

AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAN FRAKSI UMBI LOBAK PUTIH (*Raphanus Sativus L.*) TERHADAP BAKTERI *STAPHYLACOCOCCUS AUREUS* SECARA IN VITRO

Nadian Jelita Putri^{1*}, Dwintha Lestari², Anis Puji Rahayu³, Titian Daru Asmara Tugon⁴, Fauzia Ningrum Syaputri⁵

¹⁻⁵Program Studi Farmasi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Muhammadiyah Bandung
Email: nadianjelita99@gmail.com

ABSTRAK

Umbi lobak putih (*Raphanus sativus L.*) merupakan salah satu bahan alam yang memiliki senyawa aktif yang dapat berpotensi sebagai antibakteri. Pertumbuhan bakteri patogen yang berlebihan dapat mengakibatkan penyakit berupa infeksi pada tubuh. Dampak negatif dari pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan infeksi kulit dan saluran pernapasan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri, KHM dan KBM ekstrak etanol dan fraksi umbi lobak putih terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan fraksi umbi lobak putih diujikan menggunakan metode difusi cakram, Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) ditentukan dengan metode dilusi padat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol dan fraksi umbi lobak putih dapat menghambat pertumbuhan bakteri lemah pada konsentrasi 40 mg/mL dengan diameter hambatan 9,25 mm pada ekstrak etanol umbi lobak putih, 7,5 mm pada fraksi air, 8,5 mm pada fraksi etil asetat dan tidak terdapat daya hambat pada fraksi n-Heksan. Berdasarkan pengujian KHM dan KBM pada ekstrak etanol umbi lobak putih tidak terdapat nilai KHM dan KBM begitupun dengan fraksi air dan fraksi n-Heksan. Adapun pada fraksi etil asetat terdapat KHM pada konsentrasi 10 mg/mL dan KBM pada konsentrasi 20 mg/mL.

Kata Kunci: Umbi Lobak Putih, *Staphylococcus aureus*, Fraksi, dan Makrodilusi Padat.

ABSTRACT

The white radish (Raphanus sativus L.) is one of the natural ingredients that possesses active compounds potentially serving as antibacterial agents. Excessive growth of pathogenic bacteria can result in diseases such as bodily infections. The adverse effects of Staphylococcus aureus bacteria proliferation can lead to skin infections and respiratory tract infections. This study aims to determine the antibacterial activity, Minimum Inhibitory Concentration (MIC), and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) of ethanol extracts and fractions derived from white radish roots against Staphylococcus aureus bacteria. The antibacterial activity of ethanol extract and fractions of white radish tuber was tested using the disc diffusion method. The Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) were determined using the solid dilution method. The research results indicate that ethanol extract and fractions of white radish tuber can inhibit the growth of weak bacteria at a concentration of 40 mg/mL. The inhibition diameters observed were 9.25 mm for the ethanol extract of white radish tuber, 7.5 mm for the water fraction, 8.5 mm for the ethyl acetate fraction, and no inhibitory effect was observed for the n-Hexane fraction. Based on the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) testing of the ethanol extract of white radish tuber, there were no discernible MIC and MBC values, and the same applies to the water fraction and n-Hexane fraction. However, for the ethyl acetate fraction, the MIC was observed at a concentration of 10 mg/mL, while the MBC was noted at a concentration of 20 mg/mL.

Keywords: Fraction, Solid Macrodilution, *Staphylococcus aureus* and White Radish Tubers.

LATAR BELAKANG

Infeksi adalah salah satu penyebab utama penyakit di dunia tak terkecuali di negara berkembang seperti Indonesia (Zeniusa, Ramadhian, Nasution, & Karima, 2019). Setiap tahunnya dilaporkan Sembilan juta orang meninggal karena penyakit infeksi (WHO, 2018). Infeksi dapat disebabkan oleh bakteri. Bakteri yang paling sering menyebabkan infeksi adalah *Staphylococcus aureus*. Infeksi *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu penyebab meningkatnya jumlah penyakit dan kematian. Pada hidung dan kulit manusia, terdapat bakteri yang berkolonisasi sehingga dapat menyebabkan beberapa penyakit seperti infeksi kulit, endokarditis, bakteremia, pneumonia, osteomyelitis, sepsis dan toxic shock syndrome (Rahmadani, Budiyo, & Suhartono, 2017).

Studi epidemiologi menunjukkan bahwa infeksi akibat *Staphylococcus aureus* di dunia meningkat pada dua dekade terakhir. Data di Amerika Serikat dan Eropa menunjukkan bahwa *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri patogen tersering penyebab infeksi dengan prevalensi 18-30%, sedangkan di wilayah Asia *Staphylococcus aureus* memiliki angka kejadian infeksi yang hampir sama banyak (Mehraj J, 2014).

Staphylococcus aureus merupakan bakteri komensial dan patogen pada manusia. sekitar 30% dari populasi manusia dikolonisasi oleh *Staphylococcus aureus*, umumnya bakteri ini terdapat pada kulit, saluran pernapasan dan saluran pencernaan tanpa menyebabkan masalah kesehatan. Bakteri ini menyebabkan infeksi pada kulit seperti luka yang ditandai dengan peradangan dan pembentukan abses terjadi nekrosis pada jaringan luka (Paju, Yamlean, & Kojong, 2013). Antibiotik yang tepat dapat membunuh bakteri *Staphylococcus aureus*, tetapi resistensi bakteri ini terhadap beberapa antibiotik memaksa manusia untuk mencari alternatif antibiotik. Adapun tanaman yang dapat digunakan sebagai alternatif antibiotik salah satunya yaitu umbi lobak putih (*Raphanus sativus* L.).

Masyarakat Indonesia sudah mengenal dan memanfaatkan tumbuhan obat sebagai media penyembuhan yang sangat efektif. Hal ini karena ketersediaannya yang mudah ditemukan, ekonomis dan efek sampingnya yang relatif rendah sehingga banyak digunakan oleh masyarakat di era negara berkembang sekarang ini. Salah satu tumbuhan yang dapat dimanfaatkan oleh masyarakat untuk mengobati penyakit adalah umbi lobak putih (*Raphanus sativus* L.).

Secara tradisional umbi lobak putih (*Raphanus sativus* L.) tidak memiliki lemak atau kolestrol dan rendah kalori, sehingga bermanfaat untuk mengurangi nyeri sendi dan arthritis (radang sendi), penyakit jantung, stroke, tekanan darah tinggi, dan gangguan pernapasan. Umbi lobak putih mengandung vitamin dan antibiotik yang tinggi dan dapat digunakan untuk berbagai keperluan dalam kehidupan sehari-hari. Umbi lobak putih kaya akan serat, vitamin C, folat, dan kalium, serta riboflavin. Vitamin B6, kalsium, dan magnesium (Rasyid, 2015).

Kandungan kimia yang terdapat pada umbi lobak putih (*Raphanus sativus* L.) yaitu saponin dan flavonoid yang merupakan kelompok utama bahan kimia yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Dilihat dari kandungan kimianya, umbi Lobak Putih (*Raphanus sativus* L.) mempunyai potensi untuk membunuh bakteri patogen penyebab infeksi yang masih menempati urutan teratas penyebab kesakitan dan kematian di negara berkembang, termasuk Indonesia. Oleh karena itu, umbi lobak putih (*Raphanus sativus* L.) selalu digunakan sebagai antibiotik alami, agen inti inflamasi pada kulit, dan sebagai penghambat kuat aktivitas bakteri gram positif dan gram negatif. Meskipun demikian, perlu dilakukan pengujian secara ilmiah, sehingga diharapkan bisa menjadi solusi untuk mengobati berbagai penyakit yang disebabkan oleh bakteri patogen seperti *Staphylococcus aureus* yang merupakan penyebab umum terjadinya infeksi kulit (Singh, 2013).

Berdasarkan latar belakang di atas serta penelitian yang telah dilakukan, maka peneliti memiliki ketertarikan dalam melakukan penelitian menggunakan umbi lobak putih (*Raphanus sativus* L.) yang memiliki banyak kandungan senyawa kimia dengan judul “Aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan fraksi umbi lobak putih (*Raphanus sativus* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara in vitro”. Metode pengujian yang dilakukan dalam penelitian ini yaitu menggunakan metode difusi cakram dengan konsentrasi 20 mg/mL, 40 mg/mL, 60 mg/mL, dan 80 mg/mL dan 100 mg/mL. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan aktivitas ekstrak umbi lobak putih (*Raphanus sativus* L.) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Oleh karena itu melalui penelitian ini diharapkan dapat memberikan bukti ilmiah terkait penggunaan umbi lobak putih yang berpotensi dalam pengembangan obat antibakteri.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian *Quasy Eksperimen* Laboratorium. Lokasi penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Muhammadiyah Bandung. Populasi dari penelitian ini yaitu umbi lobak putih (*Raphanus sativus* L.) yang diperoleh dari daerah Kampong Kebon Awi, Desa Cigugur Girang Parongpong, Kabupaten Bandung Barat. Proses preparasi sampel meliputi pencucian, pengeringan, dan penghalusan. Pengeringan sampel umbi lobak putih (*Raphanus sativus* L.) dilakukan dengan menggunakan cara kering jemur. Variasi konsentrasi yang diujikan 20 mg/mL, 40 mg/mL, 60 mg/mL, dan 80 mg/mL dan 100 mg/mL. Data hasil penelitian dianalisa dengan menggunakan uji univariant, dengan melihat zona hambat pertumbuhan bakteri dari masing-masing konsentrasi ekstrak etanol dan fraksi umbi lobak putih.

Alat dan Bahan

Corong pisah 250 mL (Pyrex), batang pengaduk, botol vial 20 mL, beaker glass, cawan petri, gunting, incubator (Jenaco®), jangka sorong, kapas, korek api, labu erlenmeyer, lemari pendingin, mikropipet volume 1 µl – 10 µl, mikropipet volume 10 µL – 100 µL (Socorex), mikropipet volume 10 µL – 1000 µL (Socorex), mikroplate, neraca analitik, ose, oven (Mettler 200 dan Mettler 400-800), paper disc, pembakar bunsen, penangas air, pinset, pipet, rotary evaporator (BIBBY RE 200B dan IKA® RV10 Basic), spatel, spektrofotometri UV, tabung reaksi, tip mikropipet, vortex mixer (Health® HVM-300) dan water bath (SMIC Thermostatic Water Bath).

Umbi lobak putih, etanol 96%, media Mueller Hinton Agar (MHA), MHA, media Nutrient Broth (NB), antibiotik kloramfenikol, DMSO 10%, akuades, alkohol 70%, aluminium foil, biakan murni *Staphylococcus aureus*, ammonia, kloramfenikol, reagen mayer, reagen dragendorff, reagen wagner, pereaksi Lieberman burchard, serbuk magnesium, larutan besi (III) klorida, asam klorida 2 N, metanol, kloroform.

Prosedur Kerja

A. Ekstraksi

Ekstraksi sampel dilakukan dengan cara maserasi. Sampel sebanyak 100 gram direndam dengan 1 liter etanol 96% di dalam botol gelap selama 3 hari sambil diaduk sesekali dan disimpan pada tempat yang terlindung dari cahaya. Kemudian dilakukan penyaringan dan ampasnya dimaserasi kembali selama 3 hari (Indarto, Narulita, Anggoro, & Aulia, 2019) Hasil maserasi yaitu maserat dipekatkan menggunakan alat rotary evaporator sampai diperoleh ekstrak kental umbi lobak putih.

B. Skrinning Fitokimia

1. Alkaloid

Sebanyak 1 mg ekstrak etanol umbi lobak putih dimasukkan ke dalam 3 tabung reaksi, kemudian ditambahkan kloroform sebanyak 5 tetes pada masing-masing tabung reaksi. Tabung 1 ditambahkan pereaksi Mayer dan jika terbentuk endapan warna putih maka positif. Tabung 2 ditambahkan pereaksi Dragendorff, jika positif maka akan terbentuk endapan jingga, kemudian tabung 3 ditambahkan pereaksi Wagner dan terbentuknya endapan coklat menunjukkan positif (Santoso, Sudarsono, Nugroho, & Murti, 2017).

2. Flavonoid

Sebanyak 1 mg ekstrak etanol umbi lobak putih ditempatkan pada plat tetes, lalu dimasukkan 10 tetes metanol, diaduk menggunakan spatula sampai larut. Selanjutnya ditambahkan 6 potongan pita magnesium dan 4 tetes HCl pekat ke dalam campuran. Timbulnya warna kuning, biru, jingga maupun merah menunjukkan hasil positif.

3. Tanin

Sebanyak 1 mg ekstrak etanol umbi lobak putih dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 3 tetes FeCl₃ 1% ke dalam tabung reaksi. Hasil positif dapat dilihat berdasarkan terbentuknya warna pada sampel yaitu biru tua dan hitam kehijauan (Anggraeni, Fasya, Abidin, & Hanapi, 2014).

4. Saponin

Sebanyak 1 mg ekstrak etanol umbi lobak putih diletakkan pada tabung reaksi, lalu ditambahkan 5 mL aquades dan digoyang selama 1 menit. Jika terbentuk buih, ditambahkan 4 tetes larutan HCl 1 M. Jika tidak ada buih, dilanjutkan pemanasan ± 3 menit. Kemudian dibiarkan dingin lalu dikocok kuat-kuat. Terbentuknya buih stabil dalam waktu ± 10 menit menandakan terdapat senyawa saponin dalam sampel.

5. Terpenoid dan Steroid

Sebanyak 1 mg ekstrak etanol umbi lobak putih ditambahkan asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat. Uji positif menunjukkan golongan senyawa terpenoid dengan terbentuknya warna merah keunguan dan warna biru, untuk steroid berwarna hijau.

C. Fraksinasi

Fraksinasi ekstrak umbi lobak putih dengan metode corong pisah. Ekstrak kental diencerkan terlebih dahulu menggunakan etanol 96% sebanyak 20 mL dan diaduk sampai homogen, kemudian ad aquades 100 mL, selanjutnya dimasukan kedalam corong pisah, di tambahkan pelarut heksana sebanyak 100 mL, kemudian di homogenkan dan didiamkan sampai terlihat batas pisah antara kedua pelarut tersebut. Setelah terpisah fraksi heksana dan fraksi air di keluarkan dari corong pisah. Sisa fraksi air di tambah etil asetat 100 mL, kemudian di homogenkan dan didiamkan sampai terlihat batas pisah antara kedua pelarut tersebut, setelah setelah terpisah fraksi etil asetat dan fraksi aquades di keluarkan dari corong pisah. Hasil fraksinasi dari masing-masing pelarut di pekatkan menggunakan

rotary evaporator pada suhu 40°C hingga pelarut hampir teruapkan semua. Fraksi kental yang di peroleh kemudian dikeringkan menggunakan waterbath kemudian dihitung rendemen masing-masing fraksi pekat (Keumala, Sukmiwati, & Diharmi, 2021).

D. Penentuan Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode Kertas Cakram

Kultur bakteri *Staphylococcus aureus* diambil sebanyak 20 µL lalu dituangkan ke dalam media MHA dan dihomogenkan, kemudian didiamkan selama 15-20 menit agar bakteri terserap seluruhnya ke dalam media. Selanjutnya kertas cakram diambil secara aseptis menggunakan pinset yang telah disterilkan. Kertas cakram tersebut dicelupkan selama 1 jam ke dalam masing-masing variasi konsentrasi ekstrak umbi lobak putih dan kontrol positif, kemudian diletakkan pada media yang berisi bakteri uji. Variasi konsentrasi ekstrak umbi lobak putih yang digunakan yaitu 20 mg/mL, 40 mg/mL, 60 mg/mL, 80 mg/mL, 100 mg/mL dan kloramfenikol sebagai kontrol positif. Media diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. setelah media diinkubasi selama 24 jam maka zona bening yang terbentuk diamati pertumbuhannya.

E. Penentuan Niali KHM dan KBM

Metode yang digunakan untuk menilai KHM dan KBM ekstrak etanol dan fraksi umbi lobak putih yaitu metode makrodilusi. Pertama, disiapkan larutan pengenceran ekstrak dan fraksi dengan konsentrasi 2 mg/mL, 4 mg/mL, 6 mg/mL, 8 mg/mL, 10 mg/mL, 20 mg/mL, 30 mg/mL dan 40 mg/mL. Microplate terdiri dari 6 kolom dan 4 baris dengan total keseluruhan terdapat 24 well / sumuran. Kemudian sebanyak 50 µL tiap konsentrasi yang telah diencerkan dimasukkan pada kolom. Media MHA yang masih cair ditambahkan ke dalam well yang telah berisi konsentrasi ekstrak dan fraksi sebanyak 950 µL, lalu dihomogenkan. Agar dibiarkan memadat selama 30 menit pada suhu ruang. Setelah campuran zat aktif dan media MHA memadat, sebanyak 3 µL suspensi bakteri 10⁷ CFU/mL dan diinokulasikan pada masing-masing media agar padat dengan cara menyentuhkan ujung tip pada permukaan media MHA padat. Diamkan selama 15 menit, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 18 jam (Golus, Sawicki, Widelski, & Ginalska, 2016).

Kemudian, pada microplate diamati dan diindikasikan dengan adanya kekeruhan dan endapan pada dasar tabung mikrodilusi. Nilai KHM ditentukan pada hari pertama setelah inkubasi dan nilai KBM pada hari kedua inkubasi. KHM dapat diduga berada konsentrasi yang menghambat pertumbuhan bakteri sedangkan KBM adalah konsentrasi terendah pada larutan ekstrak dan fraksi umbi lobak putih yang tidak terdapat endapan sama sekali. KHM ditentukan berdasarkan konsentrasi terkecil dari setiap ekstrak yang dapat menghambat 90% pertumbuhan bakteri uji, sedangkan KBM adalah konsentrasi terendah pada larutan ekstrak umbi lobak putih yang seluruh bakteri dalam kultur terbunuh (99%). (CLSI, 2020).

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Ekstraksi

Ekstraksi umbi lobak putih dilakukan dengan menggunakan metode maserasi. Filtrasi dibuat menggunakan metode maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Pemilihan pelarut yang akan digunakan harus diperhatikan sifat kandungan kimia (metabolit sekunder) yang akan diekstraksi. Pelarut etanol 96% dipilih karena mempunyai gugus polar sekaligus gugus nonpolar sehingga dapat melarutkan senyawa-senyawa kimia yang bersifat polar, nonpolar maupun semipolar (Adibi, 2017). Selain itu, pelarut etanol 96% juga memiliki kadar air rendah,

dapat mencegah pertumbuhan jamur yang akan mengganggu proses maserasi (Susanti & Ningsih, 2016) Adapun dari 100 gram serbuk umbi lobak putih dalam 1 L etanol 96% dihasilkan 40,59 gram ekstrak kental umbi lobak putih.



Gambar 1. Ekstrak Etanol Umbi Lobak Putih

B. Skrining Fitokimia

Pengujian skrining fitokimia bertujuan untuk memberi gambaran awal mengenai kandungan golongan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak maupun fraksi. Kandungan metabolit sekunder ekstrak etanol umbi lobak putih dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Umbi Lobak Putih

Golongan Senyawa	Hasil uji
Alkaloid	+
Flavonoid	+
Saponin	+
Tanin	+
Steroid & Triterponoid	-

C. Fraksinasi

Fraksinasi ekstrak etanol umbi lobak putih pada penelitian ini menggunakan metode ekstraksi cair-cair dengan corong pisah. Prinsip pemisahan pada proses fraksinasi menggunakan corong pisah yaitu didasarkan oleh perbedaan massa jenis kedua fraksi serta adanya perbedaan tingkat kepolaran. Fraksi yang mempunyai massa jenis lebih kecil akan berada pada fase atas dan fraksi yang mempunyai massa jenis lebih besar terdapat pada fase bawah (Budilaksono, Wahdaningsih, & Fahrurroji, 2014).

Berdasarkan persen rendemen yang dihasilkan, fraksi dengan hasil rendemen terbesar dibanding dengan pelarut lain adalah fraksi air yaitu 48,67%. Menurut Kant, Shukla, & Shukla (2018), tingginya rendemen fraksi air dari sampel buah kemungkinan disebabkan karena adanya beberapa senyawa dengan berat molekul tinggi yang larut air seperti jenis gula, glikosida, karbohidrat, dan komponen fenol yang strukturnya kompleks. Fraksi kental yang didapatkan dapat dilihat pada gambar 2.

Tabel 2. Hasil Rendemen Fraksi Umbi Lobak Putih

Fraksi	Berat ekstrak	Berat fraksi	Rendemen (%)
Air	50 gram	24,3351	48,67%
n-Heksan	50 gram	0,7017	2,017%
Etil asetat	50 gram	1,2508	2,5016%



Gambar 2. Fraksi Kental Umbi Lobak Putih

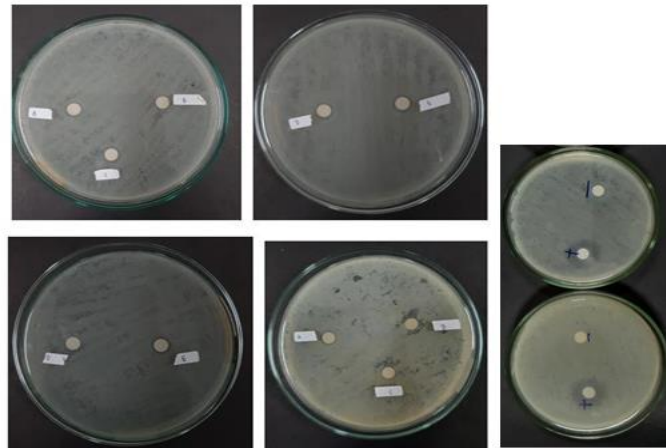
D. Uji Aktivitas Antibakteri

Aktivitas antibakteri adalah senyawa aktif atau bahan yang dapat membunuh atau menghambat aktivitas bakteri. Senyawa aktif yang dapat menghambat aktivitas antibakteri terdiri dari beberapa kelompok, salah satunya yaitu senyawa Flavonoid. Senyawa tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan Gram negatif selain itu juga sebagai antijamur (Memar *et al.*, 2017).

Digunakan antibiotik kloramfenikol sebagai pembanding antibiotik yang merupakan antibiotik spektrum luas yaitu dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan gram negatif. Selain itu, penggunaan kloramfenikol sebagai kontrol positif karena sifatnya yang stabil dan dapat berdifusi dengan baik pada media pertumbuhan sehingga zona hambat yang terbentuk akan lebih jelas untuk diamati (Ardhuha, 2010). Konsentrasi kloramfenikol yang digunakan sebagai pembanding antibiotik adalah 30 $\mu\text{g/mL}$. Adapun konsentrasi bakteri uji yang digunakan sebesar 1×10^8 yang disesuaikan dengan larutan standar 0,5 McFarland yang diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 625 nm. Hasil pengujian antibakteri ekstrak etanol umbi lobak putih dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Umbi Lobak Putih

Bakteri	Konsentrasi (mg/mL)	Pengulangan 2 kali	Interpretasi Daya Hambat
		Rerata Zona Hambat (mm)	
<i>Staphylococcus Aureus</i>	100	6,76	Lemah
	80	6,75	Lemah
	60	7,25	Lemah
	40	9,25	Lemah
	20	9	Lemah
	Kontrol kloramfenikol	17,5	Sedang
Kontrol DMSO	0	-	

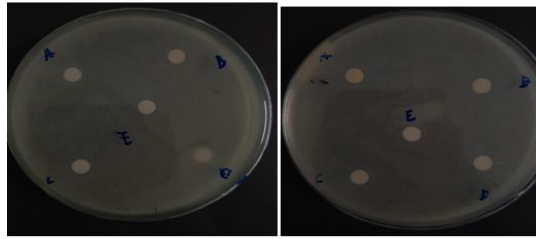


Gambar 3. Aktivitas Antibakteri Duplo Ekstrak Etanol Umbi Lobak Putih

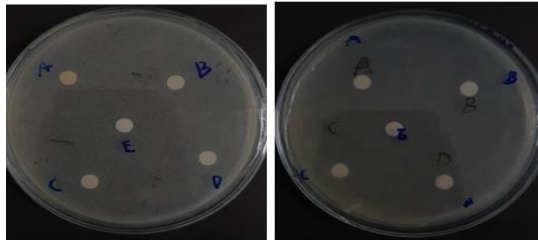
Hasil rendemen fraksi yang didapat pada Tabel 2 dilakukan pengujian aktivitas antibakteri dengan metode Kirby baure dan didapatkan daya hambat paling besar yaitu fraksi etil asetat. Hasil pengujian antibakteri fraksi umbi lobak putih dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Uji Aktivitas Fraksi Umbi Lobak Putih

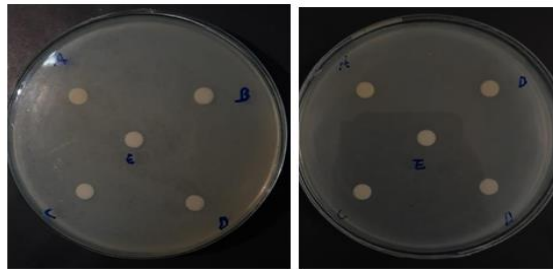
Fraksi Uji	Konsentrasi (mg/mL)	Diameter Daya Hambat (mm)		Rata-rata Zona Hambat (mm)	Intepretasi Daya Hambat
		I	II		
Air	100	0	6	3	Lemah
	80	6	0	3	Lemah
	60	7	6	6,5	Lemah
	40	9	6	7,5	Lemah
	20	8	7	7,5	Lemah
n-Heksan	100	0	0	0	-
	80	0	0		
	60	0	0		
	40	0	0		
	20	0	0		
Etil asetat	100	8	6	7	Lemah
	80	7	7	7	Lemah
	60	8	7	7,5	Lemah
	40	8	9	8,5	Lemah
	20	8	8	8	Lemah



Gambar 4. Hasil Aktivitas Antibakteri Fraksi Air Umbi Lobak Putih



Gambar 5. Hasil Aktivitas Antibakteri Fraksi n-Heksan Umbi Lobak Putih



Gambar 6. Hasil Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat Umbi Lobak Putih

Keterangan :

Interpretasi Daya Hambat (CLSI, 2020),

≤ 14 mm : Lemah

15-19 mm : Sedang

≥ 20 mm : Sangat Kuat

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol dan fraksi umbi lobak putih mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, namun kekuatan daya hambatnya lebih rendah dibandingkan dengan antibiotik kloramfenikol. Zona hambat yang dibentuk oleh ekstrak terjadi akibat kandungan senyawa aktif yang dimiliki ekstrak etanol dan fraksi umbi lobak putih dapat bekerja dalam menghambat pertumbuhan bakteri (Nweze & Nwafor, 2014).

Rendahnya kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji pada ekstrak etanol umbi lobak putih jika dibandingkan dengan Kloramfenikol sebagai sediaan antibiotik komersial, diduga terkait dengan tingkat purifikasi yang masih rendah pada ekstrak. Hal ini mengakibatkan senyawa aktif memiliki konsentrasi yang lebih kecil dari sediaan komersial untuk kadar yang sama. Selain itu bakteri *Staphylococcus aureus* mempunyai susunan dinding sel dengan lapisan peptidoglikan tebal sebagai bakteri gram positif dapat menyebabkan ekstrak etanol umbi lobak putih lebih sulit menembus dinding sel bakteri dibanding dengan bakteri gram negatif yang memiliki lapisan peptidoglikan lebih tipis (Ulul *et al.*, 2020).

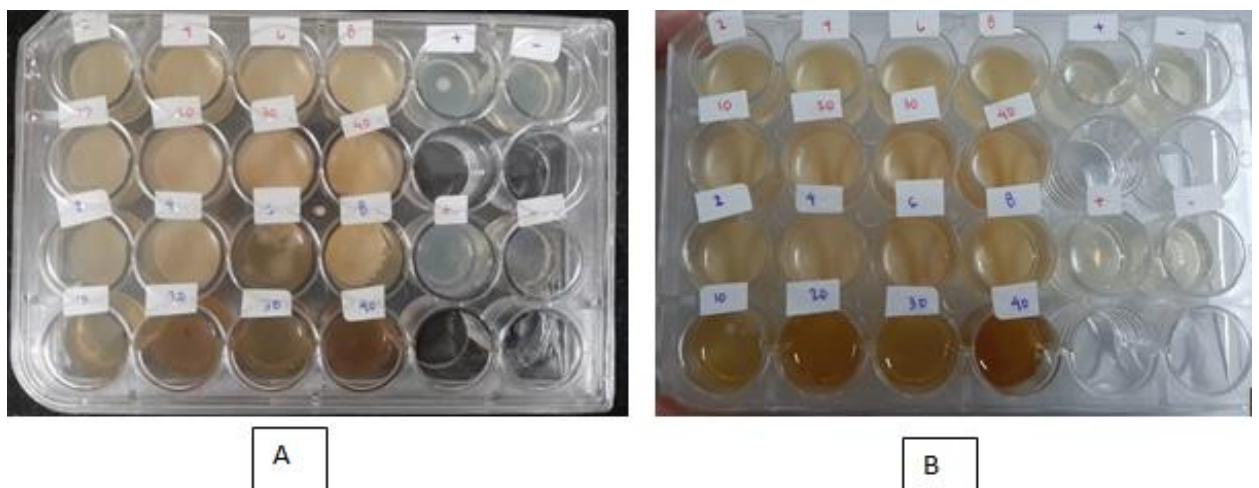
Keefektifitasan kerja dan penyerapan berbagai senyawa antibakteri yang terkandung dalam umbi lobak putih juga tidak terlepas dengan larutan ekstrak yang digunakan. Ekstrak etanol umbi lobak putih memiliki senyawa aktif yang bersifat polar dimana akan lebih mudah dilarutkan oleh senyawa polar seperti pelarut DMSO. Pelarut DMSO mempunyai kadar kepolaran yang

tinggi dibandingkan pelarut air, sehingga lebih mudah untuk menarik senyawa bioaktif sekunder yang terkandung pada umbi lobak putih (Vinoth, Manivasagaperumal, & Balamurugan, 2012).

E. Uji KHM dan KBM

Pada penelitian ini Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dilakukan menggunakan metode mikrodilusi padat pada konsentrasi 2 mg/mL, 4 mg/mL, 6 mg/mL, 8 mg/mL, 10 mg/mL, 20 mg/mL, 30 mg/mL dan 40 mg/mL, serta DMSO sebagai kontrol negatif dan kloramfenikol sebagai kontrol positif yang diujikan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) adalah konsentrasi terendah dari agen antimikroba yang dapat mencegah pertumbuhan mikroorganisme yang terlihat dalam uji mikrodilusi padat sedangkan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) adalah konsentrasi terendah pada larutan ekstrak etanol dan fraksi umbi lobak putih dimana seluruh bakteri dalam kultur terbunuh (CLSI, 2012).

Pemilihan metode mikrodilusi padat dalam penentuan KHM dan KBM terkait kelarutan sampel ekstrak yang digunakan tidak secara sempurna terlarut dalam pelarut, sehingga tidak memungkinkan jika menggunakan metode mikrodilusi cair yang penentuannya berdasarkan kekeruhan secara visual pada well yang diduga sebagai pertumbuhan bakteri. Ekstrak yang tidak larut memungkinkan memberikan kekeruhan visual palsu, sehingga dapat mempengaruhi hasil pengamatan. Sedangkan pada mikrodilusi padat, prinsip penentuan KHM dilihat dari well yang tidak terdapat pertumbuhan bakteri sama sekali pada inkubasi hari pertama, dan penentuan KBM dilihat dari konsentrasi minimum pada well yang tetap jernih tidak ada pertumbuhan bakteri pada inkubasi hari kedua. Prinsip tersebut memudahkan mendeteksi media dengan kasat mata, sehingga dalam kasus media yang berwarna ataupun buram, penentuan pertumbuhan bakteri pada permukaan agar dapat dinilai dengan lebih jelas dan sederhana tanpa perlu melakukan subkultur (Tan & Lim, 2015). Hasil uji KHM dan KBM dapat dilihat pada Tabel 5 & 6.



Gambar 7. (A) Hasil Uji KHM (B) KBM Ekstrak dan Fraksi Etil Asetat

Uji	Konsentrasi (mg/mL)	Keterangan
Ekstrak Etanol	2	Tumbuh bakteri
Umbi	4	Tumbuh bakteri
Lobak Putih	6	Tumbuh bakteri
	8	Tumbuh bakteri

	10	Tumbuh bakteri
	20	Tumbuh bakteri
	30	Tumbuh bakteri
	40	Tumbuh bakteri
	Kontrol (+)	Tumbuh bakteri
	Kontrol (-)	Jernih
Fraksi Etil Asetat	2	Tumbuh bakteri
UmbiLobak Putih	4	Tumbuh bakteri
	6	Tumbuh bakteri
	8	Tumbuh bakteri
	10	Jernih
	20	Jernih
	30	Jernih
	40	Jernih
	Kontrol (+)	Tumbuh bakteri
	Kontrol (-)	Jernih

Tabel 6. Hasil Uji KBM Ekstrak dan Fraksi Etil Asetat

Uji	Konsentrasi (mg/mL)	Keterangan
Ekstrak Etanol	2	Tumbuh bakteri
Umbi	4	Tumbuh bakteri
Lobak Putih	6	Tumbuh bakteri
	8	Tumbuh bakteri
	10	Tumbuh bakteri
	20	Tumbuh bakteri
	30	Tumbuh bakteri
	40	Tumbuh bakteri
	Kontrol (+)	Tumbuh bakteri
	Kontrol (-)	Jernih
Fraksi Etil Asetat	2	Tumbuh bakteri
Umbi	4	Tumbuh bakteri
Lobak Putih	6	Tumbuh bakteri
	8	Tumbuh bakteri
	10	Tumbuh bakteri
	20	Jernih
	30	Jernih
	40	Jernih
	Kontrol (+)	Tumbuh bakteri
	Kontrol (-)	Jernih

Pada pengujian ini tidak ditemukan KHM dan KBM pada ekstrak etanol umbi lobak putih yang ditandai dengan tumbuhnya bakteri pada semua konsentrasi ekstrak etanol umbi lobak putih. Hal ini disebabkan karena pada ekstrak etanol umbi lobak putih senyawa yang memiliki

aktivitas antibakteri masih tersebar luar sedangkan pada fraksi senyawa yang terkandung lebih jelas berdasarkan tingkat kepolarnya. Adapun ekstrak etanol umbi lobak putih ini sebagai antibakteri dengan aktivitas bakteriostatik, yaitu memiliki aktivitas menghambat pertumbuhan bakteri namun tidak memiliki aktivitas membunuh bakteri (Setia, 2019). Sedangkan pada pengujian fraksi etil asetat didapatkan hasil KHM pada konsentrasi 10 mg/mL yang ditandai dengan tidak tumbuhnya bakteri di hari inkubasi pertama dan tumbuhnya bakteri pada konsentrasi 10 mg/mL pada inkubasi hari kedua. Sedangkan nilai KBM fraksi etil asetat didapatkan pada konsentrasi 20 mg/mL yang ditandai dengan tidak tumbuhnya bakteri pada inkubasi hari pertama dan kedua. Hasil ini dapat dilihat pada gambar 7 dan 8.

Ditemukan KHM dan KBM menunjukkan bahwa fraksi etil asetat umbi lobak putih bersifat bakteriostatik, artinya dengan konsentrasi 10 mg/mL bakteri dapat dihambat pertumbuhannya dan bersifat bakterisidal yang dimana dengan konsentrasi 20 mg/mL bekerja mematikan bakteri atau memiliki aktivitas membunuh bakteri. Kemampuan bakteriostatik dan bakterisidal ini kemungkinan berasal dari senyawa yang terkandung di dalam fraksi etil asetat umbi lobak putih yang dapat menembus dinding sel bakteri (Ulul *et al.*, 2020).

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

1. Ekstrak etanol dan fraksi umbi lobak putih (*Raphanus sativus* L.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan daya hambat 9,25 mm pada ekstrak etanol umbi lobak putih, 7,5 mm pada fraksi air dan 8,5 pada fraksi etil asetat umbi lobak putih.
2. Ekstrak etanol umbi lobak putih tidak ditemukan nilai KHM dan KBM nya, sedangkan pada fraksi etil asetat ekstrak etanol umbi lobak putih terdapat nilai KHM pada konsentrasi 10 mg/mL dan KBM pada konsentrasi 20 mg/mL.

Saran

1. Dilakukan uji aktivitas antibakteri pada bakteri lainnya selain bakteri yang diujikan dalam penelitian ini.
2. Penentuan jumlah pergantian pelarut setiap fraksinasi dilakukan berdasarkan pada hasil uji KLT untuk memastikan sudah tidak ada senyawa pada ekstrak umbi lobak putih yang di fraksinasi sehingga menghasilkan fraksi yang lebih banyak.

DAFTAR PUSTAKA

- Adibi, S. (2017). Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Ekstrak Daun *Strobilanthes crispus* Bl (Keji Beling) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Alotrop*, 148-154.
- Anggraeni, N., Fasya, G., Abidin, M., & Hanapi, A. (2014). Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat, Kloroform, Petroleum Eter dan n-Heksan Hasil Hidrolisis Ekstrak Metanol Mikroalga *Chlorella* sp. *Alchemy*, 173-188.
- Ardhuha, F. (2010). Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Metanol Daun *Syzygium cordatum* terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* menggunakan metode Kirby-bauer. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kedokteran Indonesia*, 4-6.
- Budilaksono, W., Wahdaningsih, S., & Fahrurroji, A. (2014). Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi n-Heksana Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus lemairei* Britton dan Rose) Menggunakan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil). *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN*, 1-11.

- Golus, J., Sawicki, R., Widelski, J., & Ginalska, G. (2016). The Agar Microdilution Method- a new Method For Antimicrobial Susceptibility Testing for Essential oils and Plant Extracts. *Journal of Applied Microbiology*, 1291-1299.
- Indarto, Narulita, W., Anggoro, S. B., & Aulia, N. (2019). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Binahong Terhadap Propionibacterium Acnes. *BIOSFER: Jurnal Tadris Biologi*, 67-78.
- Keumala, T. S., Sukmiwati, M., & Diharmi, A. (2021). Fraksi Aktif Rumput Laut Coklat Sargassum cinereum sebagai Antioksidan dan Antibakteri. *Jurnal Penelitian Terapan*, 66-74.
- Mehraj J, A. M. (2014). Staphylacoccus aureus Nasal Carriage in a Random Simple of Non-Hospitalized Adult Population in Nothern Germany. *One Plus Journal*.
- Nweze, N., & Nwafor, F. (2014). Phytochemical, Proximate And Mineral Composition Of Leaf Extracts Of Moringa Oleifera Lam. From Nsukka, South- Eastern Nigeria . *IOSR Journal Of Pharmacyand Biological Sciences.*, 99-103.
- Paju, N., Yamlean, P. V., & Kojong, N. (2013). Uji Efektivitas Salep Ekstrak Daun Binahong Anredera cordifolia (Ten Steenis) pada kelinci yang Terinfeksi Bakteri Staphylacoccus aureus. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 2302-2493.
- Rahmadani, A., Budiyo, B., & Suhartono, S. (2017). Gambaran Keberadaan Bakteri Staphylacoccus aureus, Kondisi Lingkungan dan angka Lempeng Total di Udara Ruang Rawat Inap RSUD Prof. Dr. M. A. Hanafiah SM Batusangkar. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*, 492-501.
- Santoso, B. S., Sudarsono, Nugroho, A. E., & Murti, Y. B. (2017). Perbandingan Aktivitas Antioksidan Antara Jus Buah Mengkudu (Morinda citrifolia) dan Jus Rimpang Temulawak (Curcuma xanthorrhiza). *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 341-349.
- Singh, P. (2013). Medical and The rapetic Utilities of Raphanus sativus. *Journal of Plant, Animal and Environmental Science*.
- Susanti, E., & Ningsih, T. S. (2016). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Umbi Lobak Putih (Raphanus sativus L.) Terhadap Lima Bakteri Patogen dengan Metoda Difusi. . *Enzia Pratiwi Journal Manager*, 1-7.
- Tan, J., & Lim, Y. (2015). Antioxidant and Tyrosinase Inhibition Activity of the Fertile Fronds and Rhizomes of Three Different Drynaria Species. *BMC Research Notes*, 1-6.
- Vinoth, B., Manivasagaperumal, R., & Balamurugan, S. (2012). Phytochemical Analysis And Antibacterial Activity Of Moringa oleifera Lam. *International Journal Of Research In Biological Sciences*, 98-102.
- Zeniusa, p., Ramadhian, r. M., Nasution, h. S., & Karima, N. (2019). Uji Daya Hambat Etanol Teh Hijau Terhadap Escherichia coli Secara In Vitro. *Majority*, 136-143.