RAMBUTAN (*Nephelium lappaceum* L) TERHADAP
BAKTERI *Escherichia coli* ATCC 25922**

Ana Berlinda Kayogop¹

¹Universitas Duta Bangsa Surakarta
e-mail: ¹berlindakayogop@gmail.com

ABSTRAK

Daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L) bertujuan untuk mengetahui apakah bakteri uji *Escherichia coli* ATCC 25922 dengan menggunakan metode dilusi dan difusi dengan konsentrasi 2,5%, 5%, 10%, 20%, 40% serta dengan kontrol positifnya adalah *Ciprofloxacin* dan kontrol negatifnya adalah DMSO 1%. Hasil dari pengujian ini yaitu Zona hambat fraksi daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 fraksi n-heksan konsentrasi tertinggi 40% replikasi III yaitu 9,4, fraksi etil asetat konsentrasi tertinggi konsentrasi 40% replikasi III yaitu 14,3 dan fraksi air konsentrasi tinggi 40% replikasi II yaitu 17,0. Konsentrasi hambat minimum (KBM) dari fraksi air daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 pada konsentrasi 1,25%.

Kata Kunci: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Nephelium lappaceum* L

ABSTRACT

Traditionally, rambutan leaves (*Nephelium lappaceum* L) aims to determine whether rambutan leaves (*Nephelium lappaceum* L) on the growth of test bacteria *Escherichia coli* ATCC 25922 using the dilution and diffusion method with concentrations of 2,5%, 5%, 10%, 20%, 40% and with positive control was 1% DMSO. The results of this test were the inhibition zone of the rambutan leaf fraction (*Nephelium lappaceum* L) on the growth of *Escherichia coli* ATCC 25922 the n-hexane fraction, the highest concentration of 40% of replication III, namely 14,3 and the high concentration water fraction of 40% replication II, namely 17,0. The minimum inhibitory concentration (KBM) of the water fraction of rambutan leaves (*Nephelium lappaceum* L) on the growth of *Escherichia coli* ATCC 25922 at a concentration of 1,25%.

Keywords: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Nephelium lappaceum* L

PENDAHULUAN

Indonesia sebagai daerah tropis memiliki berbagai macam tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai obat alternatif alami. Salah satu obat tradisional dari tanaman yang sering digunakan adalah daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L)

yang secara tradisional masyarakat menggunakan daun rambutan sebagai alternatif pengobatan sebagai antibakteri (Napitupulu, 2015). Secara tradisional tanaman rambutan dimanfaatkan untuk berbagai penyakit seperti, kulit buah untuk mengatasi sariawan, akar untuk mengatasi demam, serat biji untuk mengatasi diabetes melitus, dan daun untuk mengatasi diare serta menghitamkan rambut (Rumaolat, 2020).

Diare merupakan penyakit yang banyak di derita masyarakat Indonesia sejak dulu. Diare adalah gejala penyakit-penyakit tertentu atau gangguan lainnya dengan keadaan buang-buang air, dan mengeluarkan banyak cairan (mencret) dengan frekuensi lebih dari 3 kali dalam 24 jam. Diare disebabkan oleh Makanan dan minuman yang terkontaminasi oleh bakteri (Wahyuni *et al.*, 2012). Bakteri yang menjadi penyebab diare salah satunya adalah *Escherichia coli* yang bersifat fecal jika dikonsumsi terus-menerus dalam jangka panjang akan berdampak pada timbulnya penyakit seperti radang usus, diare, infeksi pada saluran kemih dan empedu (Patricia, 2021).

Penelitian ini Uji aktivitas antibakteri Penelitian ini menggunakan 3 perlakuan konsentrasi yaitu 10%, 20%, 30% dengan nilai daya hambat dari setiap konsentrasi yaitu 7,73 mm, 10,47 mm, dan 13,73 mm, serta amoxicilin sebagai kontrol positif dan DMSO sebagai kontrol negatif. Berdasarkan hasil uji One Way ANOVA menunjukkan adanya pengaruh aktivitas antibakteri pada *Escherichia coli* dengan nilai signifikansi ($\alpha < 0.05$). Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan secara signifikan pada penggunaan berbagai konsentrasi ekstrak daun rambutan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Kesimpulan dari penelitian ini yaitu konsentrasi ekstrak 30% merupakan konsentrasi paling baik dalam membentuk zona hambat yaitu dengan diameter 13,73 mm (Sulistyaningsih *et al.*, 2017).

METODE PENELITIAN

Bahan-Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini sebagai berikut: ekstrak, aquadest, daun rambutan (*Nephelium lappaceum L*), bakteri *Escherichia coli*, etanol

96%, *n*-heksan, etil asetat, air, ciprofloxacin 500 mg/tablet, media media mueller hinton agar, media nutrient brot, DMSO 1%, *n*-Heksan, etil asetat, Aquadest, Serbuk Mg, HCL, FeCl₃, KOH.

Alat-Alat Penelitian

Alat-Alat yang digunakan dalam penelitian ini sebagai berikut:

vakum *rotary evaporator* (RE100-PRO), *laminar air flow* (LAF-K0071), inkubator (IKB-K0071), spektro UV, penangas air (faithful), moisture balance, vortex (ae), neraca analitik (HWH), blender (miyako), aluminium foil, corong, corong pisah, kertas saring (TBT chemical), autoklaf (analog) ,incubator (memert), jarum ose (mico), cawan petri (iwaki), penggaris, kertas cakram (oxid), waterbath, rak tabung reaksi (pudak), lampu spirtus (rofa), pipet ukur, pingset, batang pengaduk (pyrex), erlenmeyer (iwaki), gelas ukur (iwaki), gelas beaker, Kompor listrik (maspion), cawan porselin (laborta), ayakan mes 40, pipet tetes (onelab), jangka sorong (taffware), masker, tissue, gunting, kain serbet, kertas label, kapas, kain kasa.

Prosedur Kerja

Determinasi

Determinasi tanaman identifikasi dan determinasi tanaman daun rambutan di balai besar penelitian dan pengembangan tanaman obat dan obat tradisional (B2P2TOOT) Tawamangu. Pengumpulan sampel bagian tanaman yang diambil adalah daun rambutan pengambilan sampel diperoleh dari kecamatan Tawangmangu, Desa Tawamangu, kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah.

Pembuatan Simplisia

Pembuatan Simplisia dan Ekstraksi Serbuk simplisia 500 gram yang telah terbentuk dilakukan proses maserasi dengan melakukan perendaman menggunakan etanol 96% selama 5 hari dengan perbandingan 1:10. Filtrat ekstrak daun rambutan di pekatkan dengan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental yang bebas dari pelarut.

Pemeriksaan Karakteristik Simplisia

Uji bebas etanol dilakukan dengan cara ekstrak ditambahkan dengan H₂SO₄ pekat dan CH₃COOH 1% (asam asetat). Uji positif ekstrak bebas etanol jika tidak terdapat bau eter yang khas dari etanol (Maneak,

2018). Uji susut pengeringan pada susut pengeringan metode yang digunakan adalah gravimetri. Dengan alat yang digunakan *moisture Blance* 2 gram serbuk kemudian dimasukkan kedalam alat-alat akan berbunyi kemudian catat susut pengering (Amelia, 2021). Uji kadar logam identifikasi logam berat dilakukan dengan metode analisis kualitatif terhadap ekstrak dengan penambahan reagen K_2CrO_4 untuk identifikasi timbal (Pb) dan NaOH untuk identifikasi kadmium (Cd). Tujuan dilakukan identifikasi logam berat adalah untuk memastikan bahwa ekstrak yang akan digunakan sebagai obat tidak menimbulkan efek yang berbahaya terhadap kesehatan bagi manusia. Logam berat memiliki sifat toksik atau dapat menimbulkan racun dalam tubuh yang akan membahayakan kesehatan atau bahkan menyebabkan kematian (Taftazani, 2013).

Identifikasi Senyawa Kimia Daun Rambutan

Uji flavonoid sampel ekstrak ditambahkan dengan logam Mg dan HCL 3 tetes akan terbentuk garam flavilium berwarna merah atau jingga (Kosanke, 2019).

Uji tannin Sampel ekstrak ditambahkan dengan pereaksi $FeCl_3$ 5 tetes reaksi positif ditunjukkan dengan warna hijau kehitaman atau biru kehitaman (Kosanke, 2019).

Uji saponin sampel ekstrak 0,5 gram dimasukkan dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 10 tetes KOH dan dikocok selama 5 menit. Hasil yang positif ditandai dengan terbentuknya busa tebal 1 cm menunjukkan adanya senyawa saponin (Astuti *et al.*, 2021).

Uji Alkaloid sebanyak 0,5 g ekstrak sampel hasil ekstraksi masukan ke tabung reaksi ditambahkan 0,5 mL HCl 1% kemudian ditambahkan 2 tetes reagen dragendorff. Apabila timbul warna jingga maka ekstrak positif mengandung alkaloid (Indarani *et al.*, 2006).

Uji Terpenoid sebanyak 0,1 g ekstrak daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) dimasukkan kedalam erlenmayer ditambah n-heksan sampai terendam, dibiarkan minimal 2 jam, disaring. Fitrat 10 mL dimasukkan kedalam cawan porselin diuapkan sampai kering, sisanya ditambahkan pereaksi Lieberman-

Bouchard (asam asetat anhidridat 3 tetes dan asam sulfat pekat 3 tetes). Bila terbentuk warna ungu/ungu kemerahan menunjukkan adanya terpenoid (Depkes RI, 1995).

Identifikasi Senyawa Kimia Secara KLT

Skrining yang dilakukan menggunakan KLT dan dilakukan dengan cara :

Identifikasi flavonoid identifikasi senyawa flavonoid menggunakan fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak kloroform methanol (2:3) dengan pereaksi semprot sitoborat UV 366 nm. Hasil positif mengandung flavonoid jika menggunakan warna bercak kuning (Arnida *et al.*, 2019).

Identifikasi tannin untuk mengidentifikasi tanin menggunakan kromatografi lapis tipis, fase diam yang digunakan yaitu silika gel GF₂₅₄ dan fase geraknya yang digunakan adalah toluen:etil asetat (3:1) UV 366 nm akan terlihat warna hijau kehitaman dengan pendeteksi FeCl₃ (Arnida *et al.*, 2019).

Identifikasi alkaloid identifikasi alkaloid menggunakan ekstrak etanol daun rambutan menggunakan kromatografi lapis tipis, fase diam yaitu silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak yang digunakan yaitu eluen toluen:etil asetat: n-heksan (5:4:1). dan UV 366 nm. Setiap plat KLT disemprot FeCl₃ 5% untuk mendeteksi adanya alkaloid dengan terlihat tampak warna biru atau kuning.

Identifikasi terpenoid identifikasi terpenoid menggunakan ekstrak etanol daun rambutan menggunakan kromatografi lapis tipis, fase diam yaitu silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak yang digunakan yaitu eluen toluen:etil asetat: n-heksan (5:4:1). dan UV 366 nm. Setiap plat KLT disemprot liberman burchard untuk mendeteksi adanya terpenoid dengan terlihat tampak warna hijau atau biru.

Fraksinasi

Fraksinasi dilakukan dengan cara menimbang 10 gram ekstrak daun rambutan. larutkan dengan pelarut air 75 ml, kemudian di fraksinasi sebanyak 3 kali dengan *n*-heksana menggunakan corong pisah, fraksi *n*-heksana yang didapat diuapkan. Residu yang didapatkan dari fraksi *n*-heksana dilanjutkan dengan fraksinasi 3 kali dengan pelarut etil asetat masing-masing 75 ml. hasil yang didapat adalah fraksi etil asetat kemudian diuapkan dan residu yang didapatkan dari fraksi etil asetat adalah fraksi air kemudian diuapkan sampai pekat (Rizky dkk, 2018).

Sterilisasi Alat

Sterilisasi alat dan bahan dilakukan dengan cara menggunakan uap jenuh bertekanan dalam suatu alat yang disebut autoklaf bersuhu 121°C selama 15 menit dan media dilakukan memakai erlenmeyer yang tertutup dengan kapas dan dibungkus dengan aluminium foil (Delfiyanti,2016).

Pembuatan Media Nutrient Agar (MHA)

Sebanyak 4,59,gram media MHA agar dilarutkan dalam 135 ml aquadest dipanaskan sampai larut. Media disterilkan menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C. Dinginkan sampai suhu $\pm 50^{\circ}\text{C}$ selanjutnya dibagi kedalam cawan petri steril setelah dingin medium padat disimpan dalam kulkas (Trisia *et al.*, 2018).

Pembuatan Medium Nutrient Broth (NB)

Sebanyak 2 gram bubuk NB dilarutkan dengan 250 liter aquadest dalam erlenmeyer kemudian diaduk dengan menggunakan magnetic stirrer, setelah itu medium NB disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Raisitah, 2018)

Pembuatan Agar Miring

Ditambahkan 5 ml media NA kedalam 1 tabung reaksi, kemudian ditutup dengan kapas lalu dilapisi dengan aluminium foil, setelah itu disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Diamkan pada suhu kamar sampai sediaan membeku pada posisi miring $\pm 45^{\circ}$. Media agar digunakan untuk peremajaan bakteri (Robiansyah,2018).

Peremajaan Bakteri

Diambil satu ose biakan murni *Escherichia coli* dengan menggunakan jarum ose steril dengan dipijarkan, kemudian dilakukan strek zig-zag pada media nutrient agar miring selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C (Robiansyah,2018).

Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Biakan bakteri *Escherichia coli* didalam media MHA yang telah diinkubasi selama 24 jam diambil sebanyak 1 ose berisi NaCl steril 1 ml. Kemudian dihomogenkan dengan menggunakan vortex dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C selanjutnya kekeruhan dibandingkan dengan 0,5 Mc Farland (Hapsari, 2015).

Uji Antibakteri Metode Difusi Kertas Cakram

Metode Difusi Disiapkan 9 cawan petri dan dituang medium MHA yang telah dicairkan pada suhu 45⁰ C sebanyak ± 20 ml kedalam cawan petri, dibiarkan memadat. Suspensi bakteri *Escherichia coli* diambil sebanyak 150 mikroliter kemudian dituangkan pada permukaan media, diratakan menggunakan cotton bud steril. Suspensi dibiarkan selama 5 menit supaya suspensi bakteri meresap ke dalam media agar. Setelah itu diambil kertas cakram menggunakan pinset steril, dimasukkan kedalam ekstrak, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air dengan konsentrasi 2,5%, 5%, 10%, 20%, 40% yang sebelumnya telah dilarutkan dengan larutan DMSO 1% kemudian diletakan dipermukaan media dan pada masing-masing konsentrasi dibuat 3 kali pengulangan pada setiap cawan petri. Kemudian dilakukan hal yang sama pada perlakuan kontrol positif menggunakan ciprofloxacin 5 µg dan kontrol negatif DMSO 1% (Trisia *et al.*, 2018).

Uji Antibakteri Metode Dilusi

Metode dilusi cair dilakukan dengan menyiapkan beberapa tabung rekasi yang sudah steril, larutan uji dan bakteri uji sebagai kontrol negatif, larutan antibiotik pembanding dan bakteri uji sebagai kontrol positif. Selanjutnya tiap-tiap tabung diisi dengan 0,5 mL medium NB. Selanjutnya ditambahkan 0,5 mL larutan uji pada tabung reaksi pertama di vortex. Tabung pertama diambil 0,5 mL dipindahkan kedalam tabung kedua dan seterusnya sampai konsentrasi 0,3125%. Lalu diambil 0,5 mL larutan pada tabung terakhir dan dibuang, sehingga masing-masing tabung berisi 0,5 mL. Kemudian masing-masing tabung ditambahkan 1 mL suspensi bakteri Selanjutnya diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam.

Menentukan Konsentrasi hambat minimum (KHM) yaitu mengamati ada atau tidaknya kekeruhan pada seri pengenceran dari sejumlah tabung yang telah diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Tabung reaksi dengan larutan jernih setelah tabung keruh terakhir merupakan konsentrasi hambat minimum (Indrayati & Sugiarto, 2020).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi Daun Rambutan (*Nephelium lappaceum L*)

Berdasarkan hasil determinasi daun rambutan yang dilakukan di B2P2TOOT (Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat Tradisional) dapat diketahui bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah benar-benar daun rambutan (*Nephelium lappaceum L*) dari spesies *Nephellium lappaceum L*, sinonim *Scytalia ramboutan Roxb*, Familia Sapindaceae. Determinasi bertujuan untuk mencocokkan ciri morfologis serta mengidentifikasi kebenaran tanaman yang digunakan.

Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun rambutan segar (*Nephelium lappaceum L*) daerah lain sampel diperoleh dari kecamatan Tawangmangu, Desa Tawamangu, kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah.

Pembuatan Simplisia

Pada pembuatan simplisia daun rambutan, diperoleh 5 kg tanaman yang masih segar kemudian disortasi basah. Daun rambutan yang telah dicuci selanjutnya ditiriskan lalu dirajang untuk mempercepat proses pengeringan pada daun, kemudian daun rambutan dikeringkan, simplisia yang telah kering dan bersih kemudian diperkecil ukurannya dengan menggunakan blender untuk mendapatkan derajat kehalusan tertentu Serbuk simplisia dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel. 1. Perhitungan Presentase Bobot Kering Simplisia Daun Rambutan

Bobot Basah (g)	Bobot Kering (g)	Presentase (%b/b)
5000	1.280	25,6%

Pembuatan Ekstrak Daun Rambutan

Pembuatan ekstrak etanol daun rambutan dilakukan dengan menimbang serbuk simplisia kemudian dilakukan penyarian pertama menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 2000 ml, dilanjutkan dengan masing-masing pengulangan 2 kali menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 3000 ml. Maserasi dilakukan selama 5 hari dengan sesekali di aduk, kemudian disaring menggunakan kertas saring sehingga diperoleh maserat. Hasil maserasi dilakukan penguapan

menggunakan *rotary evaporator*, dilanjutkan penguapan menggunakan waterbath suhu 60°C untuk mendapatkan ekstrak kental dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel. 2. Hasil Pembuatan Ekstrak Kental Daun Rambutan

Berat Serbuk (g)	Berat Ekstrak (g)	Rendemen Ekstrak %
500gr	49.252gr	9,850%

Pemeriksaan Karakteristik Simplisia

Uji Bebas Etanol

Hasil uji bebas etanol menunjukkan bahwa ekstrak daun rambutan sudah bebas dari pelarut etanol 96% yang ditunjukkan dengan tidak terbentuknya bau ester yang khas dari etanol, sehingga dapat disimpulkan bahwa diperoleh ekstrak yang dapat digunakan untuk pengujian tahap selanjutnya dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel. 3. Hasil Uji Bebas Etanol Ekstrak Daun Rambutan

Uji Bebas Etanol	Hasil Pengamatan	Pustaka (Maneak, 2018)
Ekstrak daun rambutan bau ester + H ₂ SO ₄ pekat etanol + CH ₃ COOH 1%, Dipanaskan	(+) Tidak terdapat bau ester	Tidak terbentuk yang khas dari

Uji Susut Pengeringan

Susut pengeringan serbuk daun rambutan diperoleh sebesar 9,07%. Data susut pengeringan serbuk daun rambutan memenuhi standar yang ditetapkan yaitu tidak lebih dari 10%. Uji parameter susut pengeringan serbuk daun rambutan dilakukan dengan menimbang serbuk sebanyak 2 gram, kemudian diukur menggunakan alat *Moisture Balance* dengan suhu 105°C, pengujian dilakukan sampai alat berbunyi secara otomatis yang menandakan bahwa analisis telah selesai dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel. 4. Hasil Penetapan Susut Pengeringan Serbuk Daun Rambutan Menggunakan *Moisture Balance*

Berat Awal (g)	Pustaka (FHI 2016)	Susut Pengeringan (%)
1	< 10%	9,07%

Uji Kadar Logam

Hasil uji kadar logam 5 gram ekstrak daun rambutan di tambahkan 1 ml K_2CrO_4 tidak memiliki endapan warna kuning Penambahan Indikator kalium kromat (K_2CrO_4) bertujuan untuk mengetahui warna dari titik akhir titrasi kemudian pengujian kadar logam Cd dengan menggunakan 5 gr ekstrak tambahkan NaOH 1 ml tidak terbentuk endapan warna putih Logam tembaga (Cu) terdapat dalam air, tanah dan udara baik dalam bentuk ion maupun senyawa. Logam Cu termasuk logam berat esensial, jadi meskipun beracun tetapi dibutuhkan manusia (Sudjadi, 2018).

Hasil identifikasi logam berat timbal (Pb) dan kadmium (Cd) menunjukkan bahwa dalam ekstrak daun rambutan tidak terdapat kandungan logam berat timbal (Pb) dan kadmium (Cd). Menurut BPOM kandungan timbal (Pb) dan (Cd) dalam ekstrak dapat disebabkan oleh proses pengeringan simplisia yang akan digunakan sebagai tanaman obat. Pengeringan dengan sinar matahari langsung di udara terbuka dapat menyebabkan simplisia tersebut mengalami pencemaran lingkungan termasuk logam berat timbal (Pb) (Hernani, 2009)

Skrining Fitokimia

Pengujian identifikasi kandungan senyawa flavonoid ekstrak daun rambutan didapatkan hasil terbentuknya lapisan hijau kehitaman atau biru kehitaman, Hal ini menandakan adanya senyawa tanin (Ergina dkk, 2014). Pengujian kandungan tanin terhadap ekstrak daun rambutan sampel menunjukkan hasil positif dengan ditandai perubahan warna hijau kehitaman karena $FeCl_3$ bereaksi dengan gugus -OH aromatis (Harry dkk, 2015).

Berdasarkan hasil identifikasi ekstrak daun rambutan positif mengandung saponin yang ditandai terbentuknya buih pada saat sampel ditambahkan KOH lalu dikocok. Identifikasi kandungan alkaloid hasil positif alkaloid pada uji Dragendorff juga ditandai dengan terbentuknya endapan coklat muda sampai kuning. Identifikasi kandungan terpenoid Reaksi terpenoid dengan pereaksi liebermann menghasilkan warna merah atau ungu (Marliana & Saleh, 2011) dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel. 5. Uji Kandungan Kimia Daun Rambutan (*Nephelium lappaceum L*)

Kandungan Kimia	Test	Hasil	ket	Pustaka (DepKes RI, 2018)
Flavonoid	Ekstrak+ logam mg 0,05 mg+ HCL 3 tets	jingga	+	Garam flafilium merah atau jingga
Tanin	Ekstrak+ FeCl ₃ 5% 5 tetes	Hijau Kehitaman	+	Hijau kehitaman atau biru kehitaman
Saponin	Ekstrak+ 10 tetes KOH	Busa	+	Busa
Alkaloid	Ekstrak+ Hcl 0,5ml+ Reagen Dragendrof		+	Timbul warna coklat muda sampai kuning
Terpenoid	Ekstrak+ <i>n</i> -Heksan+ lieberman bouchard		+	terbentuk warna ungu atau kemerahan

Identifikasi Senyawa Kimia Secara KLT

Identifikasi senyawa flavonoid dengan uji KLT menunjukkan hasil bercak berwarna kuning dilihat pada sinar UV 366 nm sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun rambutan mengandung senyawa flavonoid dengan nilai Rf 0,43. Identifikasi senyawa tanin dengan uji KLT menunjukkan hasil bercak berwarna biru kehitaman dilihat pada sinar UV 366 sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun rambutan mengandung senyawa tanin dengan nilai Rf 0,81. Identifikasi senyawa alkaloid dengan uji KLT menunjukkan hasil bercak berwarna biru atau kuning dilihat pada sinar UV 366 sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun rambutan mengandung senyawa alkaloid dengan nilai Rf 0,93. Identifikasi senyawa triterpenoid dengan uji KLT menunjukkan hasil bercak warna hijau dilihat dari sinar UV 366 sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun rambutan mengandung senyawa triterpenoid dengan nilai Rf 0,56 dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel. 6. Identifikasi Kandungan Kimia Ekstrak Daun Rambutan Secara KLT

Pengujian	Fase Diam	Fase Gerak	Deteksi	Daftar Pustaka	Hasil	Nilai Rf
Flavonoid	Silika Gel GF ₂₅₄	Kloroform :Metanol (2:3)	UV 366	Arnida <i>et al.</i> , 2019	Kuning	0,43
Tanin	Silika Gel GF ₂₅₄	Toluen :Etil Asetat (3:1) Eluen	UV 366	Arminda <i>et al.</i> , 2019	Biru Kehitaman	0,81
Alkaloid	Silika Gel GF ₂₅₄	Toluen:Etil Asetat:n- Heksan Eluen	UV 366	Arminda <i>et al.</i> , 2019	Biru atau Kuning	0,93
Triterpenoid	Silika Gel GF ₂₅₄	Toluen:Etil Asetat:n- Heksan	UV 366	Arminda <i>et al.</i> , 2019	Hijau atau Biru	0,56

Pengujian Aktivitas Antibakteri Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922

Hasil dari fraksinasi yang dibuat konsentrasi 2,5%, 5%, 10%, 20%, 40%. Kontrol positif yang digunakan yaitu *ciprofloxacin* dan DMSO 1% sebagai kontrol negatif. Data yang diperoleh selanjutnya dilakukan uji analisis data dengan menggunakan SPSS 25 dan metode yang digunakan adalah *One Way Anova* (*Analysis of Varians*). Uji tersebut bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan yang signifikan antara fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dengan kontrol positif antibiotik gentamisin dan kontrol negatif DMSO 1%.

Uji yang pertama dilakukan yaitu uji normalitas yang bertujuan untuk mengetahui apakah data penelitian berdistribusi normal atau tidak. Uji normalitas yang digunakan yaitu *Shapiro wilk* karena data yang digunakan tidak lebih dari 50 sampel yang digunakan pengujian ini 18 sampel. Uji normalitas data diperoleh signifikansi $P < 0,05$ maka H_0 ditolak dan data tidak terdistribusi normal. Kemudian dilanjutkan uji Homogenitas (*Homogeneity of Variances*). Tujuan dari uji homogenitas yaitu untuk mengetahui sama tidaknya variansi-variansi dua buah distribusi atau lebih dan digunakan sebagai syarat analisis independent uji ANOVA. Hasil dari uji *Homogeneity of Variances* adalah $< 0,05$ significant varian tidak homogen karena kurang dari 0,05%. Dilanjutkan dengan uji *OneWey Anova* $< 0,05$ terdapat perbedaan yang significant dari 18 kelompok

sampel fraksi *n*-heksan, etil asetat, air, dan kontrol positif maka H_0 ditolak dan H_a diterima. Untuk mengetahui perbedaan antara kelompok variabel maka dilakukan analisis *Post Hoc* dengan menggunakan uji *Tuckey*, akan tetapi uji normalitas dan uji homogenitas diperoleh signifikansi $<0,05$, jadi dilakukan uji non parametrik yaitu uji Kruskal-Wallis. Uji ini dilakukan karena memiliki perbedaan yang significant H_0 ditolak dan H_a diterima.

Berdasarkan output "*Test Statistics*" di atas, diketahui nilai *Asymp.Sig* adalah sebesar $0,000 < 0,05$. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa H_0 ditolak dan H_a diterima yang berarti ada perbedaan yang nyata (signifikan) antara fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 yang memiliki perbedaan dari setiap kelompok mana saja yaitu fraksi *n*-heksan 2,5% - kontrol positif 1 dengan nilai significant 0,41 dan fraksi *n*-heksan 2,5% - kontrol positif 2. Dengan nilai signifikansi $<0,005$ dapat dilihat pada tabel 7.

Tabel. 7. Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri Metode Difusi terhadap Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922.

Bahan Uji	Konsentrasi (%)	Daya Hambat (mm) Replikasi			Rata-Rata I II II (mm) \pm SD
		I	II	III	
<i>n</i> -Heksan	2,5%	6,1	6,2	6,4	6,23 \pm 0,15
	5%	6,7	6,8	7,0	6,83 \pm 0,15
	10%	7,2	7,5	7,8	7,50 \pm 0,30
	20%	7,9	8,0	8,3	8,06 \pm 0,20
	40%	8,6	8,9	9,4	8,96 \pm 0,40
Etil Asetat	2,5%	10,9	10,8	10,7	10,80 \pm 0,10
	5%	11,0	11,0	11,1	11,03 \pm 0,05
	10%	13,1	13,0	12,9	13,00 \pm 0,10
	20%	14,0	14,1	14,1	14,06 \pm 0,05
	40%	14,1	14,2	14,3	14,20 \pm 0,10
Air	2,5%	10,00	10,5	10,6	10,36 \pm 0,32
	5%	11,4	10,9	12,4	11,56 \pm 0,76
	10%	12,5	12,1	13,0	12,53 \pm 0,45
	20%	13,1	13,3	14,1	13,50 \pm 0,52
	40%	15,9	17,0	16,1	16,33 \pm 0,58
Ciprofloxacin	0,5%	16,6	16,3	16,1	16,33 \pm 0,25
		16,9	16,2	16,0	16,36 \pm 0,47
		16,1	16,3	18,1	16,83 \pm 1,10
DMSO 1%	1%	0	0	0	0 \pm 0
		0	0	0	0 \pm 0
		0	0	0	0 \pm 0

Pengujian Aktivitas Antibakteri Metode Dilusi

Hasil pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air daun rambutan terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 menunjukkan bahwa fraksi Air yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Pengujian aktivitas antibakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 secara dilusi untuk Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dengan menggunakan hasil dari metode difusi yaitu fraksi air dengan konsentrasi terendah 1,25%.

KESIMPULAN

Hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa Fraksi *n*-heksan memiliki angktivitas antibakteri daun rambutan (*Nephelium lappaceum L*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922. Konsentrasi hambat minimum (KBM) dari fraksi air daun rambutan (*Nephelium lappaceum L*) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 pada konsentrasi 1,25%.

DAFTAR PUSTAKA

- Amelia D. 2021. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Air Kulit Bawang Merah (Allium cepa L) Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus.*
- Apriliana E, Hawarima V. 2016. *Kandungan Buah Rambutan (Nephelium lappaceum L .) sebagai Antibakteri terhadap E . coli Penyebab Diare. Majority, 5(2), 126-130.*
- Arnida A, Sutomo S, Khoriah U U. 2019. *Identifikasi Kandungan Senyawa Kimia dan Uji Aktivitas Penghambatan Polimerisasi Hem dari Fraksi n-Heksana Daun Manuran (Coptosapelta tomentosa Valetton ex K. Heyne) Asal Kotabaru Kalimantan Selatan. Jurnal Pharmascience, 5(2), 143-152. <https://doi.org/10.20527/jps.v5i2.5796>*
- Astuti M T, Retnaningsih A, Marcellia S. 2021. *Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Lemon (Citrus limon L.) terhadap Bakteri Salmonella typhi dan Escherichia coli. Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia, 7(2), 143-154.*
- Ergina dkk., 2014, *Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder Pada Daun Palado (Agave Angustifolia) yang Diekstraksim Dengan Pelarut Air dan Etanol, Jurnal Akademika Kimia Volume 3, No. 3, 2014 : 165-172, Pendidikan Kimia/FKIP, Universitas Taduloko : Palu.*
- Fuentes M. 2017. *Uji Hambat Ekstrak Etanol Daun Rambutan (Nephelium lappaceum L.) Terhadap Streptococcus mutans. 1-14.*

- Fitriana, Y. A. N., Fatimah, V. A. N. And Fitri, A. S. (2020) 'Aktivitas Anti Bakteri Daun Sirih: Uji Ekstrak Khm (Kadar Hambat Minimum) Dan Kbm (Kadar Bakterisidal Minimum)', *Sainteks*, 16(2), Pp. 101-108.
- Harry S.J. Koleangan, Dkk.2017. *Skrining Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Kulit Batang Soyogik (Saurauia Bracteosa Dc)*. Universitas Sam Ratulangi Manado; Manado.
- Herdiana, I., & Aji, N. (2020). Fraksinasi Ekstrak Daun Sirih dan Ekstrak Gambir serta Uji Antibakteri *Streptococcus mutans*. *Jurnal Ilmiah Kesehatan*, 19(03), 100-106. <https://doi.org/10.33221/jikes.v19i03.580>.
- Hapsari, M.E. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Herba Meniran (*Phyllanthus niruri*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Bacillus cereus* Dan *Escherichia coli*. Skripsi. Universitas Sanata Dharma. Yogyakarta. Hal:8.
- Rambutan (*Nepheliumlappaceum*L) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25925 dan *Escherichia coli* ATCC25922. Skripsi. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. UIN Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Hernani dan Rahmawati Nurdjanah. 2009. Aspek Pengeringan Dalam Mempertahankan Kandungan Metabolit Sekunder Pada Tanaman Obat. *Jurnal Perkembangan Teknologi Tro*. Vol. 21 No. 2, Desember 2009: 33-39.
- Indrayani L. Hartati Soetjipto, dan Lydia Sihasale. *Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Daun Pecut Kuda (Stachytarpheta jamaicensis L. Vahl) Terhadap Larva Udang Artemia salina Leach*. 2006 ; 12: 57-61.
- Ilham I A. 2010. *Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Metanol Larut Heksan dan Tidak Larut Heksan Daun Rambutan (Nephelium lappaceum L) Terhadap Beberapa Mikroba Patogen*. Skripsi, 1-47.
- Indrayati S, Sugiarto Y A. 2020. *Uji Efektifitas Air Rebusan Daun Rambutan (Nephelium lappaceum L.) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri Escherichia coli*. *Prosiding Seminar Kesehatan Perintis*, 3(1), 12-12.
- Kosanke R M. 2019. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Fraksi n-Heksan, Fraksi Etil Asetat dan Fraksi Air Daun Mangkokan (Nothopanax scutellarium Merr) Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus ATCC 25923*.
- Kurniawati E. 2015. Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Tunas Bambu Apus Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *J Wiyata*. Vol 2 (2).
- Marlina & Saleh. 2011. Uji fitokimia dan aktivitas antibakteri ekstrak kasar etanol, fraksi n-heksan, etil asetat dan metanol dari buah labu air (*Lagenaria siceraria* (Molina) Standl.). *Jurnal Kimia Mulawarman*, 8(2), 693-5616.
- Maradona D. 2013. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Durian (Durio zibhetinus L.), Daun Lengkung (Dinocarpus longan Lour.), Daun Rambutan (Nephelium lappaceum L.) Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus dan Escherichia coli*. In Skripsi.

- Nurhayati, L. S., Yahdiyani, N., & Hidayatulloh, A. (2020). Perbandingan Pengujian Aktivitas Antibakteri Starter Yogurt dengan Metode Difusi Sumuran dan Metode Difusi Cakram. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*, 1(2), 41. <https://doi.org/10.24198/jthp.v1i2.27537>.
- Patricia C O S. 2021. *Uji aktivitas antibakteri daun rambutan (Nephelium lappaeum L) terhadap bakteri staphylococcus aureus ATCC 25923 secara in vitro* (Vol. 3, Issue 2).
- Raisitah F. 2018. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Cengkeh Terhadap Pertumbuhan Bakteri Streptococcus mutans DAN Klebsiella pneumonia*. Skripsi. Universitas Muhammadiyah Semarang. Fakultas Kesehatan Masyarakat, 53(1), 59-65.
- Rizky T A, Sogandi. 2018. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Daun Jati (Tectona grandis Linn.F) Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri Escherichia coli dan Staphylococcus aureus Secara in Vitro*. *Indonesia Natural Research Pharmaceutical Journal*, 3(1), 93-105.
- Rumaolat W. 2020. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Daun Rambutan (Nephelium lappaceum L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus*. 2-Trik: Tunas-Tunas Riset Kesehatan, 10(2), 93-97.
- Rastina. Mirnawati, S, dan Ietje, W. 2015. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kari (Murraya Koenigii) Terhadap Staphylococcus Aureus, Escherichia Coli, dan Pseudomonas sp*. *Jurnal Kedokteran Hewan* Vol. 9 No. 2.
- Sandy M, Wardani T S, Septiarini A D. 2021. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak, Fraksi n-Heksan, Fraksi Etil Asetat, Fraksi Air Daun Pegagan (centella asiatica (L.) Urb) Terhadap escherichia coli ATCC 25922*. *Media Farmasi Indonesia*, 16(2), 1-10.
- Sulistiyarningsih S S N, Wicaksono I, Budiman A. 2017. *Antibacterial activity of ethanol extract and fraction of Rambutan leaf (Nephelium lappaceum) against Pseudomonas aeruginosa multiresistant*. *National Journal of Physiology, Pharmacy and Pharmacology*, 7(11), 1.
- Tarman, K., S. Purwaningsih, dan A.A.P.P. Negara. 2013. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Bakau Hitam (Rhizophora mucronata) Terhadap Bakteri Penyebab Diare*. *JPHPI*, 16(3):249-258.
- Trisia A, Philyria R, Toemon A N. 2018. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kalanduyung (Guazuma ulmifolia Lam.) Terhadap Pertumbuhan Staphylococcus aureus Dengan Metode Difusi Cakram (KIRBY-BAUER)*. *Anterior Jurnal*, 17(2), 136-143.