

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK, FRAKSI *n*-HEKSAN, FRAKSI ETIL ASETAT, FRAKSI AIR DAUN PEGAGAN (*Centella asiatica* (L.) Urb) TERHADAP *Escherichia coli* ATCC 25922

Monica Sandy^{1*)}, Tatiana Siska Wardani²⁾, Anita Dwi Septiarini³⁾

^{1,2,3}Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Duta Bangsa Surakarta, Jl. Pinang Raya No.47, Cemani Sukoharjo, Kota Surakarta, Jawa Tengah, Indonesia

*email: monicasandy23@gmail.com

Abstrak

Daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb) adalah salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai antibakteri. Daun pegagan memiliki kandungan kimia flavonoid, tanin dan saponin. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air dari daun pegagan serta untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari fraksi teraktif daun pegagan terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* ATCC 25922. Serbuk daun pegagan dimaserasi menggunakan etanol 96%, kemudian difraksinasi menggunakan pelarut *n*-heksan, etil asetat dan air. Ekstrak, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air diuji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi dan dilusi. Metode difusi dengan konsentrasi 1%, 5%, 10%, 15%, 20% dan Metode dilusi konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,12%, 1,56%, 0,78%, 0,39%, 0,195% dan 0,098% terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922. Hasil pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi menunjukkan ekstrak, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air daun pegagan dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan adanya daya hambat. Fraksi etil asetat 20% paling efektif karena memiliki rata-rata daya hambat paling besar yaitu 13,67 mm. Hasil uji metode dilusi menunjukkan nilai KBM fraksi etil asetat yaitu 12,5%. Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa fraksi etil asetat adalah fraksi teraktif.

Kata kunci: *Centella asiatica* (L.) Urb, antibakteri, *Escherichia coli* ATCC 25922

Abstract

Centella asiatica (L.) Urb is one of the plants that can be used as an antibacterial. *Centella asiatica* leaves contain chemical flavonoids, tannins, and saponins. The purposes of this study were to determine the antibacterial activity of ethanol extract, *n*-hexane fraction, ethyl acetate fraction, and water fraction from *Centella asiatica* leaf and to determine the minimum inhibitory concentration (MIC) and also minimum bactericidal concentration (MBC) of the most active fraction of *Centella asiatica* leaf on the growth of *Escherichia coli* ATCC 25922. *Centella asiatica* leaves were macerated using 96% ethanol, then fractionated using *n*-hexane, ethyl acetate, and water as solvents. Extract and fractions were tested for antibacterial activity using diffusion and dilution methods. The diffusion test uses concentration of 1, 5, 10, 15, and 20%, while the dilution test uses concentration of 50, 25, 12.5, 6.25, 3.12, 1.56, 0.78, 0.39, 0.195, and 0.098%. The result of the antibacterial activity test using the diffusion method showed that the extract and fractions could inhibit bacterial growth. The 20% ethyl acetate fraction was the most effective because it had the highest average inhibition of 13.67 mm. The results of the dilution method test showed that the MBC

value of the ethyl acetate fraction was 12.5%. Based on the results of the study, it can be concluded that the ethyl acetate fraction is the most active fraction.

Keywords: *Centella asiatica* (L.) Urb, antibacterial, *Escherichia coli* ATCC 25922

1. PENDAHULUAN

Infeksi adalah penyakit terbanyak di dunia termasuk di Indonesia, karena Indonesia negara yang beriklim tropis dengan keadaan berdebu dan temperatur hangat serta lembab sehingga mendukung mikroba berkembang biak dan dapat menyebabkan infeksi (Erwiyani, 2009). Infeksi adalah penyakit yang disebabkan oleh adanya mikroba patogen dan bakteri serta jamur. Bakteri yang dapat menyebabkan infeksi pada hewan dan manusia salah satunya ialah bakteri *Escherichia coli* (Roslizawaty *et al.*, 2013). Kebanyakan pasien yang terinfeksi bakteri *Escherichia coli* ini mengalami gejala seperti diare, mual dan kejang abdomen. Pasien yang mengalami penyakit ini rata-rata selama 5 hari (Procop dan Cockrerill, 2003).

Terapi untuk penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri menggunakan antibiotik. Menurut Permenkes (2011) penggunaan antibiotik yang relatif tinggi dapat menimbulkan permasalahan serta ancaman global bagi kesehatan terutama resistensi antibiotik. Resistensi antibiotik terjadi karena mikroorganisme mengalami perubahan sehingga menyebabkan obat yang diberikan menjadi tidak efektif lagi. Resistensi antibiotik menjadi perhatian serius karena dapat terjadi penyebaran dan membebaskan biaya yang besar pada masyarakat serta dapat menyebabkan kematian (Nouwen, 2006).

Meningkatnya kejadian resistensi antibiotik membuat masyarakat beralih menggunakan tanaman untuk alternatif pengobatan, karena efek samping tanaman obat lebih kecil dibandingkan dengan obat berbahan dasar kimia dan harganya yang murah dan mudah didapat (Damayanti, 2014). Tanaman pegagan (*Centella*

asiatica (L.) Urb) adalah salah satu tanaman yang berpotensi sebagai tanaman obat. Efek samping yang ditimbulkan pada pegagan lebih kecil karena dapat dicerna oleh tubuh dan toksisitasnya rendah (Rusmiati, 2007). Kandungan bahan aktif daun pegagan yaitu saponin, tanin, flavonoid, steroid dan triterpenoid (Fajriani dan Handayani, 2011).

Menurut Dash *et al.* (2011) ekstrak *Centella asiatica* dapat menghambat bakteri *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis*. Penelitian yang dilakukan Widiastuti *et al.* (2016) menunjukkan ekstrak etanol daun pegagan terbukti efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Menurut Agfadila *et al.* (2017) menunjukkan bahwa ekstrak daun pegagan dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* ATCC 8739. Berdasarkan uraian tersebut, maka peneliti akan melakukan penelitian mengenai uji efektivitas ekstrak etanol dan fraksinasi dari daun pegagan terhadap bakteri *Escherichia coli* dengan metode difusi dan dilusi.

2. METODE PENELITIAN

Penelitian uji efektivitas antibakteri ekstrak daun pegagan terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* ATCC 25922 ini dilakukan di Laboratorium Politeknik Indonusa Surakarta. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb). Daun pegagan diperoleh di Desa Salam, Kecamatan Karangpandan, Kabupaten Karanganyar.

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan oven, blender, ayakan mesh nomor 40, gelas ukur, erlenmeyer, kaca arloji, batang pengaduk, tabung reaksi, toples kaca, corong pisah, timbangan, penangas uap, kertas saring, *Moisture Balance*, *water bath*, *rotary evaporator*, autoklaf, jarum ose, cawan petri, penggaris, rak tabung, kotak septis (enkas), lampu spiritus, pipet ukur, inkubator, pinset dan *chamber*.

Bahan-bahan yang digunakan daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb), bakteri *Escherichia coli*, aquadest, etanol 96%, metanol, etil asetat, *n*-heksan, air, H₂SO₄ Pekat, CH₃COOH 1%, FeCl₃ 1%, HCl 2N, amoniak pekat, NaCl steril, kloroform, toluen, *ciprofloxacin* (Hexpharm Jaya), media *Nutrient Agar*, *Nutrient broth*, *Mueller Hinton Agar*, Mc Farland 0,5%, kertas cakram, silika gel GF254, spritus.

Determinasi Tanaman

Determinasi dilakukan di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TOOT).

Pembuatan Ekstrak Etanol 96% Daun Pegagan

Daun pegagan yang telah dipilih, kemudian dicuci dengan air mengalir hingga bersih dan dikeringkan dengan oven pada suhu 40°C. Daun pegagan kering dibuat serbuk dengan cara diblender sampai halus dan diayak dengan ayakan mesh nomor 40. Serbuk daun pegagan dilakukan uji susut pengeringan dengan menimbang sebanyak 2 gram. Susut pengeringan diukur menggunakan alat *Moisture Balance* dengan suhu diatur 105°C.

Serbuk simplisia 200 g dilakukan proses maserasi dengan melakukan perendaman menggunakan etanol 96% sebanyak 2 L selama 5 hari. Filtrat ekstrak daun pegagan di pekatkan dengan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak

kental yang bebas dari pelarut. Setelah itu, dilakukan uji bebas etanol dengan cara ekstrak ditambah dengan H₂SO₄ pekat dan CH₃COOH 1%. Uji positif ekstrak bebas etanol jika tidak terdapat bau ester yang khas dari etanol (Praepandi, 2006).

Uji Fitokimia Ekstrak Daun Pegagan Uji Flavonoid

Ekstrak daun pegagan ditimbang sebanyak 0,5 gram lalu dilarutkan dalam metanol panas dan menambahkan 0,1 gram serbuk Mg dan 5 tetes HCL pekat. Hasil positif ditunjukkan warna jingga (Setyowati *et al.*, 2014).

Uji Saponin

Ekstrak daun pegagan ditimbang 100 mg dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 10 mL air panas lalu didinginkan, setelah dingin dikocok selama 30 detik. Tabung didiamkan selama 30 menit, apabila terbentuk buih setinggi 1– 10 cm, maka menunjukkan adanya saponin dan jika ditambah HCl 2N buih tidak hilang (Widiastuti *et al.*, 2016).

Uji Tanin

Ekstrak daun pegagan ditimbang 100 mg dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan FeCl₃ 10% sebanyak 5 mL kemudian dikocok, apabila cairan berubah menjadi biru tua atau hijau kehitaman maka menunjukkan adanya tanin (Widiastuti *et al.*, 2016).

Identifikasi Kandungan Kimia Fraksi Secara KLT

Identifikasi Flavonoid

Identifikasi senyawa flavonoid menggunakan KLT, fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase geraknya butanol : asam asetat : air (4:5:1) dengan pereaksi semprot sitroborat. Bila dengan UV 254 nm memberikan peredaman, UV 366 nm berflouresensi biru, kuning, ungu gelap (Marliana, 2007).

Identifikasi Tanin

Mengidentifikasi senyawa tanin menggunakan KLT, fase diam yang digunakan yaitu silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak yang digunakan adalah toluen : etil asetat (3:1). Dideteksi dibawah 30 sinar UV 254 nm berwarna hijau gelap dan UV 366 nm biru hitam dengan pendeteksi ferri sulfat 1% (Hayati *et al.*, 2010).

Identifikasi Saponin

Identifikasi senyawa saponin dilakukan menggunakan KLT, fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak fase gerak kloroform : metanol : air (13:7:2) dengan pereaksi semprot *Lieberman Bourchardat* (LB) Senyawa saponin akan terlihat ungu atau noda gelap pada sinar UV 254 nm dan UV 366 nm. Pada sinar tampak bercak berwarna merah, kuning, biru tua, ungu, hijau atau kuning coklat (Maryono, 2017).

Fraksinasi

Ekstrak daun pegagan ditimbang 10 g. Larutkan dengan pelarut air 75 mL, kemudian difraksinasi sebanyak 3 kali dengan *n*-heksan menggunakan corong pisah, fraksi *n*-heksan yang didapat diuapkan. Residu yang didapat dari fraksi *n*-heksana dilanjutkan fraksinasi 3 kali dengan pelarut etil asetat masing-masing 75 mL. Hasil yang didapat adalah fraksi etil asetat, kemudian uapkan dan residu yang didapat dari fraksi etil asetat adalah fraksi air kemudian diuapkan sampai pekat.

Pembuatan Suspensi Bakteri

Uji *Escherichia coli* Pembuatan suspensi bakteri uji *Escherichia coli* dengan cara beberapa ose biakkan bakteri *Escherichia coli* dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi media NaCl steril dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, kemudian kekeruhan disetarakan dengan Mc Farland 0,5%. Hasil pengenceran digunakan untuk pengujian antibakteri *Escherichia coli*.

Pengujian Aktivitas Antibakteri *Escherichia coli*

Metode Difusi

Metode yang digunakan yaitu difusi dengan menyelupkan kapas lidi steril pada suspensi bakteri yang telah dibuat kemudian diinokulasikan ke dalam media MHA dengan metode perataan (*Spread Plate Method*). Medium didiamkan 10 menit pada suhu kamar agar suspensi biakan terdifusi ke dalam media (Maneak, 2018). Kertas cakram direndam selama 15 menit dengan ekstrak etanol daun pegagan dan fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, fraksi air dengan 5 konsentrasi yaitu 1%, 5%, 10%, 15% dan 20%, *ciprofloxacin* 0,5% sebagai kontrol positif dan kontrol negatif pelarut DMSO 1%, masing-masing dengan volume 10µl dan kontrol normal tanpa penambahan suspensi *Escherichia coli* dan *ciprofloxacin*. Masa inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dan diamati hasilnya. Diameter zona hambat sekitar kertas cakram diukur dan dinyatakan dalam satuan mm. Daerah yang tidak ditumbuhi bakteri sekitar disk menandakan bahwa kandungan kimia daun pegagan memiliki daya hambat terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922.

Metode Dilusi

Metode tersebut menggunakan 13 tabung steril. Konsentrasi larutan stok yang dibuat adalah 50%, kemudian diencerkan dengan pelarut DMSO 1%. Secara aseptik dari larutan stok tersebut dibuat deret konsentrasi dibawahnya yaitu 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,19%; 0,095%; kontrol normal yaitu media NB, kontrol (-) yaitu larutan stok dan kontrol (+) yaitu suspensi bakteri + media NB. Media NB yang digunakan dimasukkan 0,5 mL pada tiap tabung kecuali tabung kontrol (-). Secara aseptik, masukkan 1 mL larutan stok yang akan diuji, kemudian dari tabung (50%) dimasukkan 0,5 mL larutan stok, kemudian dari tabung (25%) dipipet 0,5 mL dan dimasukkan kedalam tabung

(12,5%) begitu seterusnya sampai tabung (0,095%) kemudian dibuang 0,5 mL. Tambahkan 0,5 mL biakan bakteri dari tabung (50%) sampai tabung kontrol (+). Lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. 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 konsentrasi terendah merupakan konsentrasi hambat minimum. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ditentukan dengan menginokulasikan dari sejumlah tabung yang hasilnya jernih pada media MHA dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan diamati ada tidaknya pertumbuhan jamur dengan melihat ada tidaknya koloni bakteri yang tumbuh.

Analisis Data

Data penelitian ini dianalisis dengan menggunakan SPSS 25, menggunakan uji One Way ANOVA (*Analysis of Varians*) dan perlu dilakukan uji lanjutan yaitu *Post Hoc Test*. Uji *Post Hoc* yang dilakukan dengan metode *Tukey*. Uji tersebut bertujuan untuk mengetahui perbedaan antara ekstrak daun pegagan dan fraksi dengan kontrol positif *ciprofloxacin*. Adanya perbedaan signifikan pada uji ditandai dengan nilai $p < 0,05$. Perbedaan signifikan ini menunjukkan bahwa fraksi daun pegagan dengan ketiga pelarut tersebut berbeda secara signifikan terhadap kontrol positif.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Ekstrak Etanol 96% Daun Pegagan

Daun pegagan dikeringkan dengan oven pada suhu 40°C sampai daun kering. Pengeringan bertujuan untuk mengurangi kadar air agar tidak mudah terjadi pertumbuhan bakteri serta jamur (Gunawan & Mulyani, 2004). Daun pegagan yang telah kering dibuat serbuk dengan cara diblender sampai halus dan

diayak dengan ayakan mesh nomor 40. Penyerbukan dilakukan untuk dapat memperluas partikel bahan yang kontak dengan pelarut sehingga penyarian dapat berlangsung secara efektif. Hasil susut pengeringan diperoleh sebesar 9,24%. Susut pengeringan memenuhi persyaratan Farmakope Herbal Indonesia bila suatu serbuk simplisia tidak lebih dari 10%, jika terlalu tinggi dapat merubah komposisi kimia dari simplisia sehingga menurunkan kualitas simplisia dan mudah ditumbuhi bakteri.

Pembuatan ekstrak daun pegagan menggunakan metode maserasi. Maserasi dilakukan selama 5 hari sesekali sambil diaduk, setelah itu disaring dengan kain flanel diperoleh hasil maserasi, kemudian hasil maserasi tadi disaring lagi menggunakan kertas saring agar tidak ada endapan pada hasil maserasi akhir. Filtrat diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 55°C sampai terbentuk ekstrak pekat. Hasil pada tabel 1 menunjukkan persentase rendemen ekstrak etanol 96% pada daun pegagan diperoleh sebanyak 15,22%. Organoleptis ekstrak berwarna hijau tua dan bentuk kental. Hasil uji bebas etanol menunjukkan bahwa ekstrak daun pegagan sudah bebas dari pelarut etanol 96% yang ditunjukkan tidak ada bau ester yang khas dari etanol. Uji bebas etanol dilakukan untuk membebaskan ekstrak dari etanol sehingga didapatkan ekstrak yang murni tanpa ada kontaminasi, selain itu etanol sendiri bersifat sebagai antibakteri dan antifungi sehingga tidak akan menimbulkan positif palsu pada perlakuan sampel (Kurniawati, 2015).

Uji Fitokimia Ekstrak Daun Pegagan

Berdasarkan hasil pada tabel 2 dapat dilihat uji fitokimia pada ekstrak daun pegagan menunjukkan bahwa ekstrak daun pegagan terdapat senyawa flavonoid, saponin dan tanin.

Tabel 1. Hasil Pembuatan Ekstrak Etanol 96% Daun Pegagan

Bobot Serbuk (g)	Bobot Ekstrak (g)	Persentase (%)	Pustaka (FHI)
200 (g)	30,441 (g)	15,22%	>7,2%

Tabel 2. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Daun Pegagan

No	Pengujian	Hasil	Keterangan
1.	Flavonoid	+	Warna jingga
2.	Saponin	+	Terdapat buih
3.	Tanin	+	Warna biru tua

Penelitian Kristina *et al*, (2009) daun pegagan mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan triterpenoid. Menurut Ramadhan (2015), daun pegagan mengandung senyawa saponin, tannin, alkaloid, flavonoid. Penelitian yang dilakukan oleh Sieberi *et al*, (2020) menyebutkan bahwa ekstrak daun pegagan mengandung senyawa yang meliputi alkaloid, glikosida jantung, saponin, tanin, flavonoid, terpenoid, dan fenol.

Identifikasi Kandungan Kimia Fraksi Secara KLT

Tabel 3. Hasil Identifikasi Kandungan Kimia Fraksi Secara KLT

Pengujian	Sinar UV	Warna Bercak	Nilai Rf
Flavonoid	254 nm	Fluoresensi biru	0,8 cm
	366 nm		
Saponin	254 nm	Bercak ungu	0,75 cm
	366 nm		
Tanin	245 nm	Hijau gelap Biru hitam	0,93 cm
	366 nm		

Fraksinasi Ekstrak Daun Pegagan

Fraksinasi dilakukan dengan menggunakan pelarut *n*-heksan, etil asetat dan air dan dilakukan 3 kali replikasi. Hasil perhitungan persentase rendemen fraksinasi dari fraksi *n*-heksan daun pegagan diperoleh persentase rata-rata yaitu 22,66%, kemudian pada fraksi etil asetat didapat persentase rata-rata rendemen sebanyak 22,08% dan pada fraksi air diperoleh persentase rata-rata rendemen sebesar 24,13%. Hasil rendemen yang berbeda dari tiap fraksi berkaitan dengan banyaknya senyawa yang

Identifikasi terhadap kandungan kimia dengan KLT hanya dilakukan pada fraksi etil asetat karena fraksi ini mempunyai aktivitas antibakteri paling aktif terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922. Berdasarkan tabel 3 hasil identifikasi kromatografi lapis tipis, dapat disimpulkan bahwa fraksi etil asetat dari ekstrak etanol daun pegagan positif mengandung senyawa flavonoid, saponin dan tanin. Menurut Marlina (2007) Senyawa flavonoid akan berwarna berfluoresensi biru, kuning dan ungu gelap tergantung dari strukturnya di bawah lampu UV 366 nm. Senyawa saponin akan terlihat ungu atau noda gelap pada sinar UV 254 nm dan UV 366 nm (Maryono, 2017). Identifikasi senyawa tanin pada sinar UV 254 nm akan berwarna hijau gelap dan UV 366 nm biru hitam (Hayati *et al.*, 2010).

terkandung didalam daun pegagan. Pengulangan dilakukan bertujuan untuk efisiensi dari proses penyarian senyawa. Penyarian yang baik diperoleh jika jumlah ekstraksi yang dilakukan secara berulang dengan menambahkan jumlah pelarut sedikit demi sedikit (Khopkar, 2003).

Pengujian Aktivitas Antibakteri *Escherichia coli* Metode Difusi

Hasil pengujian aktivitas antibakteri diperoleh hasil bahwa ekstrak, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi

air dari daun pegagan dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dengan menunjukkan adanya daya hambat disekitar disk. Berdasarkan hasil pada tabel 4 pengujian aktivitas bakteri dapat dilihat semakin besar konsentrasi maka semakin besar daya hambat pada masing-masing kelompok Kemampuan antibakteri dalam menghambat mikroorganisme tergantung

pada konsentrasi dan jenis antibakteri. Semakin tinggi konsentrasi suatu antibakteri, maka daya hambat yang terbentuk semakin besar. Semakin tinggi konsentrasi pada bahan antibakteri, maka zat aktif yang terkandung semakin banyak, sehingga akan semakin meningkat dalam menghambat bakteri dan dapat membentuk zona bening yang lebih luas (Rastina *et al.*, 2015).

Tabel 4. Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri Secara Difusi Terhadap Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922

Bahan Uji	Konsentrasi	Daya Hambat (mm)			Rata – Rata (mm) ± SD
		I	II	III	
Ekstrak	1%	6	6,5	6,5	6,33 ± 0,28
	5%	7	6,5	7	6,83 ± 0,28
	10%	8	7,5	7,5	7,66 ± 0,28
	15%	8	9	8,5	8,50 ± 0,50
	20%	10	10	10	10,00 ± 0,00
N-Heksan	1%	5,5	6	6	5,83 ± 0,28
	5%	7	6,5	7	6,83 ± 0,28
	10%	7	7,5	7,5	7,33 ± 0,28
	15%	8	8	8,5	8,16 ± 0,28
	20%	9	9	9	9,00 ± 0,00
Etil asetat	1%	7	8	8	7,66 ± 0,57
	5%	8,5	9,5	9,5	9,16 ± 0,57
	10%	11	10	10,5	10,5 ± 0,50
	15%	12,5	12,5	11	12,00 ± 0,86
	20%	13	13	15	13,66 ± 1,15
Air	1%	5,5	5	5	5,16 ± 0,28
	5%	6,5	6	6,5	6,33 ± 0,28
	10%	7	7	7	7,00 ± 0,00
	15%	7,5	7,5	8	7,66 ± 0,28
	20%	8,5	8	8,5	8,33 ± 0,28
Ciprofloxacin		15,5	15	15,5	15,33 ± 0,28
		17,5	17	16	16,83 ± 0,76
	0,5%	19,5	19,5	19	19,33 ± 0,28
		20	20	20	20,00 ± 0,00
		20,5	20,5	21,5	20,83 ± 0,57
DMSO 1%	1%	0	0	0	0,00 ± 0,00

Hasil pengujian *Post Hoc Tukey* menunjukkan bahwa ekstrak, fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air memiliki efek dalam menghambat pertumbuhan bakteri, tetapi fraksi etil asetat 15% dan 20% memiliki efek antibakteri yang berbeda dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922. Hasil analisis fraksi etil asetat 15% dan fraksi etil asetat 20% menunjukkan tidak adanya perbedaan secara signifikan, karena nilai signifikan ($P > 0,05$), tetapi fraksi etil

asetat 20% lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 karena memiliki daya hambat paling besar dengan rata-rata diameter 13,67 mm. Etil asetat merupakan pelarut yang bersifat semi polar kemungkinan dapat menarik senyawa polar dan non polar. (Murdiyansah, *et al.*, 2020). Hal tersebut mengakibatkan fraksi etil asetat menjadi fraksi teraktif dengan membentuk daya hambat paling besar dibandingkan dengan

ekstrak dan fraksi lain (Maneak, 2017).

Pengujian *Post Hoc Tukey* ekstrak, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air pada semua konsentrasi uji dengan kontrol positif *ciprofloxacin* menunjukkan adanya perbedaan bermakna ($P < 0,05$). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak, fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air mempunyai potensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri, tetapi tidak sebanding dengan *ciprofloxacin* dalam kemampuan menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* ATCC 25922 karena diameter zona hambat lebih besar dibanding dengan hasil ekstrak maupun fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air daun pegagan.

Metode Dilusi

Pengujian aktivitas antibakteri secara dilusi ini menggunakan hasil yang diperoleh dari uji difusi yaitu fraksi etil asetat yang paling aktif. Pengujian aktivitas antibakteri metode dilusi untuk mengetahui Konsentrasi Hambat

Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). Konsentrasi Hambat Minimum dapat ditentukan dari kadar terendah larutan uji yang terlihat jernih, setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C hasil menunjukkan terdapat larutan uji yang terlihat jernih yaitu pada konsentrasi 12,5%, 25% dan 50%. Hasil pengujian aktivitas antibakteri dari fraksi etil asetat daun pegagan dengan metode dilusi dapat dilihat pada tabel 5.

Konsentrasi Bunuh Minimum yang menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dapat diketahui dengan menginokulasikan sediaan dari tabung uji pada media MHA pada cawan petri, kemudian diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. Konsentrasi Bunuh Minimum ditentukan pada media MHA dengan konsentrasi minimum yang tidak menunjukkan pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922. Hasil menunjukkan bahwa fraksi etil asetat memiliki konsentrasi bunuh minimum sebesar 12,5%.

Tabel 5. Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat Secara Dilusi Terhadap Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922

Konsentrasi (%)	Replikasi		
	I	II	III
Kontrol (-) Fraksi etil asetat	-	-	-
50%	-	-	-
25%	-	-	-
12,5%	-	-	-
6,25%	+	+	+
3,12%	+	+	+
1,56%	+	+	+
0,78%	+	+	+
0,39%	+	+	+
0,195%	+	+	+
0,098%	+	+	+
Kontrol (+) Suspensi bakteri + Media NB	+	+	+

Keterangan: (-) tidak ada pertumbuhan bakteri, (+) ada pertumbuhan bakteri

4. SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian uji aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, fraksi air dari daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb) terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 secara difusi dan dilusi dapat

disimpulkan bahwa ekstrak, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, fraksi air dari daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922. Secara metode difusi fraksi etil asetat dari ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica*

(L.) Urb) pada konsentrasi 20% mempunyai aktivitas antibakteri teraktif terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dan pada metode dilusi Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) fraksi etil asetat dari ekstrak etanol daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb) sebagai antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922, yaitu sebesar 12,5%.

5. DAFTAR PUSTAKA

- Agfadila, T., Putu, A.S.W dan Ni, N.P. 2017. Kemampuan Daya Hambat Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* ATCC 8739. *Jurnal ITEPA*. **6**(2): 21-29
- Damayanti, A. 2014. Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Alpukat (*Persea americana*) sebagai Bahan Irigasi Saluran Akar Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Enterococcus faecalis*. *Naskah Publikasi*. Surakarta: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Dash B. K., H. M. Faruquee, S.K. Biswas, M.K. Alam, S. M. Sisir, dan U. K. Prodhon. 2011. Antibacterial and Antifungal Activities of Several Extracts of *Centella asiatica* L. against Some Human Pathogenic Microbes. *Life Sciences and Medicine Research*. LSMR-35.
- Erwiyani, A.R. 2009. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstraksi Etanol Buah Ceremai (*Phyllanthus Acidus* (L.) Skeels) Terhadap *Staphylococcus Aureus* Dan *Escherichia Coli* Dan Bioautografinya. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Fajriani dan Handayani, H. 2011. Penatalaksanaan Early Childhood Caries. *Jurnal Dentofasial*. **10**(3): 179-183.
- Gunawan, D dan Mulyani, S. 2004. Ilmu Obat Alam (Farmakognosi). Jilid I. Jakarta: Penebar Swadaya. Hal: 1-7, 9- 13, 86-94, 104-122.
- Hayati, E.K., A. Ghanaim, F., Lailis, S. 2010. Fraksinasi Dan Identifikasi Senyawa Tanin Pada Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). *Jurnal Kimia*. **4**(2): 193-200.
- Khopkar, S.M. 2003. Konsep Dasar Kimia Analitik. Jakarta: UI Press.
- Kristina, N.N., Edy, D.K dan Putri, K.L. 2009. Analisis Fitokimia Dan Penampilan Polapita Protein Tanaman Pegagan (*Centella asiatica*) Hasil Konservasi *InVitro*. *Bul.Littri*. **20**(1): 11-20
- Kurniawati, E. 2015. Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Tunas Bambu Apus Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* Secara *InVitro*. *Jurnal Wiyata*. **2**(2): 193-199.
- Maneak, I.E. 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Dan Fraksi *n*-heksana, Etil Asetat, serta Air dari Daun Jambu Air (*Syzygium aqueum*) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* ATCC 25922. *Skripsi*. Universitas Setia Budi.
- Marliana, E. 2007. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dari Batang *Spatholobus ferrugineus* (Zoll & Moritzi) Benth yang Berfungsi sebagai Antioksidan. *Jurnal Penelitian MIPA*. **1**(1): 23-29.

- Maryono, T. 2017. Aktivitas Antibakteri Fraksi N-Heksana, Etil Asetat, dan Air dari Ekstrak Metanol Daun Kenikir (*Cosmos caudatus Kunth.*) Terhadap *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031. *Skripsi*. Universitas Setia Budi.
- Murdiyansah, S., Dewa, A.C.R dan I Gde, M. 2020. *Centella asiatica* Activities towards *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* Growth. *Jurnal Biologi Tropis*. **20**(3): 499-506.
- Nouwen, J.L. 2006. Controlling Antibiotic Use and Resistance. *Clinical Infectious Disease*. **42**: 776-777.
- Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia. 2011. Pedoman Umum Penggunaan Antibiotik. Jakarta: Menteri Kesehatan Republik Indonesia.
- Praepandi. 2006. *Card System Analisa Kimia Farmasi Kualitatif*. Bandung: Seksi Diktat Stenhl. Hal 9.
- Procop, G.W., dan Cockrerill. 2003. Enteritis Caused by *Escherichia coli*, *Shigell* & *Salmonella species*. New York: Lange Medical Books.
- Ramadhan, N. S., Rasyid, R dan Elmatris Sy. 2015. Daya Hambat Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica*) yang Diambil di Batusangkar terhadap Pertumbuhan Kuman *Vibrio cholerae* secara *In Vitro*. *Jurnal: Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang*. **4**(1): 202-206.
- Rastina, R., Sudarwanto, M dan Wientarsih, I. 2015. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kari (*Murraya koenigii*) terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas sp.* *Jurnal Kedokteran Hewan*. **9**(2): 185-188.
- Roslizawaty, Ramadani, N.Y., Fakhurrrazi, Herrialfian. 2013. Aktivitas Antibakterial Ekstrak Etanol dan Rebusan Sarang Semut (*Myrmecodia sp.*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Medica Veterinaria*. **7**(2): 91-94.
- Rusmiati. 2007. Pengaruh ekstrak kayu secang (*Caesalpinia sappan L.*) terhadap *viabilitas spermatozoa* mencit jantan (*Mus musculus L.*). *J. Biosci*. **4**(2): 34-38.
- Setyowati W.A.E., Sri, R.D.A., Ashadi, Bakti, M dan Cici, P.R. 2014. Skrining Fitokimia dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian (*Durio zibethinus Murr.*) *Varietas Petruk*. *Prosiding Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia VI*. Hal: 271-280.
- Sieberi, B.M., George, I.O., Rachael, K.W., Judith, C.S dan Mathew, P.N. 2020. Screening of the Dichloromethane: Methanolic Extract of *Centella asiatica* for Antibacterial Activities against *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, *Shigella sonnei*, *Bacillus subtilis*, and *Staphylococcus aureus*. *Hindawi: The Scientific World Journal*. Hal: 1-8.
- Widiastuti, R., Nurhaeni, F., Marfuah LD., Wibowo, S.G. 2016. Potensi Antibakteri dan Anticandida Ekstrak Etanol Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L). Urb.). *Jurnal. Yogyakarta: Farmasi Poltekkes Bhakti Setya Indonesia*.