

**ANALISIS KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS DAN AKTIVITAS
ANTIMIKROBA EKSTRAK *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT DAN
ETANOLBIJI SALAK (*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss)**

**THIN LAYER CHROMATOGRAPHY ANALYSIS AND
ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF *n*-HEXANE, ETHYL
ACETATE AND ETHANOL EXTRACTS OF SALAK
SEEDS (*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss)**

Vriezka Mierza¹, Yessi Febriani², Sumardi³, Ayu Atikah Ramadhani⁴, Rahma Julita⁵,
Florence Devina Telaumbanua⁶, Eva Zuhra⁷

Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Singaperbangsa Karawang, Indonesia
email: vriezka.mierza@unsika.fikes.ac.id

Abstrak

Salak termasuk famili Arecaceae yang merupakan tanaman asli Indonesia, salak dapat diolah menjadi produk makanan seperti keripik salak, kopi biji salak, dan obat tradisional. Berdasarkan penelitian sebelumnya, salak mengandung senyawa metabolit sekunder berupa alkaloid, flavonoid, steroid/triterpenoid dan tanin. Kebaruan dalam penelitian ini karena menganalisis kromatografi lapis tipis dan aktivitas antimikroba ekstra *n*-heksana, etil asetat dan etanol biji salak. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi senyawa antimikroba dan potensi aktivitas antimikroba dari ekstrak hasil maserasi menggunakan pelarut *n*-Heksana. etil asetat dan etanol pada biji buah salak terhadap jamur *Candida albicans*, *Candida albicans* ATCC 14053, bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Dermacoccus nishinomiyaensis*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 dan *Staphylococcus epidermidis*. Penelitian ini dilakukan meliputi penyiapan bahan tumbuhan uji, determinasi tumbuhan, pembuatan simplisia, ekstraksi menggunakan metode maserasi bertingkat dengan pelarut *n*-heksana, etil asetat dan etanol, uji aktivitas antimikroba ekstrak *n*-heksana, etil asetat dan etanol biji buah salak menggunakan metode difusi agar sumur dan analisis golongan senyawa kimia menggunakan kromatografi lapis tipis. Berdasarkan proses ekstraksi 900 g simplisia, diperoleh ekstrak *n*-heksana sebanyak 3,22g, ekstrak etil asetat sebanyak 7,26g dan ekstrak etanol sebanyak 7,17g. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak *n*-heksana, etil asetat dan etanol biji salak memiliki aktivitas antimikroba. Berdasarkan hasil analisis kromatografi lapis tipis menunjukkan bahwa biji salak mengandung senyawa alkaloid, polifenol, steroid dan triterpenoid. Kesimpulan penelitian ini adalah ekstrak biji salak mengandung senyawa alkaloid, steroid dan triterpenoid serta memiliki aktivitas antimikroba.
Kata kunci : Antimikroba; Biji Buah Salak; Maserasi Bertingkat; Kromatografi Lapis Tipis.

Abstract

*Salak belongs to the Arecaceae family, which is a plant native to Indonesia. Salak can be processed into food products such as malacca chips, malacca seed coffee, and traditional medicine. Based on previous studies, salak contains secondary metabolites in the form of alkaloids, flavonoids, steroids/triterpenoids, and tannins. The novelty in this study was due to the analysis of thin-layer chromatography and the antimicrobial activity of extra *n*-hexane, ethyl acetate, and ethanol of malacca seeds. The purpose of this study was to identify the antimicrobial compounds and the potential for antimicrobial activity from macerated extracts using an *n*-hexane solvent. Ethyl acetate and ethanol in salak fruit seeds against *Candida albicans*, *Candida albicans* ATCC 14053, *Escherichia coli* bacteria ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Dermacoccus nishinomiyaensis*, *Micrococcus gluteus*, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 and *Staphylococcus epidermidis*. This research was carried out, including preparation of test plant materials, determination of plants, manufacture of simplicial, extraction using multilevel maceration method with *n*-hexane, ethyl acetate, and ethanol solvents, testing the antimicrobial activity of *n*-hexane extract, ethyl acetate and ethanol of salak fruit seeds using the agar diffusion method. Wells and group analysis of chemical compounds using thin-layer chromatography. Based on the extraction process of 900 g of simplicial, 3.22 g of *n*-hexane extract, 7.26 g of ethyl acetate extract, and 7.17 g of ethanol extract were obtained. The results showed that the *n*-hexane, ethyl acetate, and ethanol extracts of salak seeds had antimicrobial activity. Based on the results of thin-layer chromatography analysis showed that salak seeds contain alkaloids, polyphenols, steroids, and triterpenoids. The conclusion of this study is that salak seed extract contains alkaloids, steroids, and triterpenoids and has antimicrobial activity.*

Keywords: Antimicrobial; Salak Fruit Seeds; Multilevel Maceration; Thin layer chromatography.

1. PENDAHULUAN

Dalam pengobatan modern saat ini antimikroba telah banyak digunakan dan dikembangkan untuk keberhasilan sistem perawatan kesehatan. Sebagian besar mikroba seperti bakteri, virus, jamur dan parasit telah mengembangkan kapasitas intrinsik dari waktu ke waktu untuk berkembang dan mengembangkan resistensi terhadap bahan kimia antimikroba, yang membuat obat-obatan konvensional saat ini tidak efisien digunakan untuk pengobatan (1). Antimikroba merupakan senyawa yang dapat menghambat dan membunuh pertumbuhan mikroorganisme seperti bakteri dan jamur. Penggunaan antibiotik berbahan dasar alami menjadi salah satu upaya untuk menurunkan angka resistensi antibiotik. Antimikroba telah memainkan peran besar dalam pengobatan penyakit infeksi dan telah menyelamatkan banyak nyawa, namun penggunaan terapi yang tidak tepat seringkali memicu terjadinya resistensi antimikroba (2).

Menurut pernyataan literatur sebelumnya (3) Antibiotik sering diremehkan oleh masyarakat, karena menghasilkan sebagian kecil dari pendapatan tahunan pasien yang menerima obat antibiotik. Antibiotik merupakan sekelompok obat yang digunakan untuk mencegah dan menyembuhkan infeksi bakteri. Ada pengakuan global yang berkembang bahwa munculnya bakteri yang resisten terhadap banyak obat secara terus-menerus merupakan ancaman serius bagi kesehatan manusia.

Iklim tropis dan kelembapan udara yang tinggi, merupakan salah satu faktor penyebab infeksi jamur kulit di Indonesia (4). Kasus infeksi yang paling sering ditemui di daerah tropis adalah kandidiasis. Kandidiasis genital merupakan infeksi jamur yang sering terjadi pada perempuan. Infeksi ini menyebabkan rasa tidak nyaman baik secara fisik maupun psikologis. Infeksi ini disebabkan oleh salah satu spesies *Candida* 90% penyebab kandidiasis genital diakibatkan oleh *Candida albicans*. Kandidiasis merupakan mikosis yang disebabkan oleh beberapa spesies dari genus *Candida*. *Candida albicans* dapat menyebabkan infeksi utama di mulut dan divagina yang sering dikenal dengan *oral candidiasis* dan *vaginal candidiasis*. Kandidiasis dapat menyerang semua usia baik laki-laki maupun perempuan (5).

Resistensi menjadi masalah yang sering muncul dalam pengobatan penyakit infeksi. Resistensi terhadap antibiotik berdampak negatif, seperti pengobatan menjadi lebih lama dan meningkatnya resiko kematian. Peningkatan resistensi antibiotik menjadikan peluang dalam memperoleh senyawa antibakteri dengan pemanfaatan senyawa bioaktif dari keanekaragaman tumbuhan yang ada. Contoh resistensi antibiotik terjadi pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli*. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* sendiri resisten terhadap antibiotik golongan Beta-laktam, methicillin, nafcillin, oxacillin dan vancomycin. Sedangkan *Escherichia coli* juga resisten terhadap antibiotik seperti ampicillin dan penisilin (6).

Penyakit infeksi yang sering terjadi salah satunya adalah penyakit infeksi kulit. Penyebab penyakit infeksi kulit disebabkan oleh mikroorganisme seperti bakteri maupun jamur. Bakteri gram positif seperti *Staphylococcus epidermidis* dan *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu bakteri patogen yang menyebabkan penyakit infeksi terhadap manusia diantaranya infeksi kulit dan jaringan lunak seperti jerawat, pneumonia, infeksi saluran kemih, infeksi ginjal sehingga dapat menyebabkan keracunan makan. Bakteri ini umumnya terdapat pada kulit dan lendir membran manusia dan hewan, biasanya juga dapat ditemukan di alam seperti tanah atau air, dan dari berbagai macam bahan makanan seperti daging dan susu (7). Oleh karena itu, diperlukan pengobatan alami yang dapat memberikan efek terapi besar dengan toksisitas dan efek samping yang kecil. Salah satunya menggunakan tumbuhan salak (*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss) (8). Dalam penelitian ini yang digunakan yaitu biji salak sebagai antijamur dan bakteri.

Salak (*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss) merupakan tanaman asli Indonesia yang termasuk kedalam suku Areaceae. Kualitas buah salak yang baik dicapai ketika dipanen pada tingkat kematangan yang baik. Buah salak yang belum matang rasanya sepat dan tidak manis saat dipetik. Umumnya memiliki panjang buah yang bisa mencapai 1,0-2,5 cm dan ketebalan buah yang biasanya sekitar 1,5 cm (9).

Berdasarkan uraian diatas, penelitian ini diharapkan dapat menambah bukti penelitian bahwa biji salak mempunyai aktivitas antijamur dan antibakteri yang cukup potensial sehingga dapat digunakan sebagai antibiotik alami dengan

menggunakan bahan aktif ekstrak *n*-heksana, etil asetat dan etanol. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder dan aktivitas antimikroba dari ekstrak biji salak terhadap jamur *Candida albicans*, *Candida albicans* ATCC 14053, bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, dan *Staphylococcus epidermidis*

2. BAHAN DAN METODE

2.1. Bahan

Bahan tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji salak (*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss). Bahan kimia yang digunakan pada penelitian ini adalah aquades, asam asetat anhidrit (Merck[®]), asam sulfat (Merck[®]), besi (III) klorida (Merck[®]), etanol pro analisis (Merck[®]), etil asetat (Merck[®]), kloramfenikol (Holi[®]), *n*-heksana (Merck[®]), methanol (Merck[®]), *mueller hinton agar* (Himedia[®]), *mueller hinton broth* (Himedia[®]), *nystatin* (Nystin[®]), *nutrient agar* (Himedia[®]), plat aluminium KLT silika gel 60 F₂₅₄ (Merck[®]), *sabouraud dextrose agar* (Himedia[®]). Kultur jamur yang digunakan adalah *Candida albicans* isolat klinik dan *Candida albicans* ATCC 14053. Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Demacoccus nishinomiyaensis*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 dan *Staphylococcus epidermidis*.

2.2. Metode

2.2.1. Pembuatan Serbuk Simplisia

Penelitian ini menggunakan 70 kg buah salak segar kemudian diperoleh biji buah salak

sebanyak 9 kg. Tahapan pertama yaitu buah salak dipisahkan daging dan bijinya, biji salak kemudian dicuci bersih dengan air mengalir kemudian dikeringkan di udara terbuka. Biji salak selanjutnya dimasukkan ke dalam lemari pengering pada suhu 40- 50°C hingga kering, Biji salak yang telah kering dipecahkan menjadi beberapa bagian yang selanjutnya pecahan tersebut diserbukkan menggunakan mesin penghancur hingga didapatkan serbuk biji buah salak. Serbuk yang didapat ditimbang berat keseluruhannya lalu disimpan di dalam wadah tertutup baik (10).

2.2.2. Pembuatan Larutan Preaksi

Pembuatan larutan preaksi dilakukan sebelum melaksanakan uji terhadap serbuk simplisia dan ekstrak biji buah salak, analisis senyawa kimia ekstrak aktif biji buah salak dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) serta sebelum melaksanakan uji aktivitas antimikroba pada jamur dan bakteri uji. Pembuatan larutan preaksi mengacu pada prosedur standar yang telah tertulis di masing-masing literatur.

2.2.3. Pembuatan Ekstrak Simplisia

Sebanyak 900 gram serbuk simplisia biji salak di dalam wadah kaca berwarna gelap di maserasi secara bertingkat dengan menggunakan pelarut *n*-heksana, etil asetat dan etanol p.a. Seluruh serbuk sebanyak 900 g tersebut direndam terlebih dahulu dengan pelarut *n*-heksana kemudian ditutup dan disimpan pada suhu kamar dan terlindung dari cahaya matahari langsung. Maserasi dilakukan selama 2 hari kemudian disaring sampai diperoleh maserat. Ampas dimaserasi lagi dengan menggunakan pelarut *n*-heksana yang baru sampai diperoleh hasil maserat

akhir jernih tidak berwarna. Hasil maserasi dikumpulkan kemudian diuapkan di suhu ruangan sampai terbentuk massa kental (11). Lakukan secara berulang langkah diatas pada ampas sisa maserasi *n*-heksana dengan menggunakan pelarut etil asetat dan etanol.

2.2.4. Pembuatan Media

Pembuatan media dilakukan terhadap media yang telah jadi, yaitu *Nutrient Agar* (NA), *Mueller Hinton Broth* (MHB), *Mueller Hinton Agar* (MHA) dan *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) sesuai dengan prosedur pembuatan dan sterilisasi yang tertera pada etiket masing-masing kemasan media.

2.2.5. Pengujian Aktivitas Antijamur dan Antibakteri

Pengujian aktivitas antijamur dan antibakteri terhadap ekstrak *n*-heksana, etil asetat dan etanol biji buah salak menggunakan difusi agar sumur (*well diffusion method*). Sebanyak 10 ml media *mueller hinton agar* (media uji bakteri) dan media *sabouraud dextrose agar* (media uji jamur) dimasukkan kedalam masing-masing cawan petri steril kemudian dihomogenkan tunggu hingga memadat. Media yang telah padat dimasukkan suspensi inokulum bakteri dan jamur uji kedalam cawan petri sebanyak 0,1 ml. Lalu, ditambahkan kembali media sebanyak 25 ml sebagai lapisan kedua dan diletakkan pencadangan logam steril di atas media yang telah di homogenkan sampai media kembali padat. Masing-masing pencadangan logam diangkat sehingga terbentuk lubang sumuran. Sumur yang terbentuk selanjutnya diisi dengan konsentrasi ekstrak uji, blanko positif kloramfenikol untuk bakteri dan nystatin untuk jamur dengan blanko negatif berisi campuran DMSO dan pelarut

ekstrak. Cawan petri ditutup dan ditunggu selama 30 menit agar ekstrak berdifusi ke dalam media lalu dimasukkan kedalam inkubator dengan suhu $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam untuk bakteri dan $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 48 jam untuk jamur.

2.2.6. Analisis Kromatografi Lapis Tipis

Analisis kromatografi lapis tipis pada ekstrak *n*-heksana, etil asetat dan etanol biji salak dilakukan untuk mendapatkan profil golongan senyawa kimia yang terdapat dalam masing-masing ekstrak. Fase diam yang digunakan adalah plat lapis aluminium silika gel GF254 dengan fase gerak *n*-heksana-etil asetat dengan perbandingan 8:2. Penampak noda yang digunakan adalah H_2SO_4 10% dalam metanol, Liebermann-Burchard, FeCl_3 5% dan Dragendorff. Silika gel GF254 dipotong sesuai ukuran dan diberi batas tepi atas dan bawah kemudian ekstrak ditotolkan bentuk pita. Fase diam silika gel GF254 dimasukkan kedalam bejana yang berisi fase gerak jenuh dan ditutup rapat. Proses elusi ditunggu sampai fase gerak membasahi plat silika gel hingga batas atas pengembang yang telah ditentukan. Selanjutnya, masing-masing plat disemprot dengan pereaksi asam sulfat dalam metanol 10% lalu dipanaskan di oven suhu 100°C . Pola kromatogram dicatat dan dihitung harga R_f masing-masing noda yang terbentuk. Hal yang sama dilakukan untuk penyemprotan dengan pereaksi Liebermann- Burchard, FeCl_3 5% dan Dragendorff (12).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Hasil Pengolahan Simplisia Biji Salak.

Buah salak utuh yang matang digunakan sebanyak 70 kg, kemudian diperoleh biji salak segar sebanyak 9 kg, lalu dilakukan pembersihan dan pengeringan di dalam lemari pengering pada

suhu $40\text{-}50^{\circ}\text{C}$ sampai biji salak mengeras dan terbelah. Biji buah salak yang telah kering dipecahkan menjadi pecahan kasar menggunakan lesung, kemudian diserbukkan menggunakan alat penghancur hingga menjadi serbuk simplisia, serbuk simplisia biji salak yang diperoleh sebanyak 4,8 kg. sehingga rendemen simplisia yang didapat adalah 53,33%. Serbuk simplisia yang didapat berwarna coklat muda. Serbuk disimpan dalam wadah plastik yang tertutup rapat. Serbuk disimpan dalam wadah plastik yang tertutup rapat.

3.2. Hasil Perolehan Ekstrak Biji Salak

Hasil ekstraksi dengan metode maserasi bertingkat dari 900 g serbuk simplisia biji salak dengan pelarut *n*-heksana diperoleh ekstrak sebanyak 3,22 g berwarna coklat muda, dengan pelarut etil asetat sebanyak 7,26 g berwarna coklat dan pelarut etanol sebanyak 7,17 g berwarna coklat pekat dengan bau yang khas.

3.3. Hasil Uji Aktivitas Antijamur dan Antibakteri Ekstrak *n*-Heksana Biji Salak.

Penentuan diameter zona hambat pada aktivitas antijamur dan antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi agar sumur. Metode difusi agar sumur dipilih karena metode ini dapat menghasilkan diameter zona hambat yang besar dan terjadi proses osmolaritas dari konsentrasi ekstrak yang tinggi. Jika ekstrak yang diuji memiliki potensi antimikroba maka akan terbentuk bagian jernih di sekitar sumur/lubang. Luas bagian yang jernih tersebut kemudian diukur diameternya menggunakan jangka sorong. Menurut (13) pengukuran aktivitas zona hambat antimikroba diklasifikasikan dalam empat kategori yang sesuai dengan diameter zona hambat yaitu sangat kuat $>20\text{ mm}$, kuat $10\text{-}20\text{ mm}$, sedang $5\text{-}10$

mm dan lemah <5 mm. Diameter hambat tersebut belum dikurangi pencadang logam.

Pada metode sumur, media SDA dimasukan ke dalam petri hingga memadat, suspensi jamur uji disebar di permukaan agar dengan merata kemudian dibuat sumur dengan diameter 6mm, masing-masing lubang diisi dengan konsentrasi ekstrak maka osmolaritas terjadi lebih menyeluruh sehingga konsentrasi ekstrak lebih tinggi untuk menghambat pertumbuhan jamur (14).

Pengujian aktivitas antijamur *n*-Heksana, Etil Asetat dan Etanol biji buah salak terhadap *Candida albicans* dan *Candida albicans* ATCC

Tabel 1. Hasil Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak *n*-Heksana, Etil asetat Dan Etanol Biji Salak Terhadap *Candidaalbicans* dan *Candida albicans* ATCC 14053

Jamur	Ekstrak Tumbuhan Uji	Diameter zona hambat (mm) termasuk diameter pencadang (6 mm)							
		Konsentrasi ekstrak (mg/ml)						Kontrol positif	Kontrol negatif
		100	50	25	12,5	6,25	3,125		
<i>Candida albicans</i>	<i>n</i> -Heksana	18,71	17,45	16,41	11,78	0	0	21,08	0
	Etil asetat	19,41	16,75	15,25	12,91	0	0	21,08	0
	Etanol	20,41	17,75	13,25	12,41	0	0	21,08	0
<i>Candida albicans</i> ATCC 14053	<i>n</i> -Heksana	19,71	19,38	16,55	12,16	10,66	0	22,25	0
	Etil asetat	20,28	18,41	15,81	12	13,25	0	22,25	0
	Etanol	21,51	19,91	18,61	14,83	9,66	0	22,25	0

Sumber : Data Primer, 2022

Keterangan: Hasil rata-rata dari tiga kali perlakuan, Blanko positif = Nistatin 20% untuk jamur, Blanko negative = DMSO: Pelarut masing-masing ekstrak, mm= milimeter, Hasil diameter zona hambat belum dikurangi pencadang logam (d= 6 mm), kecuali untuk untuk konsentrasi 6,25 mg/ml dan Blankonegatif tidak dikurangi pencadang logam.

Berdasarkan data uji aktivitas antijamur ekstrak biji salak pada Tabel 1. menunjukkan hasil diameter hambat yang berbeda pada masing-masing ekstrak. Konsentrasi yang diuji pada penelitian ini yaitu 3.125 mg/ml, 6.25 mg/ml, 12.5 mg/ml, 25 mg/ml, 50 mg/ml, dan 100 mg/ml. Hasil uji ekstrak *n*-heksana, etil asetat dan etanol biji salak terhadap jamur *Candida albicans* dan

14053 pada konsentrasi 100 mg/ml; 50mg/ml; 25mg/ml; 12,5mg/ml; 6,25mg/ml; dan 3,125mg/ml. Blanko positif menggunakan antibiotik Nistatin 20%. Nistatin merupakan antibiotik dengan spektrum luas sehingga dapat menghambat dan membunuh pertumbuhan jamur *Candida albicans*. Mekanisme kerja nistatin dengan merusak membran sel melalui pengikatan diri atau bergabung dengan sterol yang terdapat di dalam membran sel sehingga mengakibatkan kerusakan pada membran sel dan menyebabkan kebocoran isi sitoplasma sehingga dapat menyebabkan kematian sel jamur (15).

Candida albicans ATCC 14053 menunjukkan diameter zona hambat paling tinggi pada konsentrasi 100 mg/ml adalah bakteri *Candida albicans* ATCC 14053 (21,51 mm) mempunyai kategori hambatan yang kuat pada ekstrak etanol. Sedangkan pada konsentrasi paling kecil yaitu 3,125 mg/ml kedua jamur uji tidak menunjukkan adanya diameter zona hambat lagi dan pada jamur

Candida albicans pada konsentrasi 6,25 mg/ml tidak memberikan diameter hambatan tetapi berbanding terbalik pada jamur *Candida albicans* ATCC 14053 masih memberikan zona hambat dengan kategori kuat (13,25 mm) pada ekstrak etil asetat.

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak n-heksana, etil asetat dan etanol biji buah salak terhadap bakteri uji dilakukan pada konsentrasi 100mg/ml; 50mg/ml; 25mg/ml; 12,5mg/ml dan 6,25mg/ml, dimana konsentrasi paling besar adalah 100 mg/ml dan konsentrasi minimum 6,25 mg/ml dimana pada konsentrasi 6,25 mg/ml tidak terbentuk zona hambat disekitar sumur agar. Uji aktivitas antibakteri menggunakan pembandingan yaitu blanko positif dan blanko negatif. Blanko positif menggunakan antibiotik kloramfenikol. Kloramfenikol merupakan antibiotik dengan spektrum luas sehingga dapat menghambat dan membunuh bakteri dari golongan Gram positif dan

Gram negatif. Mekanisme kerja kloramfenikol menghambat sintesis protein bakteri dengan mengikat secara terbalik ke subunit 50S ribosom sehingga menghambat pembentukan ikatan peptida. Kloramfenikol merupakan antibiotik broad- spectrum yang berkhasiat bakteriostatik terhadap gram positif aerob maupun anaerob dan bakteri gram negatif. Sehingga menghambat sintesis protein bakteri dengan mencegah perlekatan aminoasil mentransfer RNA ke situs akseptornya di ribosom, sehingga mencegah pembentukan ikatan peptida oleh peptidil transferase (16). Kontrol negatif berisi dimetil sulfoksida (DMSO) yang digunakan untuk melarutkan ekstrak dan memastikan bahwa pelarut tidak mempengaruhi aktivitas antibakteri dari ekstrak. Perbedaan terbentuknya zona bening bergantung pada metabolit sekunder yang dihasilkan oleh isolat uji (17).

Tabel 2. Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Ekstrak n-Heksana, etil asetat dan etanol Biji Salak terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* *Proteus mirabilis* dan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Bakteri	Ekstrak Tumbuhan Uji	Diameter zona hambat (mm) termasuk diameter pencadang (6 mm)						
		Konsentrasi ekstrak (mg/ml)					Kontrol positif	Kontrol negatif
		100	50	25	12,5	6,25		
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	n-Heksana	22,33	18,16	16,83	10,83	0	30,55	0
	Etil asetat	23,38	18,05	14,05	12,4	0	32,38	0
	Etanol	21,87	21,73	16,27	10,4	0	32,28	0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	n-Heksana	21,9	19,33	14,16	12,06	0	31,17	0
	Etil asetat	18,05	16,20	14,05	12,40	0	30,05	0
	Etanol	20,05	17,38	14,38	12,72	0	27,10	0
<i>Proteus mirabilis</i>	n-Heksana	20,16	17,41	12,44	9,83	0	30,27	0
	Etil asetat	22,05	20,06	14,05	12,4	0	32,71	0
	Etanol	22,75	19,6	14,72	10,22	0	33,05	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	n-Heksana	18,88	13,41	12,81	9,96	0	30,83	0
	Etil asetat	22,06	20,04	17,85	13,11	0	31,25	0
	Etanol	23,73	20,58	17,72	11,8	0	31,05	0

Sumber : Data Primer, 2022

Keterangan:*= hasil rata-rata tiga kali perlakuan, Blanko positif= kloramfenikol 0,16 mg/ml untuk bakteri, Blanko negatif= campuran DMSO dan etanol, mm= milimeter, Hasil diameter zona hambat belum dikurangi

pencadang logam (d= 6 mm), kecuali untuk konsentrasi 6,25 mg/ml dan Blanko negatif tidak dikurangi pencadang logam.

Berdasarkan data uji aktivitas uji bakteri ekstrak biji salak (*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss) pada Tabel 2. menunjukkan masing-masing ekstrak memiliki aktivitas daya hambat pada bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* dan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Ekstrak n-heksana, etil asetat dan etanol dilakukan uji pada konsentrasi 100 mg/ml; 50mg/ml; 25 mg/ml; 12,5 mg/ml dan 6,25 mg/ml, pada konsentrasi paling besar 100

mg/ml zona hambat paling besar terdapat pada bakteri uji *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (23,73 mm) dengan kategori sangat kuat dibanding bakteri uji lainnya. Bakteri yang memiliki diameter zona hambat paling besar pada setiap konsentrasi ekstrak uji adalah bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dan *Escherichia coli* ATCC 25922 pada ekstrak etanol dan etil asetat pada rentang kategori kuat dan sangat kuat.

Tabel 3. Hasil Pengukuran Diameter Hambat Ekstrak n-Heksana dan Etil asetat Biji Salak terhadap bakteri *Dermacoccus nishinomiyaensis*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 dan *Staphylococcus epidermidis*.

Bakteri	Ekstra Tumbuhan Uji	Diameter zona hambat (mm) termasuk diameter pencadang (6 mm)						
		Konsentrasi ekstrak (mg/ml)					Kontrol Positif	Kontrol Negatif
		100	50	25	12,5	6,25		
<i>Dermacoccus nishinomiyaensis</i>	n-Heksana	22,85	21,16	17,85	13,83	0	30,51	0
	Etil asetat	21,16	20,16	14,83	10,83	0	29,94	0
<i>Micrococcus luteus</i>	n-Heksana	23,18	21,16	14,16	13,16	0	32,16	0
	Etil asetat	25,16	22,16	20,16	10,83	0	30,6	0
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	n-Heksana	23,16	20,83	17,83	13,16	0	23,16	0
	Etil asetat	25,83	22,16	18,16	11,16	0	30,11	0
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	n-Heksana	22,13	20,28	17,16	12,83	0	31,52	0
	Etil asetat	24,83	19,50	16,83	12,16	0	29,83	0

Sumber : Data Primer, 2022

Keterangan: *= hasil rata-rata tiga kali perlakuan, Blanko positif= kloramfenikol 0,16 mg/ml untuk bakteri, Blanko negatif= campuran DMSO dan etanol, mm= milimeter, Hasil diameter zona hambat belum dikurangi pencadang logam (d= 6 mm), kecuali untuk untuk konsentrasi 6,25 mg/ml dan Blankonegatif tidak dikurangi pencadang logam.

Berdasarkan data uji aktivitas uji bakteri ekstrak biji salak (*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss) pada Tabel 3. juga menunjukkan adanya aktivitas daya hambat masing-masing ekstrak pada bakteri *Staphylococcus epidermidis*, *Dermacoccus nishinomiyaensis*, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 dan *Micrococcus luteus*. Konsentrasi yang memiliki diameter zona hambat

paling besar adalah ekstrak etil asetat (25,83 mm) dengan kategori daya hambat sangat kuat. Data analisis diameter zona hambat antibakteri pada **Tabel 2** dan **Tabel 3** menunjukkan bahwa kontrol positif dan konsentrasi ekstrak etanol biji salak baik konsentrasi 100 mg/ml, 50 mg/ml, 25 mg/ml, 12,5 mg/ml memberikan aktivitas yang menghambat pertumbuhan bakteri namun pada

konsentrasi 6,25 mg/ml tidak lagi menunjukkan adanya aktivitas antibakteri. Sedangkan pada kontrol negatif menunjukkan tidak adanya diameter zona hambat, yang membuktikan bahwa kontrol negatif yang digunakan tidak memiliki pengaruh terhadap uji antibakteri (18).

Pada data yang diperoleh diatas menunjukkan bahwa ekstrak *n*-Heksana, Etil Asetat dan Etanol biji buah salak dapat menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* dan *Candida albicans* ATCC 14053. Sedangkan perolehan uji aktivitas antibakteri pada bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus epidermidis*, *Dermacoccus nishinomiyaensis*, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 dan *Micrococcus luteu* juga menunjukkan bahwa ekstrak *n*-Heksana, Etil Asetat dan Etanol biji buah salak dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji yang dibuktikan dengan terbentuknya zona bening disekitar sumur agar yang berisi larutan konsentrasi ekstrak uji dengan diperolehnya nilai zona hambat yang berbeda-beda pada masing- masing ekstrak. Dimana semakin tinggi

konsentrasi ekstrak yang digunakan maka diameter zona hambat yang dihasilkan juga berbanding lurus (19). Kandungan senyawa aktif dalam *n*-Heksana, Etil Asetat dan Etanol menyebabkan sel jamur dan bakteri rusak sehingga terjadi penghambatan dan kematian sel jamur dan bakteri uji (2).

3.4. Hasil Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Hasil Analisa kromatografi lapis tipis bertujuan untuk memisahkan senyawa yang terdapat di dalam ekstrak berdasarkan perbedaan kepolaran antara sampel dan eluen yang selanjutnya golongan senyawa dapat diidentifikasi. Fase diam yang digunakan pada penelitian ini adalah plat silika gel GF254 dengan fase gerak *n*-heksana:etil asetat (8:2). Fase gerak ini dipilih karena pada saat dielusi dengan eluen tersebut lempeng menunjukkan noda yang baik (20). Pemisahan dikatakan berhasil, apabila menghasilkan noda yang terbentuk bulat tidak memiliki ekor dan jarak antar noda jelas (21). Pengamatan bercak yang dilakukan yaitu jumlah bercak noda, warna bercak noda dan dihitung nilai *R_f* (*Retardation factor*) pada setiap pengerjaan.

Tabel 4. Hasil Analisis Golongan Senyawa Kimia Ekstrak *n*-Heksana, etil asetat dan etanol Kromatografi Lapis Tipis

	Ekstrak tumbuhan uji	Deteksi Pereaksi Semprot			
		H ₂ SO ₄ 10% dalam Metanol	Liebermann-Burchard	FeCl ₃ 5%	Dragendorff
Fase gerak <i>n</i> -heksana etilasetat(8:2)	<i>n</i> -Heksana	7 noda	(+) Steroid (+) Triterpenoid	(-)	(-)
	Etil asetat	5 noda	(+) Steroid (+) Triterpenoid	(+) Polifenol	(-)
	Etanol	9 noda	(+) Steroid (+) Triterpenoid	(+) Polifenol	(+) Alkaloid

Sumber : Data Primer, 2022

Hasil uji analisis kromatografi lapis tipis dengan fase gerak *n*-heksana:etil asetat (8:2) ekstrak *n*-heksana dengan penyemprotan asam sulfat 10% dalam metanol terdapat 7 noda, etil asetat sebanyak 5 noda dan etanol menghasilkan sebanyak 9 noda yang berarti terdapat golongan senyawa di dalam ekstrak uji. Pada penyemprotan pereaksi Liebermann-Burchard pada ekstrak *n*-heksana biji salak menunjukkan hasil positif triterpenoid (0,25) dan steroid (0,12), ekstrak etil asetat positif triterpenoid (0,23) dan steroid (0,21) serta pada ekstrak etanol menunjukkan positif triterpenoid (0,58) dan steroid (0,41) yang dimana triterpenoid berwarna ungu dan steroid berwarna hijaukebiruan (22). Pereaksi FeCl₃ 5% adalah cara khas untuk mendeteksi senyawa Polifenol ditandai dengan warna biru kehijauan. Setelah penyemprotan dan pemanasan, pada ekstrak *n*-heksana tidak terdapat noda yang menunjukkan bahwa ekstrak *n*-heksana tidak terdapat komponen senyawa Polifenol, ekstrak etil asetat menunjukkan hasil positif polifenol dengan 1 noda (0,81) dan ekstrak etanol dengan 1 noda (0,36) dengan warna biru kehijauan. Senyawa alkaloid ditunjukkan dengan penyemprotan Dragendroff dengan warna coklat atau jingga-coklat. Pada ekstrak *n*-heksana dan etil asetat tidak menunjukkan noda yang berarti yang menandakan tidak adanya senyawa alkaloid. Ekstrak etanol sendiri memiliki 1 noda (0,87) yang menunjukkan ekstrak etanol positif senyawa alkaloid dengan warna jingga (23).

4. KESIMPULAN

Hasil uji aktivitas ekstrak *n*-heksana, etil asetat dan etanol biji salak (*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss) memiliki aktivitas antimikroba yang ditunjukkan dengan adanya zona bening

disekitar larutan ekstrak uji dengan nilai konsentrasi minimum diameter zonaambat sebesar 3,125 mg/ml untuk jamur dan 6,25 mg/ml. Hasil analisis kromatografi lapis tipis menunjukkan biji buah salak memiliki golongan senyawa metabolit sekunder berupa senyawa alkaloid, polifenol, steroid dan triterpenoid.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu dalam penelitian ini sehingga dapat terlaksana dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

1. Alghamdi S. Saudi Journal Of Biological Sciences The Role Of Vaccines In Combating Antimicrobial Resistance (Amr) Bacteria. Saudi J Biol Sci. 2021;28(12):7505–10.
2. Rachmawati, D. P., Rabbani, K., Rumidatul, A., Fadhila, F., & Maryana Y. Pengujian Aktivitas Antimikroba Ekstrak Kulit dan Kayu Ranting Sengon (*Falcataria Moluccana*) Dengan Pelarut N-Heksana, Etil Asetat Dan Metanol Terhadap Enterobacteriaceae, *Staphylococcus Aureus* dan *Candida albicans*. J Media Anal Kesehat. 2020;11(2):70–82.
3. Butler, M. S., Blaskovich, M. A., Cooper MA. Antibiotics In The Clinical Pipeline At The End Of 2015. J Antibiot (Tokyo). 2017;70(1):3–24.
4. Anggraeni YD, Mumpuni WD, Sutanto G, Wijayanti R. Halal Cosmeceutical : Kuteks Wudlu Friendly Dan Terapi Dermatomikosis Dari Ekstrak Pacar Air. 2014;14(2).
5. Chairunnisa, S., Setyawati, T. & N.

- Inhibition of betel leaf extract (*Piper betle* Linn) against *Candida albicans*. *Med Tadulako J Ilm Kedokt Fak Kedokt Dan Ilmu Kesehat*. 2015;2(3):25–33.
6. Herdianty J. Antibacterial Power of Salak Seed Extract (*Salacca zalacca* variety *zalacca* (Gaert.) Voss) against *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli*. *Str J Pharm*. 2019;1(2):268–273.
 7. Horino, T., & Hori S. Metastatic Infection During *Staphylococcus Aureus* Bacteremia. *J Infect Chemother*. 2019;26(2):162–9.
 8. Setiyabudi, L., Herdiana, I., & Hilmi W. Profil Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Salak Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Salmonella Typhi*. *J Ilm JOPHUS J Pharm UMUS*. 2021;2(2):41–9.
 9. Zaed AS. Pengaruh Perbedaan Sumber Polen Dan Varietas Salak (*Salacca zalacca* Gaertner Voss.) Terhadap Kualitas Buah. *Agrovigor*. 2015;8(1):51–7.
 10. Khasanah N. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Dan Fraksi Biji Salak Pondoh (*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss.) Dengan Menggunakan Metode DPPH. *Skripsi Fak Mat Dan Ilmu Pengetah Alam Univ Islam Indones*. 2016;
 11. Supomo, Supriningrum, R., Junaid R. Karakterisasi Dan Skrining Fitokimia Daun Kerehau (*Callicarpa longifolia* Lamk). *J Kim Mulawarman*. 2016;13(2):89–96.
 12. Budiman, H., Rahmawati, F., & Sanjaya F. Isolasi dan Identifikasi Alkaloid pada Biji Kopi Robusta (*Coffea robusta* Lind. Ex De Will) dengan Cara Kromatografi Lapis Tipis. *CERATA J Ilmu Farm (Journal Pharm Sci)*. 2014;1(1):54–64.
 13. Ouchari, L., Boukeskase, A., Bouizgarne, B., & Ouhdouch Y. Antimicrobial Potential Of Actinomycetes Isolated From The Unexplored Hot Merzouga Desert and Their Taxonomic Diversity. *Co Biol*. 2019;8(2).
 14. Evi, M., Alimuddin, A. H., & Destiarti L. Pemanfaatan Ekstrak Landak Laut (*Diadema setosum*) Dari Pulau Lemuk Kuatan Sebagai Anti Jmaur *Candida Albicans*. *Jkk*. 2015;4(4):61–5.
 15. Astutiningsih, C., Octaviani, R., & Suratimingsih S. Daya hambat minyak atsiri dan ekstrak limbah sisa desilasi rimpang kunir putih (*Kaempferia rotunda* L.) terhadap pertumbuhan *Candida albicans* ATCC 10231. *J Farm Sains Dan Komunitas*. 2014;11(1):18–22.
 16. Ibrahim R. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi n-Heksana Kulit Buah *Citrus reticulata* Terhadap Bakteri *Escherichia coli* Dengan Metode Difusi Cakram. *Skripsi Fak Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Malang*. 2018;
 17. Komala, O., & Siwi FR. Aktivitas Antijamur Ekstrak Etanol 50% Dan Etanol 96% Daun Pacar Kuku *Lawsonia inermis* L terhadap *Trichophyton mentagrophytes*. *Ekol J Ilm Ilmu Dasar dan Lingkung Hidup*. 2020;19(1):12–9.
 18. Rastina, Sudarwanto, M., & Wientarsih I. Antibacterial Activity of Ethanol Extract of Curry Leaf (*Murraya koenigii*) on *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, and *Pseudomonas Sp*. *J Kedokt Hewan*.

2015;9(2):185–188.

19. Wardania, A. K., Malfadinata, S., & Fitriana Y. Uji Aktivitas Antibakteri Penyebab Jerawat *Staphylococcus epidermidis* Menggunakan Ekstrak Daun Ashitaba (*Angelica keiskei*). *Lumbung Farm J Ilmu Kefarmasian*. 2020;1(14–19).
20. Lero DP. Optipasi Metode Analisis Kromatografi Lapis Tipis Densitometri Pada Penetapan Kadar 1,8- Sineol Dalam Minyak Kayu Putih. Skripsi Fak Farm Sanata Darma. 2021;
21. Zirconia, A., Kurniasih, N., Amalia V. Identifikasi Senyawa Flavonoid Dari Daun Kembang Bulan (*Tithonia diversifolia*) Dengan Metode Pereaksi Geser. *Al Kim*. 2015;2(1):9–18.
22. Mierza, V., Haro, G., & Suryanto D. Influence of variation extraction methods (classical procedure) for antibacterial activity of Rarugadong (*Dioscorea pyrifolia* Kunth.) tuber. *J Innov Appl Pharm Sci*. 2019;4(1):1–6.
23. Al Bara, B., Rivianto, F. A., Nurlaela, N., & Sulastri S. Isolasi Senyawa Alkaloid Bahan Alam. *J Heal Sains*. 2021;2(7):858–70.