

**DAYA HAMBAT EKTRAK ASETON 70%  
DAUN BUAH HITAM (*Haplolobus sp.*) TERHADAP BAKTERI  
*S.aureus*, *S.typhi*, *E.coli*, *B.subtilis***

Aprilia Aronggear<sup>1</sup>, Evelina Somar\*<sup>1</sup>, Bimo Budi Santoso<sup>1</sup>, Maria Massora<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Jurusan Kimia FMIPA Universitas Papua, Manokwari, 98314

<sup>2</sup>Jurusan Biologi FMIPA Universitas Papua, Manokwari 98314

Email : [e.somar@unipa.ac.id](mailto:e.somar@unipa.ac.id)

**ABSTRAK**

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kandungan metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak daun buah hitam (*Haplolobus sp.*), dan mengukur kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan bakteri gram positif *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, dan bakteri gram negatif *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*. Sampel daun buah hitam yang digunakan berasal dari daerah Brawijaya Manokwari. Ekstrak daun buah hitam diperoleh melalui proses maserasi dengan aseton 70% sebagai pelarut. Uji fitokimia menunjukkan terdapat senyawa metabolit sekunder di dalam ekstrak daun buah hitam berupa senyawa golongan tanin, alkaloid, flavanoid dan steroid. Pengukuran daya hambat pertumbuhan bakteri memakai metode sumuran, dan variasi konsentrasi ekstrak sebesar  $1,25 \times 10^2$   $\mu\text{g/mL}$ ,  $2,5 \times 10^2$   $\mu\text{g/mL}$ ,  $5 \times 10^2$   $\mu\text{g/mL}$  dan  $10^3$   $\mu\text{g/mL}$ . Aktivitas antibakteri ditentukan dengan mengukur diameter zona bening untuk setiap waktu pengamatan 1 hari, 2 hari dan 3 hari. Sebagai kontrol terhadap metode yang digunakan untuk mengukur daya hambat dipakai kloramfenikol, dan untuk melihat pengaruh pelarut terhadap daya hambat digunakan DMSO 10%. Hasil pengukuran daya hambat menunjukkan diameter daerah bening untuk semua bakteri uji meningkat dengan bertambahnya konsentrasi ekstrak dan waktu pengamatan. Hal ini menunjukkan ekstrak aseton 70% daun buah hitam memiliki spektrum luas dan bersifat bakterisidal. Aktivitas daya hambat lebih besar untuk bakteri *S.typhi* dengan diameter daerah bening pada konsentrasi ekstrak  $10^3$   $\mu\text{g/mL}$  hari ketiga sebesar 14,1 mm. Berdasarkan spektrum kerjanya, ekstrak aseton daun buah hitam termasuk dalam kelompok spektrum luas karena mampu menghambat pertumbuhan keempat jenis bakteri uji yang mewakili bakteri gram positif dan gram negatif. Berdasarkan toksisitasnya, ekstrak daun buah hitam dengan pelarut aseton bersifat bakteriosidal terhadap bakteri uji yang dapat dilihat dari diameter zona hambat yang terbentuk pada pengamatan 24-72 jam.

**Kata kunci:** Antibakteri, bakterisida, buah hitam, *Haplolobus sp.*, piirawi

## PENDAHULUAN

Buah hitam (*Haplolobus* sp) atau dikenal oleh masyarakat Wondama dengan nama “*piairawi*” merupakan jenis tanaman endemik asal Wondama dan merupakan satu dari beberapa jenis *Haplolobus* yang tumbuh di Papua. Tumbuhan buah hitam dapat tumbuh di daerah tanah berbatu dengan ketinggian mencapai 10-500 m dari permukaan laut.

Bagian tumbuhan buah hitam yang telah dimanfaatkan oleh masyarakat wondama adalah batang pohon dan buahnya yang telah matang. Batang pohon digunakan sebagai bahan bangunan dan buah matang yang berwarna hitam dicampur dengan pati sagu untuk membuat sagu buah hitam, salah satu makanan tradisional suku Wandamen, yang memiliki waktu simpan hingga 2 bulan (Lekitoo K *et al.*, 2012).

Buah hitam yang telah matang diketahui mengandung vitamin C yang cukup tinggi 277,45 mg. Selain vitamin C buah hitam juga mengandung 14,72 gram lipid dan 2,48 gram protein (Lekitoo K *et al.*, 2012), tanin dan saponin (Siahaan E *et al.*, 2021). Biji buah hitam mengandung senyawa fenolik (Floren, 2013), alkaloid, flavanoid, tanin, steroid dan terpenoid (Toja Y.T *et al.*, 2020). Daun buah hitam mengandung tanin, alkaloid dan flavanoid dengan kadar tanin

berkisar antara (8,34-37,26%) (Somar E, 2014).

Uji bioaktivitas ekstrak tumbuhan buah hitam yang telah dilakukan antara lain: uji antioksidan dari biji buah hitam (Floren, 2013), uji toksisitas terhadap ulat tritip (*Plutella xylostella* L) (Sutiharni *et al.*, 2021), uji antibakteri biji buah hitam terhadap *Aeromonas hydrophila* secara in siliko (Toja Y.T *et al.*, 2020) dan uji antibakteri dari buah hitam (Siahaan E *et al.*, 2021).

Daun buah hitam mengandung metabolit sekunder yang berpotensi sebagai agen antibakteri, namun belum ada penelitian terkait hal ini, maka perlu untuk melakukan penelitian daya hambat ekstrak daun buah hitam terhadap bakteri patogen perusak bahan pangan.

## METODE PENELITIAN

### Waktu Dan Tempat Penelitian

Penelitian ini berlangsung selama 5 bulan (September 2021-Januari 2022). Preparasi sampel, pembuatan ekstrak dan uji fitokimia dilakukan di laboratorium penelitian jurusan kimia Fakultas MIPA UNIPA. Pengukuran daya hambat bakteri dikerjakan di laboratorium mikrobiologi Fakultas MIPA UNIPA

### Alat dan Bahan

*Ratory evaporator*, oven, flannel halus, timbangan analitik, (seperangkat alat gelas), pipet tetes termometer, corong, batang pengaduk, mikropipet, spuit, jarum ose, hot plate, api Bunsen, autoklaf dan cawan petri.

Sampel daun buah hitam (*Haplolobus* sp), aseton 70%, HCl pekat, Serbuk Mg, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat, FeCl<sub>3</sub> 1%, NaOH 10%, pereaksi dragondroff, pereaksi mayer, pereaksi wagner, HCl 2N, asam asetat glasial, metanol. Bakteri *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella thypi*, media Nutrien Broth (NB), Nutrien Agar (NA), larutan DMSO 10% (kontrol negatif) dan kloramfenikol (kontrol positif)

## Prosedur Kerja

### 1. Preparasi Sampel

Sampel daun *Haplolobus* sp dibersihkan dengan air yang mengalir, kemudian sampel daun buah dipotong-potong dan dikering anginkan selama 2 hari, setelah itu sampel dioven selama 1 hari pada suhu 40°C, setelah sampel kering lalu dibuat menjadi serpihan

### 2. Pengerjaan Ekstrak

Serpihan sampel sebanyak 100 gram direndam dalam aseton 70% selama tiga hari lalu disaring. Proses ini dilakukan 2 kali pengulangan. Filtrat yang diperoleh

disatukan dan pelarut aseton diuapkan dengan *rotary evaporator*, hingga diperoleh ekstrak pekat aseton 70%. Ekstrak yang didapatkan ditentukan rendemennya, selanjutnya digunakan untuk uji fitokimia dan pengukuran daya hambat bakteri.

## Uji Fitokimia

Uji fitokimia pada ekstrak aseton daun buah hitam untuk melihat kandungan flavanoid, tanin, saponin, alkaloid, steroid dan terpenoid. Metode uji yang digunakan merujuk pada Harborne, 1998.

### Pengukuran Daya Hambat Bakteri

#### 1. Pengerjaan medium perkembangan bakteri

Nutrient Agar: Beef ekstrak 4,5 gram, Beef peptone 7,5 gram dan agar 12 gram. Cara pembuatan: sebanyak 24 gram nutrient agar ditimbang dan disuspensikan dalam akuades 1500 mL, kemudian dipanaskan sampai larut, lalu dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Nutrient Broth: Beef ekstrak 0,3 gram dan beef pepton 0,5 gram. Cara pembuatan: larutkan 0,8 gram dalam 100 mL akuades kemudian masukkan ke 10 tabung reaksi yang sudah disiapkan dan disterilkan dengan autoklaf pada suhu selama 121°C selama 15 menit (Siahaan *et al.*, 2021).

#### 2. Peremajaan Isolat Bakteri Uji

*Salmonella thypi*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus*

adalah bakteri uji yang digunakan. Peremajaan bakteri dikerjakan dengan cara: mengoleskan 1 ose bakteri uji pada medium NA miring dan diinkubasi selama dua hari dengan suhu 37°C (Wibowo *et al.*, 2021 dimodifikasi).

### 3. Pembuatan Kultur Bakteri

Pembuatan kultur bakteri uji yaitu: satu ose koloni bakteri dari medium NA miring dimasukkan ke medium NB lalu diinkubasi selama dua hari dengan suhu 37°C (Wibowo *et al.*, 2021 dimodifikasi).

### 4. Penyiapan Larutan Uji

100 mg ekstrak aseton dilarutkan dalam DMSO 10% hingga diperoleh 100 mL larutan uji dengan konsentrasi  $10^3$  µg/mL. Lalu dibuat larutan dengan konsentrasi  $5 \times 10^2$  µg/mL,  $2,5 \times 10^2$  µg/mL dan  $1,25 \times 10^2$  µg/mL menggunakan DMSO 10% (Lestari *et al.*, 2016).

### 5. Pengukuran Daya Hambat Bakteri

Pengukuran daya hambat ekstrak daun buah hitam terhadap perkembangan bakteri uji menggunakan metode sumuran. Bakteri uji yang berumur dua hari dimasukkan ke dalam cawan petri steril sebanyak 500 µL, tambahkan  $\pm 20$  mL nutrient agar dan dihomogenkan. Setelah media memadat dibuat 4 sumuran menggunakan tip steril. Ekstrak daun buah hitam dengan konsentrasi  $10^3$  µg/mL

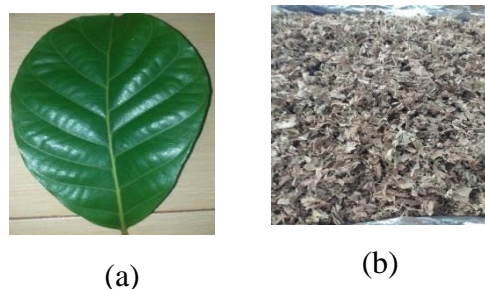
dimasukkan ke dalam dua sumuran sebanyak 50 µL dan di dua sumuran lainnya dimasukkan kloramfenikol dan DMSO 10%. Proses yang sama dilakukan untuk ketiga konsentrasi ekstrak  $5 \times 10^2$  µg/mL,  $2,5 \times 10^2$  µg/mL dan  $1,25 \times 10^2$  µg/mL. Kemudian diinkubasi selama 3 hari dengan suhu 37°C menggunakan waktu pengamatan 1 x 24 jam. Daerah transparan yang tampak di sekitar sumuran diukur diameternya memakai jangka sorong (Wibowo *et al.*, 2021 dimodifikasi).

### Analisis Data

Analisis data secara deskriptif, disajikan dalam bentuk tabel dan grafik.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel daun buah hitam yang digunakan dan serpihan daun buah hitam ditampilkan pada Gambar 1.



Gambar 1. (a). Sampel daun buah hitam  
(b). Serpihan daun buah hitam  
Rendemen Ekstrak aseton 70% yang dihasilkan dari 100 gram simplisia yang digunakan sebesar 8,6%.

## Uji Fitokimia

Hasil skrining fitokimia ditampilkan dalam Tabel 1.

Tabel. 1 Hasil Skrining Fitokimia

Uji	Ekstrak Aseton 70%
Flavanoid	+
Tanin	+
Saponin	-
Steroid	+
Alkaloid	+

Keterangan :

(+) : terdapat golongan senyawa

(-) : tidak terdapat golongan senyawa

Data pada Tabel 1 memperlihatkan bahwa dalam ekstrak aseton 70% daun buah hitam terdapat senyawa golongan flavanoid, tanin, steroid dan alkaloid.

## Pengukuran Daya Hambat Perkembangbiakan Bakteri

Daya hambat ekstrak aseton 70% daun buah hitam (*Haplolobus* sp.) terhadap perkembangbiakan bakteri patogen *S.thypi*, *B.subtilis*, *S.aureus* dan *E.coli* yang dinyatakan sebagai diameter daerah bening ditampilkan pada Tabel 2. Daerah bening menyatakan tidak adanya aktivitas pertumbuhan bakteri.

Pada Pengamatan hari pertama ekstrak aseton 70% daun buah hitam

menghambat pertumbuhan bakteri *B.subtilis* dan *E.coli* dalam kategori lemah dengan diameter daerah bening masing masing sebesar 4,8 mm dan 5,3 mm. sedangkan untuk bakteri *S.thypi* dan *S.aureus* masuk dalam kategori sedang, dengan diameter daerah bening masing masing sebesar 6,1 mm dan 6,3 mm.

Diameter daerah bening meningkat untuk semua bakteri uji dengan bertambahnya konsentrasi dan waktu pengamatan. Bertambahnya diameter daerah bening menunjukkan bahwa ekstrak aseton 70% daun buah hitam menghambat perkembangbiakan bakteri dengan cara membunuh atau bersifat bakterisida, dan mempunyai spektrum luas karena mampu membunuh bakteri gram positif dan bakteri gram negatif.

Ekstrak aseton 70 % daun buah hitam pada konsentrasi  $10^3$  µg/mL pengamatan hari ketiga paling kuat membunuh bakteri *S.thypi* dari bakteri uji lainnya dengan diameter daerah bening sebesar 14,1 mm, yang tergolong kategori kuat.

Tabel 2. Aktivitas Penghambatan Ekstrak Aseton 70% Daun Buah Hitam Terhadap Bakteri Uji

(µg/mL)	Diameter daerah bening (mm)															
	1,25x10 <sup>2</sup>			2,5x10 <sup>2</sup>			5x10 <sup>2</sup>			10 <sup>3</sup>			K +		K -	
Hari ke-	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	
<b>Bakteri</b>																
<i>S.aureus</i>	6,3	7,3	8,5	7,3	8,4	9,1	8,0	9,6	10,3	10,5	10,8	12,1	35,3	36,3	39,3	0
<i>B.subtilis</i>	4,8	6,3	11,3	6,3	8,4	8,6	8,1	9,1	10,1	9,3	10,5	11,1	19,0	31,3	33,0	0
<i>S.thypi</i>	6,1	8,1	8,4	8,3	9,4	9,6	9,1	10,1	10,8	10,4	13,1	14,1	35,3	36,3	39,3	0
<i>E.coli</i>	5,3	7,4	10,3	7,1	9,1	9,4	8,3	9,6	10,1	8,8	10,3	11,0	13,0	30,6	37,0	0

Kemampuan ekstrak aseton 70% daun buah hitam dalam menghambat perkembangbiakan bakteri uji karena di dalam ekstrak terkandung senyawa metabolit sekunder antara lain flavanoid, tanin, steroid dan alkaloid. Tanin dapat mengerutkan membran sel bakteri sehingga permeabilitas sel terganggu, dan berakibat pada kematian bakteri. Steroid dapat menghambat fungsi membran sel melalui pembentukan senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler, menyebabkan kerusakan membrane sel dan diikuti dengan keluarnya intraseluler. Flavanoid mengakibatkan penggumpalan protein sehingga terjadi denaturasi protein yang mengakibatkan rusaknya membran sel bakteri. Mekanisme penghambatan alkaloid bergantung dari jenis alkaloid, antara lain dengan mengganggu bahan penyusun peptidoglikan pada sel bakteri yang mengakibatkan tidak sempurnanya

pembentukan dinding sel (Dwicahmi *et al.*, 2015).

## KESIMPULAN

Ekstrak aseton 70% daun buah hitam (*Haplolobus* sp.) mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu flavanoid, tanin, steroid dan alkaloid. Ekstrak memiliki spektrum luas dan bersifat bakterisidal dengan aktivitas daya hambat paling besar pada bakteri *S.thypi*

## DAFTAR PUSTAKA

- Aliwu, I., Rorong, J. A., & Suryanto, E. (2020). Skrining Fitokimia Dan Uji Efek Sedatif Pelarut Dari Daun Takokak (*Solanum Turvum Swartz*) Pada Tikus Putih Galur Wistar. *Chemistry Progress*, 13(1), 6–10. <https://doi.org/10.35799/Cp.13.1.2020.28795>
- Dwicahmi, P., Khotimah, S., Bangsawan, P.I. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak

- Etanol 70% Daun Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Vibrio cholerae* Secara In Vitro. Jurnal Mahasiswa PSPD FK Universitas Tanjungpura, 3(1), 12.
- Harborne. 1998. Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan Terbitan Kedua. Terjemahan K. Padmawinata Dan I. Soediro. Itb. Bandung. Jurnal Ilmiah Farmasi – Unsrat Vol. 4 No. 3 Agustus 2015 Issn 2302 - 2493
- Lekitoo K, Batorinding E, Dimomonmau 1-8
- Marselia, S., Wibowo, M. A., Arreneuz, S. 2015. Aktivitas Antibakteri Daun Soma (*Loiarium alternifolium* Melch) Terhadap *Propionibacterium acnes*. JKK, Vol 4(4), Hal 72-82.
- Siahaan. E.M.I, Santoso B.B, Somar E. 2021. Uji Aktivitas Antibakteri Dan Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Buah Hitam (*H.Monticola*.) Asal Kabupaten Teluk Wondama. Jurnal Natural, Desember 2021. Vol 17. No 2
- Somar, E. 2014. Pengaruh Faktor Abiotik Terhadap Kadar Tanin Daun Buah Hitam (*Haplolobus cf, monticola* Husson) asal Kabupaten Teluk Wondama. Thesis Program Pascasarjana Universitas Papua, P.A, Rumbiak Wf, Heatubun Cd., & Lekitoo Hy. 2012 Re-Diversifikasi Pangan Di Tanah Papua Bagian-I. Pemanfaatan Enam Jenis Tumbuhan Hutan Penghasil Buah Sebagai Sumber Bahan Pangan Di Tanah Papua. Kementerian Kehutanan Badan Penelitian Dan Pengembangan Kehutanan
- Lestari, Y., Ardiningsih, P., & Nurlina. 2016. Aktivitas Antibakteri Gram positif Dan Gram Negatif dari Ekstrak dan Fraksi Daun Nipah (*Nypa fruticans* Wurmb.). *jkk*, 5(4), Manokwari.
- Toja T Y., Suprayitno E.,Aulanni'am., Yanuhar U. 2020.In Silico Potential Black Fruit Seeds (*Haplolobus monticola*) Wondama Local Plant West Papua As Antibacterial *Aeromonas hydrophila*. Eurasia J Biosci 14. 7125-7131
- Wibowo, M. A., Sari, D. N., & Jayuska, A. (2021). Komposisi Senyawa Bioaktif Dan Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Kayu Putih (*Melaleuca cajuputi* ) Dari Kota (Bioactive Composition And Antibacterial Activities Test Of Cajuput Leaf Essential Oil (*Melaleuca*. 12(1), 1–7.