

Research Article

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL 96% DAUN MIMBA
(*Azadirachta indica* A. Juss.) DENGAN METODE EKSTRAKSI PERKOLASI
TERHADAP PERTUMBUHUAN BAKTERI *Staphylococcus aureus***

Yanu Andhiarto¹, Rina Andayani², Nur Hidayatul Ilmiyah³

¹Bagian Biologi Farmasi, Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Hang Tuah, Surabaya,

²Bagian Kimia Farmasi, Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran, Universitas Hang Tuah, Surabaya

ABSTRACT

*Skin infections most often found in developing countries, especially in the tropics, are purulent skin inflammation (pyoderma), the main cause of *Staphylococcus aureus*. The increasing number of cases of bacteria that are resistant to antibacterial can encourage the extraction of sources of antibacterial drugs from natural ingredients. One of the plants that is thought to have the antibacterial activity of *Staphylococcus aureus* is the Neem plant. In this study an antibacterial activity test was carried out with the well diffusion method from 96% ethanol extract of Mimba leaves extracted by percolation method. Phytochemical screening tests obtained 96% ethanol extract of Mimba leaves containing alcaloid, saponins, tannins, steroids / terpenoids and flavonoids. The results of the study on the antibacterial activity test showed a concentration of 75% ethanol extract of 96% Mimba leaves classified as having strong activity, at a concentration of 50% and 25% classified as having moderate activity. It concluded that the three concentrations of 96% ethanol extract of Mimba leaves were able to inhibit the growth of *Staphylococcus aureus* bacteria.*

Keywords: Percolation, Antibacteria, Well Diffusion, *Staphylococcus aureus*, 96% Ethanol Extract, Mimba leaves

ABSTRAK

*Infeksi kulit yang paling sering didapatkan di negara-negara berkembang terutama di daerah tropis adalah radang kulit bernanah (pioderma) yang penyebab utamanya adalah bakteri *Staphylococcus aureus*. Semakin banyaknya kasus bakteri yang resisten terhadap antibakteri dapat mendorong penggalian sumber obat-obatan antibakteri dari bahan alam. Salah satu tanaman yang diduga memiliki aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* adalah tanaman Mimba. Penelitian bertujuan untuk melakukan uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi sumuran dari ekstrak etanol 96% daun Mimba yang telah diesktraksi dengan metode perkolasai. Hasil uji skrining fitokimia didapatkan ekstrak etanol 96% daun Mimba mengandung akaloid, saponin, tanin, steroid/terpenoid, dan flavonoid. Hasil penelitian pada uji aktivitas antibakteri menunjukkan konsentrasi 75% ekstrak etanol 96% daun Mimba tergolong mempunyai aktivitas kuat, pada konsentrasi 50% dan 25% tergolong mempunyai aktivitas sedang. Hal ini menunjukkan bahwa ketiga konsentrasi ekstrak etanol 96% daun Mimba mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.*

Kata Kunci : Perkolasi, Antibakteri, Difusi Sumuran, *Staphylococcus aureus*, Ekstrak Etanol 96%, daun Mimba.

Correspondence: Yanu Andhiarto, Bagian Biologi Farmasi Prodi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Hang Tuah Surabaya. **Email :** yanu.andhiarto@hangtuah.ac.id

PENDAHULUAN

Tubuh memiliki berbagai macam sistem pertahanan untuk melindungi diri dari berbagai macam mikroba asing, baik sistem pertahanan internal yang berkaitan dengan imunitas maupun sistem pertahanan eksternal seperti kulit. Kulit merupakan organ terluar dari tubuh yang mudah terpengaruh oleh lingkungan luar dan terus mengalami perubahan untuk beradaptasi dengan lingkungan, hal ini dapat memicu terjadinya infeksi pada kulit [1].

Infeksi kulit yang paling sering didapatkan di negara-negara berkembang terutama di daerah tropis adalah radang kulit bernanah (*pioderma*). *Pioderma* menempati urutan empat besar jumlah kunjungan rawat jalan di Indonesia. *Pioderma* merupakan penyakit kulit yang penyebab utamanya adalah bakteri *Staphylococcus aureus*. Penelitian pada luka yang diisolasi di rumah sakit umum tahun 2000 terungkap hasil serupa bahwa infeksi yang disebabkan *Staphylococcus aureus* menempati urutan pertama sebesar 42% [2].

Berbagai studi menjelaskan bahwa sekitar 40% sampai 62% pemakaian antibiotik digunakan secara tidak tepat sesuai dengan terapeutiknya [3]. Semakin banyaknya kasus bakteri yang resisten terhadap antibakteri dapat mendorong penggalian sumber obat-obatan antibakteri dari bahan alam [4].

Berdasarkan hal tersebut beberapa penelitian difokuskan terhadap bahan alam sebagai bahan dasar untuk produk kefarmasian, karena diduga mempunyai efek samping yang lebih rendah dibandingkan obat modern [5]. Salah satu tanaman yang diduga memiliki aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* adalah tanaman Mimba. Secara empiris bagian daun dari tanaman Mimba ini telah digunakan oleh

masyarakat Gresik untuk mengobati penyakit gatal-gatal dengan menumbuk 5-7 lembar daun dan ditempelkan ke bagian yang gatal, atau dengan merebus daun Mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) yang kemudian air hasil rebusannya digunakan untuk mengobati gatal-gatal.

Senyawa aktif flavonoid dan alkaloid mempunyai aktivitas sebagai antibakteri [6]. Berdasarkan uraian tersebut, maka dilakukan penelitian tentang uji aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol 96% daun Mimba dengan metode perkolası, yang sebelumnya telah dilakukan identifikasi senyawa metabolit sekunder dengan skrining fitokimia dan telah dilakukan uji standarisasi ekstrak untuk memenuhi serangkaian parameter, sehingga sesuai dengan persyaratan produk kefarmasian yang berlaku. Penelitian ini diharapkan akan bermanfaat sebagai sumber zat antibakteri, utamanya terhadap bakteri patogen yang bertanggung jawab pada penyakit kulit yaitu *Staphylococcus aureus*.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah oven, beaker glass (50 ml, 100 ml dan 500 ml), erlenmeyer 250 ml, batang pengaduk, corong buchner, cawan porselin, neraca analitik OHAUSS, sentrifus, tabung reaksi, gelas ukur (10ml, 50ml dan 100ml), cawan petri, *rotary evaporator*, perkolator, autoklaf, stirrer, hot plate, spirtus, micropipet, pipet, ayakan no mesh 40, blender dan sendok tanduk.

Beberapa bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu daun tanaman Mimba (*Azadirachta indica* A. Juss), biakan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, media bakteri, etanol, kertas saring, kapas lemak, dan standart antibakteri kloramfenikol.

Ekstraksi

Ekstraksi perkolasii digunakan 1 kg serbuk kering daun Mimba yang sebelumnya telah direndam terlebih dahulu dengan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1:1 (b/v) selama 2 jam. Kemudian simplisia yang sudah direndam dalam pelarut dimasukkan ke dalam perkulator untuk dilakukan ekstraksi perkolasii dan pelarut dimasukkan secara kontinyu dari atas mengalir lambat melewati simplisia yang berupa serbuk kasar. Melalui pembaharuan terus-menerus yang berlangsung hingga bahan dan pelarut kontak secara setimbang. Kemudian diperoleh tetesan ekstrak yang keluar dari perkulator. Menghasilkan perkolat I. Kemudian ampas diperkolasi kembali selama 24 jam seperti cara di atas sebanyak dua kali sehingga diperoleh hasil perkolat II dan perkolat III.

Uji Parameter Non-spesifik

Analisis Susut Pengeringan

Ekstrak etanol 96% daun mimba sebanyak 1 gram hingga 2 gram dimasukkan dalam kurs porselin (sebelumnya dipanaskan pada suhu 105°C selama 30 menit). Dikeringkan pada suhu 105°C hingga bobot tetap. Perlakuan diatas diulangi sampai berat konstan. Standart susut pengeringan menurut Depkes adalah ≤10% [7].

Analisis Kadar Abu

Sebanyak 2 gram ekstrak etanol 96% daun Mimba kering ditimbang, dimasukkan ke dalam krus silikat yang telah dipijarkan dan ditara, diratakan. Pijarkan perlahan-lahan hingga arang habis, didinginkan dan ditimbang. Hitung kadar abu terhadap bahan yang telah dikeringkan diudara. Persyaratan uji kadar abu dengan menurut Depkes yaitu ≤5% [7].

Analisis Kadar Air

Ekstrak etanol 96% daun Mimba ditimbang 1-2 gram menggunakan krus porselin tertutup yang sudah diketahui beratnya. Kemudian dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 105°C selama 5 jam dan didinginkan menggunakan desikator. Setelah dingin, ditimbang hingga diperoleh bobot konstan. Perlakuan diatas diulangi sampai berat konstan. Persyaratan maksimal kadar air di dalam ekstrak menurut Depkes adalah ≤10% [7].

Skrining Fitokimia

Uji Alkaloid

Ekstrak etanol 96% daun Mimba dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambahkan 0,5 ml HCl 2% dan larutan dibagi dalam dua tabung. Tabung I ditambahkan 2-3 tetes reagen Dragendorff, tabung II ditambahkan 2-3 tetes reagen Mayer. Jika tabung I terbentuk endapan jingga dan pada tabung II terbentuk endapan kekuning-kuningan, menunjukkan adanya alkaloid [8].

Uji Saponin

Ekstrak etanol 96% daun Mimba dimasukkan ke dalam tabung reaksi ditambahkan air (1:1) sambil dikocok selama 1 menit, apabila menimbulkan busa ditambahkan 2 tetes HCl 1 N dan dibiarkan selama 10 menit, bila busa yang terbentuk bisa tetap stabil kurang lebih 15 menit maka ekstrak positif mengandung saponin [8].

Uji Tanin

Ekstrak etanol daun Mimba 96% dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 2-3 tetes larutan FeCl_3 1%. Jika larutan menghasilkan warna coklat kehijauan atau biru kehitaman, maka ekstrak tersebut mengandung tanin [8].

Uji Steroid/Triterpenoid

Ekstrak etanol 96% daun Mimba dilarutkan dalam 2-3 ml kloroform, lalu ditambahkan 10 tetes asam asetat anhidrat dan 2-3 tetes H_2SO_4 pekat melalui dinding tabung, jika terbentuk cincin kecoklatan atau violet, maka ekstrak positif mengandung triterpenoid, bila terbentuk warna hijau kebiruan atau kuning menunjukkan adanya sterol atau steroid [9].

Uji Flavonoid

Ekstrak etanol 96% daun Mimba ditambahkan dengan 1-2 ml air panas dan sedikit serbuk Mg. Kemudian ditambahkan 4-5 tetes HCl pekat. Jika menunjukkan warna merah, kuning, atau jingga maka ekstrak positif mengandung flavonoid [8].

Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan memasukkan 40 μ l [10] suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang telah disesuaikan dengan standar kekeruhan 0,5 *Mc Farland* ke dalam tabung *seed layer* sebanyak 12 ml. Dikocok dengan vortex lalu dituangkan secara merata ke atas permukaan *base layer* dan biarkan memadat. Selanjutnya dibuat sumuran dengan menggunakan pelubang stainless dengan diameter 7 mm. Kemudian dibuat lubang sebanyak 3 lubang larutan uji (U1, U2, U3) dan masing-masing 1 lubang untuk kontrol positif dan kontrol negatif pada cawan petri yang berbeda, perlakuan ini dilakukan sebanyak 5 kali. Pada setiap sumuran uji diisi ekstrak etanol 96% daun Mimba sebanyak 50 μ l [11] dengan konsentrasi 25%, 50% dan 75%. Dilakukan hal yang sama pada perlakuan kontrol positif menggunakan larutan Kloramfenikol 3% dan kontrol negatif menggunakan larutan DMSO 0.1%. Setelah itu

dilakukan pada suhu 37°C selama 24 jam, diamati dan diukur zona hambat yang terbentuk dalam milimeter (mm).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini diawali dengan mendeterminasi tanaman yang akan dijadikan sampel uji dengan cara mencocokkan bagian-bagian tanaman dengan literatur yang tersedia. Berdasarkan determinasi yang dilakukan di LIPI-BKT Kebun Raya Purwodadi diperoleh pernyataan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Azadirachta indica A. Juss.*

Proses ekstraksi dibedakan menjadi dua fase yaitu fase pencucian (*washing out*) dan fase ekstraksi (difusi). Fase *washing out* merupakan proses pencucian senyawa-senyawa yang ada di luar sel. Pada proses ini simplisia daun mimba dilakukan perendaman menggunakan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1:1 (b/v). Hal ini dapat menyebabkan terjadinya kerusakan pada sel tanaman simplisia sehingga senyawa-senyawa yang terkandung di dalam simplisia keluar dari sel akibat dari pecahnya dinding sel dan memberikan kesempatan sebesar-besarnya kepada cairan penyari memasuki seluruh pori-pori dalam simplisia sehingga mempermudah penyarian selanjutnya [12].

Pada fase ekstraksi (difusi), pelarut menarik senyawa-senyawa yang ada di dalam sel dengan cara menembus dinding sel terlebih dahulu. Pelarut dapat masuk ke dalam sel karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan dalam sel dengan pelarut yang mula-mula masih tanpa bahan aktif. Proses penarikan ini akan berlangsung sampai terbentuknya suatu keseimbangan konsentrasi antara larutan di

sebelah dalam dan di sebelah luar sel.

Metode ekstraksi pada penelitian ini yaitu metode perkolası, metode ini merupakan ekstraksi dingin atau ekstraksi yang tidak menggunakan panas, sehingga tidak merusak senyawa yang terkandung di dalamnya [13], dan diharapkan diperoleh ekstrak yang sempurna dikarenakan waktu kesetimbangan yang berlangsung lama akibat dari penambahan cairan penyari yang berlangsung terus menerus untuk menghindari terjadinya kejemuhan [14]. Pada ekstraksi tersebut, pelarut yang digunakan adalah etanol 96% yang merupakan pelarut ideal yang mempunyai *extractive power* terbaik untuk hampir semua senyawa yang mempunyai berat molekul rendah seperti alkaloid, saponin, dan flavonoid [15]. Hal ini didukung dengan penelitian Ayini, 2014 yang menyebutkan bahwa penggunaan etanol sebagai pelarut dalam pembuatan ekstrak daun bisa melarutkan kandungan senyawa-senyawa alkaloid, flavonoid, polifenol yang berfungsi sebagai antibakteri pada daun Mimba [16].

Penetapan parameter non spesifik ekstrak secara umum dilakukan terhadap kadar air, kadar abu total, dan susut pengeringan [17]. Depkes RI, 2000 menyatakan bahwa batas kadar air yang ditetapkan adalah $\leq 10\%$. Kadar air ekstrak etanol 96% daun Mimba diperoleh sebesar 0,11% b/v, sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun Mimba yang digunakan memenuhi persyaratan standar sehingga dapat meminimalisir tumbuhnya jamur maupun kapang serta menghasilkan daya tahan penyimpanan dan mutu ekstrak daun Mimba yang baik [18]. Pada hasil penelitian ini diperoleh kadar abu total sebesar 0,09%, artinya kandungan anorganik di dalam ekstrak etanol 96% daun Mimba masuk ke dalam persyaratan kadar abu ekstrak yang baik

yaitu $\leq 5\%$ [19]. Hal ini menunjukkan bahwa simplisia yang diperoleh dari proses pasca panen tidak banyak mengandung mineral maupun pencemar [20]. Susut pengeringan menjadi parameter suatu ekstrak untuk menjaga kualitas agar terhindar dari pertumbuhan jamur [21]. Bobot penyusutan ekstrak etanol 96% daun Mimba sebesar 0,19%, memperlihatkan data susut pengeringan ekstrak etanol 96% daun Mimba masih memenuhi standar Depkes RI (2008) yaitu $\leq 10\%$.

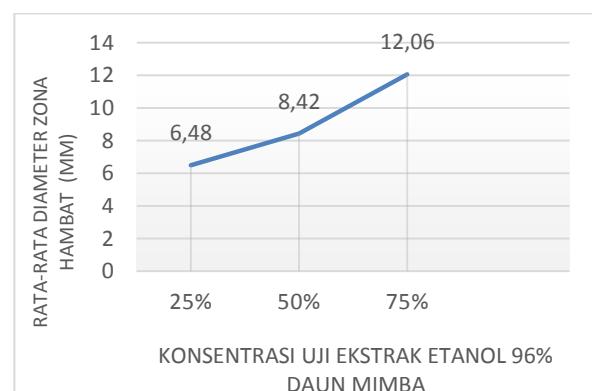
Uji fitokimia merupakan salah satu langkah penting dalam upaya mengungkap potensi sumber daya tumbuhan obat [22]. Skrining ini dilakukan untuk memberi gambaran tentang golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol 96% daun Mimba. Komponen yang terdapat dalam ekstrak etanol daun Mimba dianalisis golongan senyawanya dengan uji beberapa pereaksi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol 96% daun Mimba mengandung alkaloid, saponin, tanin, steroid/triterpenoid, dan flavonoid.

Proses selanjutnya yaitu uji aktivitas antibakteri. Media yang digunakan untuk menumbuhkan dan mengembangi bakteri yaitu *nutrient agar*. *Nutrient agar* merupakan media biakan yang dibuat dari ekstrak beef, pepton, dan agar. Menurut Radji, 2010 karbohidrat sangat dibutuhkan oleh bakteri karena karbohidrat merupakan substrat utama untuk metabolisme bakteri [23]. Metode yang digunakan yaitu metode difusi sumuran, dikarenakan difusi ekstrak ke dalam agar lebih baik jika dibandingkan dengan menggunakan *disk*. Pada metode *disk* jika terdapat sebagian ekstrak yang tidak larut dalam pelarutnya dikarenakan pencampuran yang belum homogen atau belum larut sempurna, hal ini akan menyebabkan

pengendapan dibagian bawah *disk* yang akan menurunkan proses difusi ekstrak yang terdapat di *disk* ke dalam agar. Selain itu, alatnya lebih sederhana, waktu yang dibutuhkan untuk metode difusi sumuran lebih singkat, dan biayanya lebih murah, dikarenakan tidak membutuhkan paper *disk* yang harganya mahal, sehingga difusi sumuran merupakan metode yang lebih ekonomis dan efisien [24]. Adanya aktivitas pada metode ini ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening di sekitar lubang sumuran. Bahan uji yang digunakan yaitu ekstrak etanol 96% daun Mimba dengan konsentrasi 25%, 50%, dan 75%. Perlakuan dilakukan sebanyak 5 kali pada larutan uji, kontrol positif, dan kontrol negatif.

Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol 96% daun Mimba terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* diketahui bahwa ketiga konsentrasi yaitu pada konsentrasi 25%, 50%, dan 75%, ekstrak etanol 96% daun Mimba mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Kategori daya hambat antibakteri menurut Davis dan Stout (1971) dalam Andayani (2014) [25] menyatakan bahwa kekuatan antibakteri dibagi menjadi 4 kelompok, yaitu jika ≥ 20 mm tergolong sangat kuat, 10-20 mm tergolong kuat, 5-10 mm tergolong sedang, dan ≤ 5 mm tergolong lemah. Apabila mengacu pada penggolongan ekstrak menurut Davis dan Stout, kemampuan ekstrak etanol 96% daun Mimba dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 25%, 50%, tergolong sedang dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar 6,48 mm dan 8,42 mm. Sedangkan pada konsentrasi 75% ekstrak etanol 96% daun Mimba tergolong mempunyai aktivitas kuat dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar 12,06 mm. Brooks *et al.*, (2013) [26] menyatakan bahwa aktivitas antibakteri

dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu konsentrasi ekstrak, kandungan senyawa antibakteri, daya difusi ekstrak dan jenis bakteri yang dihambat. Penelitian ini menunjukkan semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol 96% daun Mimba, semakin besar diameter zona hambat terhadap *Staphylococcus aureus* yang dapat dilihat pada **Gambar 1**. Oleh karena itu dapat diasumsikan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak, jumlah senyawa antibakteri yang dilepaskan juga semakin besar, sehingga mempermudah penetrasi senyawa tersebut ke dalam sel bakteri dengan mekanismenya masing-masing yang akan menghasilkan diameter zona hambat yang semakin besar pula.



Gambar 1. Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol Daun Mimba

Aktivitas penghambatan bakteri *Staphylococcus aureus* oleh ekstrak etanol 96% daun Mimba disebabkan oleh pengaruh senyawa bioaktif atau metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak [27]. Alkaloid yang mengandung gugus basa yaitu nitrogen dapat menyebabkan keaktifan biologis dari senyawa alkaloid. Bakteri apabila mengalami kontak dengan gugus basa dari senyawa alkaloid akan bereaksi dengan senyawa-senyawa asam amino penyusun dinding sel bakteri, menyebabkan perubahan susunan asam amino yang akan merubah keseimbangan

genetik pada asam DNA, sehingga DNA bakteri akan mengalami kerusakan. Aktivitas antibakteri saponin dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu jenis rantai aglikonnya, jumlah, posisi dan struktur kimia dari gugus gulanya. Semakin banyak gugus gulanya, maka semakin lemah efek antibakterinya [28]. Mekanisme saponin sebagai antibakteri yaitu dengan menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler keluar [29]. Toksisitas senyawa tanin yang merupakan turunan fenol terhadap bakteri tergantung pada jumlah gugus hidroksil, semakin banyak jumlah hidroksil maka toksitas senyawa tanin terhadap bakteri meningkat [28]. Tanin dapat mengkerutkan dinding sel atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas sel itu sendiri, akibat terganggunya permeabilitas, sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat [30]. Senyawa steroid/triterpenoid juga memiliki potensi sebagai senyawa antibakteri. Unsur penting dalam steroid/terpenoid yang berperan dalam aktivitas antibakteri meliputi gugus fungsi dan gugus hidroksil dari terpenoid fenolik [28]. Senyawa terpenoid mudah larut dalam lipid sifat inilah yang mengakibatkan senyawa ini lebih mudah menembus dinding sel bakteri Gram positif dan sel bakteri Gram negatif [31]. Flavonoid merupakan turunan dari senyawa fenol dan bersifat sebagai koagulator protein. Toksisitas senyawa fenol terhadap bakteri tergantung pada jumlah gugus hidroksil dan konsentrasi yang diberikan. Fenol berikatan dengan protein melalui ikatan hidrogen sehingga mengakibatkan struktur protein menjadi rusak [28].

Kontrol positif yang digunakan pada penelitian ini adalah kloramfenikol 3%, dikarenakan kloramfenikol merupakan antibakteri

yang mempunyai spektrum luas, yaitu dapat menghambat bakteri gram positif maupun bakteri gram negatif. Sifat kerja kloramfenikol yang berikatan secara reversibel pada sub unit 50S ribosom bakteri yang menganggu pengikatan asam amino baru pada rantai peptida yang sedang dibentuk dan menghambat peptidil transferase, sehingga sifat kerjanya bakteriostatik [32]. Pada penelitian ini konsentrasi kloramfenikol 3% menghasilkan diameter zona hambat kloramfenikol sebesar 31,75 mm, yang tergolong memiliki daya hambat kategori sangat kuat (≥ 20 mm). Hal ini menunjukkan bahwa kontrol positif yang digunakan masih sensitif terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus*. Kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO 0,1% tidak terbentuk zona hambat. Hal ini menunjukkan bahwa DMSO 0,1% tidak mempunyai aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* [29].

Data diameter zona hambat yang diperoleh lalu dilakukan uji statistika menggunakan program komputer IBM SPSS versi 22 untuk menentukan apakah terdapat pengaruh aktivitas antibakteri ekstrak etanol 96% daun mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) yang diekstraksi dengan metode perkolasai terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 25%, 50%, dan 75%. Pertama dilakukan uji normalitas dan homogenitas dengan menggunakan uji Kolmogorov-Smirnov untuk mengetahui distribusi data masing-masing kelompok perlakuan. Suatu data dikatakan terdistribusi normal dan homogen apabila mempunyai nilai signifikansi sebesar $> 0,05$. Hasil uji normalitas dan homogenitas menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,200 untuk uji normalitas dan 0,074 untuk uji homogenitas, maka dapat dikatakan bahwa data diameter zona hambat

yang diperoleh dalam penelitian ini terdistribusi normal dan homogen. Karena data yang diperoleh bersifat normal dan homogen, sehingga untuk pengambilan kesimpulan menggunakan uji statistika ANOVA. Pada uji statistika ANOVA, suatu data dapat disimpulkan tolak H_0 terima H_1 apabila mempunyai nilai signifikansi $< 0,05$. Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa nilai signifikansi yang didapat sebesar 0,000, sehingga dapat disimpulkan bahwa terima H_1 tolak H_0 , yaitu ada pengaruh aktivitas antibakteri ekstrak etanol 96% daun mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) yang diekstraksi dengan metode perkolasai terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 25%, 50%, dan 75%.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian yang dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa ekstrak etanol 96% daun Mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) yang diekstraksi dengan menggunakan metode perkolasai memiliki aktivitas kuat sebagai antibakteri pada konsentrasi 75% dengan diameter zona hambat sebesar 12,06 mm, aktivitas sedang sebagai antibakteri pada konsentrasi 50% sebesar 8,42 mm dan pada konsentrasi 25% sebesar 6,48 mm terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Pengkajian lebih lanjut diperlukan dengan melakukan isolasi terhadap senyawa yang paling berpotensi sebagai antibakteri.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan peneliti kepada Yanu Andhiarto dan Rina Andayani atas kontribusi dalam penyusunan naskah.

PENDANAAN

Penelitian ini didanai oleh LPPM

Universitas Hang Tuah Surabaya.

KONFLIK KEPENTINGAN

Peneliti menyatakan tidak ada konflik kepentingan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Lumataw, P. F., Herry, P., Pitter, L. S., 2016. Profil pioderma pada anak di Poliklinik Kulit dan Kelamin RSUP Prof. Dr. R. D. Kandou Manado periode tahun 2013-2015. Jurnal e-Clinic. 4 (2).
2. Sarmiento, W. C., Maramba C. C., Liza, M., Gonzales, 2011. An In Vitro Study The Antibacterial Effect Of Neem (*Azadirachta indica*) Leaf Extract On Methicillin-Sensitive and Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. University of the Philippines College of Medicine-Philippine General Hospital. PIDSP Journal. 12 (1).
3. Kemenkes RI, 2011. Promosi kesehatan di daerah bermasalah kesehatan panduan bagi petugas kesehatan di puskesmas. Pusat Promosi Kesehatan Kemenkes Republik Indonesia, Jakarta.
4. Hanik, Ifah., 2012. Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Etanol Kulit Buah Delima (*Punica granatum* L.) dan Kloramfenikol Terhadap *Staphylococcus aureus* Sensitif dan Multiresistensi Antibiotik. Skripsi. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
5. Busyron, C., Kuswandi, M., Indrayudha, P., 2012. Pola kuman dan resistensinya terhadap antibiotika dari spesimen push di RSUD Dr. Moewardi. Jurnal Pharmacon. 13 (2): 70-76.
6. Rohma, 2011. Uji Aktivitas Antibakteri

- Ekstrak Daun Mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) Terhadap Bakteri *Shigella dysentiae*. Skripsi. Akademi Analis Farmasi dan Makanan Putra Indonesia Malang.
7. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Edisi I. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. Direktorat Pengawasan Obat Tradisional, Jakarta.
8. Setyowati, W. A. E., Sri, R. D. A., Ashadi. Mulyani, B., Cici, P. R., 2014. Skrining Fitokimia dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian (*Durio zibethinus* Murr.) Varietas Petruk. Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia VI: 271.
9. Khotimah, K., 2016. Skrining Fitokimia dan Identifikasi Metabolit Sekunder Senyawa Karpain pada Ekstrak Metanol Daun *Carica pubescens* Lanne & K. Koch dengan LC/MS. Skripsi. UIN Maulana Malik Ibrahim, Malang.
10. Murtwi, M. T., 2014. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun *Macaranga tanarius* (L.) Mull. Arg. Terhadap *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615. Skripsi. Universitas Sanata Dharma Yogyakarta.
11. Mpila, D. A., Fatimawali, Weny, I. W., 2012. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mayana (*Coleus atropurpureus* [L] Benth) terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* secara In-Vitro. Skripsi. Program Studi Farmasi FMIPA. Universitas Sam Ratulangi. Manado.
12. Pratiwi, Indah., 2010. Perbandingan Metode Maserasi, Remaserasi, Perkolasi, dan Reperkolasi Dalam Ekstraksi Senyawa Aktif Andrographolide Dari Tanaman Sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm. F.) Nees). Skripsi. Institut Pertanian Bogor.
13. Margaretta, S., Swita, D. H., Nani, I. Herman, H., 2011. Ekstraksi Senyawa Phenolic *Pandanus amaryllifolius* Roxb. Sebagai Antioksidan Alami. Jurnal Widya Teknik. 10 (1): 21 –30.
14. Ansel, H.C., 1989. Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi, diterjemahkan oleh Farida, Ibrahim, lis, Aisyah. Edisi keempat. UI Press, Jakarta. Pp. 255-271.
15. Arifianti, L., Rice, D. O., Idha, K., 2014. Pengaruh Jenis Pelarut Pengekstraksi terhadap Kadar Sinensetin dalam Daun *Orthosiphon stamineus* Benth. E-journal Planta Husada. 2 (1).
16. Ayini, U., Siti, H., Titis, C., 2014. Efek Antibakteri Ekstrak Daun Mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) terhadap Bakteri *Vibrio algynoliticus* Secara In Vitro. Skripsi. Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Negeri Semarang.
17. Anonim, 2000. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Edisi I. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
18. Zainab, Nanik, S., Anisaningrum, 2016. Penetapan Parameter Standarisasi Non Spesifik dan Spesifik Ekstrak Daun Pacar Kuku (*Lawsonia inermis* L.). Media Farmasi. 13 (2): pp. 212-226.
19. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2008. Farmakope Herbal Indonesia, Edisi I. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
20. Lestari, R. F., Suhaimi, Wilda, W., 2018.

- Penetapan Parameter Standar Simplisia dan Ekstrak Etanol Daun Kratom (*Mitragyna speciosa* Korth) yang Tumbuh di Kabupaten Kapuas Hulu dan Kabupaten Melawi. Jurnal Insan Farmasi Indonesia. 1(1) 72-84.
21. Safitri, R., 2008. Penetapan Beberapa Parameter Spesifik dan Non Spesifik Ekstrak Etanol Daun Alpukat (*Persea americanaa* Mill.). Skripsi. Universitas Indonesia.
22. Astuti, J., Rudiyan Syah, Gusrizal., 2013. Uji fitokimia dan aktivitas antioksidan tumbuhan paku uban (*Nephrolepis biseratta* (Sw) Schhott). JKK. 2(2): pp. 118-122.
23. Radji, Maksum, 2010. Buku Ajar Mikrobiologi. EGC, Jakarta.
24. Valgas, C., Simone, M. D. S., Elza, A. S., Artur, S. J., 2007. Screening Methods to Determine Antibacterial Activity Of Natural Products. Brazilian Journal Of Microbiology. 38: pp. 369-380.
25. Andayani, R., Zaki, M., Dian, R. R., 2016. Aktivitas Antibakteri Tepung Cacing Tanah (*Lumbricus rubellus*) Terhadap *Enterococcus faecalis* Secara In Vitro. Journal of Syiah Kuala Dentistry Society. 1 (12): pp. 201-210.
26. Brooks, G.F., Carroll, K., Butel, J.S., Jawetz, Melnick, Adelberg`s., 2013. Medical Microbiology. Ed ke-26. McGraw-Hill Company Inc, Philadelphia.
27. Sutrisno, J., 2014. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Biji Pinang (*Areca catechu* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus* Secara In vitro. Skripsi. Universitas Tanjungpura.
- Pontianak.
28. Fitriani, E., 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Terhadap *Shigella flexneri* secara In Vitro. Skripsi. Universitas Tanjungpura.
29. Sundu, R., Sapri, Fitri, H., 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Umbi Paku Atai Merah (*Angiopteris ferox* Copel) terhadap *Propionibacterium acnes*. Jurnal Medical Sains. 2 (2): pp. 75-82.
30. Robinson, T., 1995. Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi. Edisi VI. Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata. ITB, Bandung. pp. 191-216.
31. Rosyidah, K., Nurmuhaimina, Komari, M.D., Astuti, 2010. Aktivitas Antibakteri Fraksi Saponin dari Kulit Batang Tumbuhan Kasturi *Mangifera casturi*. Jurnal Bioscientiae. 7 (2): pp. 25-31.
32. Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI), 2012. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty - Second Informational Supplement. Wayne, Pennsylvania, USA.