

## Skrining Fitokimia, Aktivitas Antibakteri, dan Antijamur Ekstrak Etil Asetat Biji Lamtoro (*Leucaena leucocephala*)

Dewa Ayu Mas Maharani<sup>1</sup>, Anak Agung Gede Indraningrat<sup>2\*</sup>, Ni Wayan Widhidewi<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Kedokteran Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Warmadewa, Bali, Indonesia

<sup>2</sup>Bagian Mikrobiologi dan Parasitologi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Warmadewa, Bali, Indonesia

\*email: indraningrat@warmadewa.ac.id

### Abstrak

Penyakit infeksi salah satunya terjadi akibat masuknya bakteri atau jamur ke dalam tubuh. Namun, penggunaan antibiotik dan antijamur sintetik sering kali menimbulkan efek resistensi oleh mikroorganisme patogen. Salah satu upaya mengatasi resistensi bakteri dan jamur adalah dengan eksplorasi senyawa metabolit sekunder dari tanaman herbal dan salah satunya adalah biji tanaman lamtoro (*Leucaena leucocephala*). Penelitian terdahulu telah melaporkan adanya potensi antibakteri dari biji lamtoro. Namun, informasi yang dilaporkan belum menyeluruh karena hanya diuji menggunakan pelarut etanol. Selain itu, penelitian tentang aktivitas antijamur dari biji lamtoro belum pernah dilaporkan. Desain penelitian ini menggunakan metode eksperimen laboratorium. Tahapan awal adalah identifikasi tanaman dan dilanjutkan dengan ekstraksi simplisia biji lamtoro menggunakan pelarut etil asetat dengan rasio (1:5 b/v) selama 24 jam dan remaserasi simplisia dilakukan kembali selama 24 jam. Ekstrak yang dihasilkan diuji kandungan fitokimianya. Selanjutnya, ekstrak diuji aktivitas antibakteri dan antijamur menggunakan metode Kirby-Bauer. Bakteri uji yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Streptococcus mutans* FNCC 0405, dan *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603. Jamur uji yang digunakan adalah *Candida albicans* dan *Aspergillus flavus*. Hasil skrining fitokimia menunjukkan ekstrak etil asetat biji lamtoro mengandung senyawa flavonoid, saponin, dan tanin. Sementara uji aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat biji lamtoro menunjukkan tidak terdapat daya hambat antibakteri terhadap bakteri uji Gram negatif maupun Gram positif. Uji aktivitas antijamur juga menunjukkan bahwa tidak terdapat daya hambat antijamur terhadap jamur uji yang digunakan.

**Kata kunci:** antibakteri, antijamur, fitokimia, biji lamtoro

### Abstract

[Phytochemical Screening, Antibacterial and Antifungal Activities of Ethyl Acetate Extract of Lamtoro Seeds (*Leucaena leucocephala*)]

The entry of bacteria and fungi into the body is one of the causes of infectious diseases. However, the use of synthetic antibiotics and antifungals often causes resistance effects by pathogenic microorganisms. One effort to overcome bacterial and fungal resistance is to explore secondary metabolite compounds from herbal plants and one of them is the seeds of the lamtoro plant (*Leucaena leucocephala*). Previous research has reported the antibacterial potential of lamtoro seeds. However, the information reported is not comprehensive because it was only tested using ethanol solvent. Apart from that, research on the antifungal activity of lamtoro seeds has never been reported. This research design uses laboratory experimental methods. The initial stage is plant identification and continued with extraction of lamtoro seed simplicia using ethyl acetate solvent with a ratio (1:5 w/v) for 24 hours and simplicia remaceration is carried out again for 24 hours. The resulting extract will be tested for its phytochemical content. Next, the extract will be tested for antibacterial and antifungal activity using the Kirby-Bauer method. The test bacteria used were *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Streptococcus mutans* FNCC 0405, and *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603. The test fungi used were *Candida albicans* and *Aspergillus flavus*. The results of phytochemical screening showed that the ethyl acetate extract of lamtoro seeds contained flavonoids, saponins and tannins. Meanwhile, the antibacterial activity test of the ethyl acetate extract of lamtoro seeds showed that there was no antibacterial inhibitory effect on Gram-negative or Gram-positive bacteria. The antifungal screening showed

that the extract did not display antifungal activity against tested fungal indicators.

**Keywords:** antibacterial, antifungal, phytochemical, lamtoro seeds

## PENDAHULUAN

Penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri atau jamur merupakan permasalahan yang sering dihadapi oleh negara berkembang khususnya Indonesia.<sup>(1)</sup> Secara umum, untuk menanggulangi penyakit infeksi bakteri biasanya menggunakan antibiotik sedangkan untuk infeksi jamur akan menggunakan antijamur. Namun, tingginya penggunaan antibiotik dan antijamur yang tidak rasional menyebabkan terjadinya resistensi terhadap mikroba.<sup>(2)(3)(4)</sup>

Resistensi terjadi ketika mikroorganisme tersebut mampu untuk menahan efek obat antibiotik yang diberikan sehingga antibiotik tidak lagi efektif digunakan untuk mengatasi penyakit infeksi bakteri maupun jamur.<sup>(4)</sup> Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya menyatakan bahwa terdapat 12 ragam bakteri yang membentuk resistensi terhadap antibiotika seperti *Enterobacteriaceae* terhadap carbapenem, *S. aureus* terhadap methicilline, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *K. pneumoniae* dan *Mycobacterium tuberculosis* juga memiliki resistensi terhadap sebagian jenis antibiotika lainnya.<sup>(5)</sup> Oleh sebab itu, untuk mengatasi tingginya angka resistensi yang berasal dari bahan-bahan kimia, maka diperlukan upaya eksplorasi bahan alami dari tanaman herbal untuk diolah sebagai senyawa antibakteri dan antijamur yang efektivitasnya lebih tinggi serta lebih aman digunakan.<sup>(6)</sup>

Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki keanekaragaman tumbuhan yang tersebar di hutan hujan tropika. Sekitar 1.260 spesies dinyatakan memiliki khasiat sebagai obat herbal dan sekitar 180 spesies telah dikelola untuk proses pembuatan obat tradisional contohnya seperti jamu.<sup>(7)</sup> Salah satu tanaman herbal di Indonesia yang mempunyai potensi sebagai obat antibakteri dan antijamur adalah tanaman lamtoro (*Leucaena leucocephala*). Tanaman

lamtoro merupakan jenis tanaman polong-polongan yang tersebar banyak di wilayah Indonesia dengan memiliki banyak khasiat.<sup>(8)</sup> Tanaman ini mempunyai bentuk daun yang berukuran kecil, memiliki batang keras, dan buahnya berbentuk biji-biji kecil.<sup>(9)</sup> Biji lamtoro memiliki karakteristik berbentuk bulat kecil dengan ukuran 6-10 mm x 3-4,5 m, memiliki warna hijau jika masih muda dan berwarna coklat jika sudah tua.<sup>(10)</sup>

Biji lamtoro pada awalnya hanya dimanfaatkan sebagai pelengkap sayuran bagi masyarakat Indonesia. Namun semakin berkembangnya penelitian, kini banyak ditemukan manfaat baru dari tanaman lamtoro khususnya bagian biji. Beberapa manfaat yang dapat dirasakan oleh masyarakat dari konsumsi biji lamtoro adalah menyembuhkan luka luar, melancarkan darah, meluruhkan urine, dan abses paru.<sup>(11)(12)</sup> Selain itu juga terdapat aktivitas antihelmintik dan antibakteri yang luas dalam biji lamtoro sehingga mampu membunuh cacing dan bakteri.<sup>(13)</sup> Banyaknya khasiat yang terkandung pada tanaman tersebut karena pada bagian biji mengandung senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, saponin, flavonoid, mimosin, dan tanin.<sup>(14)</sup>

Hasil penelitian sebelumnya melaporkan bahwa terdapat aktivitas antibakteri ekstrak biji lamtoro terhadap bakteri *S. aureus* dengan Kadar Bunuh Minimal (KBM) sebesar 50% menggunakan metode dilusi dengan pelarut etanol 96%.<sup>(14)</sup> Selain itu, aktivitas antibakteri biji lamtoro juga terbukti efektif pada bakteri *Bacillus subtilis* dan *E. coli* dengan Kadar Hambat Minimal (KHM) sebesar 27,36 mg/ml dan 28,65 mg/ml.<sup>(14)</sup> Meskipun beberapa penelitian sebelumnya sudah melaporkan terkait aktivitas antibakteri dari biji lamtoro, tetapi informasi yang disampaikan tersebut belum sempurna karena hanya menggunakan satu jenis pelarut saja yaitu etanol. Pelarut organik lain yang bersifat semipolar seperti

etil asetat belum pernah dilaporkan sebelumnya. Sedangkan untuk aktivitas antijamur dari biji lamtoro sampai saat ini belum diketahui karena terbatasnya penelitian. Oleh sebab itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan fitokimia, aktivitas antibakteri, dan aktivitas antijamur dari ekstrak etil asetat biji lamtoro. Bakteri uji yang akan digunakan adalah bakteri Gram positif yaitu *S. aureus* ATCC 25923 dan *S. mutans* FNCC 0405, serta dua spesies bakteri Gram negatif yaitu *E. coli* ATCC 25922 dan *K. pneumoniae* ATCC 700603 untuk dapat membandingkan daya hambat kedua jenis bakteri Gram positif dan Gram negatif. Sedangkan jamur uji yang digunakan adalah *C. albicans* dan *A. flavus* karena belum ada yang melakukan penelitian. Dengan adanya penelitian ini diharapkan mampu memberikan informasi yang lebih menyeluruh terkait kandungan fitokimia ekstrak biji lamtoro untuk dapat dikembangkan sebagai senyawa antibakteri dan antijamur.

## METODE

### Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan di Laboratorium Analisis Fakultas Pertanian Universitas Warmadewa, Denpasar, Bali. Waktu penelitian ditargetkan selama 1 bulan yaitu, dari Bulan November hingga Desember 2023.

### Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan yaitu tabung reaksi, labu ukur, timbangan, *rotary evaporator*, erlenmeyer, gelas becker, gelas ukur, batang pengaduk, spatula, cawan petri, spritus, *laminar air flow*, *gloves*, seperangkat alat penyaring buchner, jangka sorong, oven, inkubator, inset, vortex, masker, mikropipet, *bluetip*, *cotton swab*, neraca analitik, *cakram disk*, *autoclave*, jarum ose, kapas, dan kertas perkamen.

Bahan-bahan yang digunakan yaitu biji lamtoro, pelarut etil asetat, kultur bakteri *S. aureus* ATCC 25923, *S. mutans* FNCC 0405, *E. coli* ATCC 25922, dan *K. pneumoniae* ATCC 700603, kultur jamur *C. albicans* dan *A. flavus*, media agar,

AlCl<sub>3</sub>, pereaksi Dragendroff, HCl, alkohol, magnesium, FeCl<sub>3</sub>, kuersetin, dan aquades, kertas saring, media cair *Sabouraud Dextrosa Broth* (SDB), media padat *Sabouraud Dextrosa Agar* (SDA), larutan nystatin, dan levofloxacin.

### Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental laboratorium. Dalam penelitian ini metode yang digunakan adalah maserasi dengan menggunakan pelarut etil asetat untuk mengekstrak simplisia biji lamtoro (*L. leucocephala*). Kemudian, ekstrak yang dihasilkan akan dilakukan pengujian skrining fitokimia, antibakteri dan antijamur. Skrining fitokimia yang dilakukan pada penelitian ini adalah skrining alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin. Uji aktivitas antibakteri dan antijamur menggunakan metode Kirby-Bauer.

### Kelaikan Etik

Penelitian ini telah diajukan ke Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Warmadewa. Berdasarkan surat keputusan No. 77/Unwar/FKIK/KEPK/XII/2023 (Lampiran 1), penelitian ini telah dinyatakan laik etik dengan Keterangan Kelaikan Etik Nomor: 373/Unwar/FKIK/EC-KEPK/XII/2023.

### Prosedur Penelitian Pengambilan Sampel

Bahan uji yang digunakan yaitu biji lamtoro yang diperoleh dari Banjar Pilan, Desa Kerta, Kecamatan Payangan, Kabupaten Gianyar, Provinsi Bali. Peta lokasinya terletak di koordinat 8°20'49.6"S 115°16'15.3"E.

### Pembuatan Simplisia

Biji lamtoro tua yang telah dikumpulkan sebanyak 4 kg, dilakukan sortasi basah, kemudian dilakukan pencucian dan pengeringan menggunakan sinar matahari atau oven dengan suhu  $\leq 60^{\circ}$  C. Setelah itu dilanjutkan dengan proses sortasi kering. Simplisia kering yang sudah

bersih kemudian dihaluskan menggunakan mesin penggiling kopi hingga menjadi bubuk halus.

### Metode Ekstraksi

Simplisia dari biji lamtoro (*L. leucocephala*) kering yang digunakan sebanyak 100 gr dilakukan maserasi dengan menggunakan etil asetat dengan volume sebanyak 500 ml sehingga mencapai rasio 1:5 (b/v). Remaserasi dilakukan dengan pelarut yang sama selama 24 jam sambil sesekali diaduk, lalu akan dilakukan pemisahan maserat dari residu menggunakan corong *Buchner* yang selanjutnya diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C.<sup>(14)</sup> Setelah terbentuk ekstrak dari hasil ekstraksi, kemudian lakukan pengenceran dengan konsentrasi 100%, 75%, 50%, dan 25% menggunakan larutan etil asetat.

### Skrining Fitokimia

#### Uji Alkaloid

Sebanyak 0,5 gr ekstrak ditambahkan dengan dua tetes pereaksi Dragendroff, maka akan terbentuk warna merah atau jingga. Adanya senyawa alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna coklat muda atau kuning.

#### Uji Flavanoid

Sebanyak 0,5 gr ekstrak ditambahkan dengan 0,1 gr serbuk magnesium dan 1 ml, asam klorida pekat dan 2 ml alkohol, kemudian dikocok dan dibiarkan memisah. Adanya senyawa flavonoid ditandai jika timbul warna merah, kuning, dan jingga.

#### Uji Saponin

Sebanyak 0,5 gr ekstrak dituangkan ke dalam tabung reaksi, kemudian dicampurkan dengan air panas, lalu dibiarkan dingin, dikocok selama 10-20 detik, dan ditambahkan larutan HCl. Adanya senyawa saponin ditandai dengan terbentuknya busa yang persisten.

#### Uji Tanin

Sebanyak 0,5 gr ekstrak ditambahkan dengan 2-3 tetes larutan FeCl<sub>3</sub> 1%. Adanya senyawa tanin ditandai dengan perubahan

warna menjadi hijau kehitaman atau biru.

### Uji Aktivitas Antibakteri dan Antijamur Ekstrak Biji Lamtoro Sterilisasi Alat

Alat dan bahan yang digunakan dicuci terlebih dahulu, kemudian di keringkan dan dilakukan sterilisasi selama 15 menit pada suhu 121°C di dalam autoklaf.

### Pembuatan Media Luria Bertani (LB)

Media Luria Bertani agar dibuat dengan cara menimbang komposisi media dan dilarutkan pada aquadest sesuai volume yang ditentukan. Selanjutnya media agar disterilkan dengan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C. Media agar yang sudah disterilkan dimasukkan ke dalam cawan petri yang steril dan tunggu sampai memadat.

### Uji Aktivitas Antibakteri

Masing-masing sebanyak 200 µL bakteri uji disuspensikan ke dalam cawan petri berisi LB agar yang sudah dibuat sebelumnya. Suspensi bakteri lalu diratakan menggunakan *cotton swab* steril. Untuk setiap cawan petri dibagi menjadi tiga bagian dengan cara membuat garis dibagian dasar cawan petri. Pada waktu yang bersamaan siapkan masing-masing tiga kertas cakram steril dengan diameter 6 mm untuk satu konsentrasi dan pada setiap kertas cakram akan direndam dengan konsentrasi yang berbeda yaitu 100%, 75%, 50%, 25%, kontrol positif (levofloxacin), dan kontrol negatif (etil asetat) pada kertas cakram yang berbeda. Kertas cakram yang sudah mengandung ekstrak kasar dan larutan kontrol selanjutnya ditempelkan pada LB agar dalam masing-masing cawan petri yang sebelumnya sudah dibagi menjadi tiga kuadran. Cawan petri diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24-48 jam. Adanya daya hambat setelah masa inkubasi dicirikan dari terbentuknya zona halo (bening) pada kertas cakram di sekitar koloni bakteri uji. Diameter zona halo yang terbentuk didapatkan dari rata-rata hasil pengukuran setiap kertas cakram pada jangka sorong digital.

### Pembuatan Media Padat dan Cair

Pembuatan media SDA dilakukan dengan cara sebanyak 19,5 gr serbuk agar SDA ditimbang dan dilarutkan dengan 300 ml aquadest lalu campuran tersebut dipanaskan. Sedangkan untuk membuat media cair SDB dilakukan dengan cara memanaskan 3,25 gr bubuk SDA dan dilarutkan dengan 50 ml aquadest. Selanjutnya media padat dan cair disterilkan dengan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C.

### Pembuatan Stok Jamur

Stok jamur diperbanyak dengan menginokulasikan dan menggoreskan masing-masing 1 jarum ose biakan murni *C. albicans* dan *A. flavus* pada media agar miring SDA, lalu dimasukkan ke dalam inkubator untuk diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37°C. Proses peremajaan kultur stok fungi *C. albicans* dan *A. flavus* dilakukan dengan cara yaitu mempersiapkan masing-masing sebanyak 50 mL media cair SDB steril, lalu ditambah dengan 1 ose fungi *C. albicans* dan *A. flavus* yang sebelumnya didapat dari media agar miring secara aseptis dan divortex hingga tercampur secara keseluruhannya. Selanjutnya dimasukkan ke dalam inkubator selama 24-48 jam dengan suhu 37°C.

### Uji Aktivitas Antijamur

Sebanyak 100 µL jamur uji disuspensikan ke dalam media SDA agar pada cawan petri dan disebar merata menggunakan *cotton swab* steril. Setiap SDA agar dibagi menjadi tiga bagian dengan cara membuat garis dibagian dasar cawan petri. Kemudian, pada waktu yang bersamaan disiapkan masing-masing tiga kertas cakram dengan diameter 6 mm untuk satu konsentrasi dan direndam pada konsentrasi yang berbeda yaitu 100%, 75%, 50%, 25%. Kontrol positif pada skrining ini menggunakan antijamur nystatin dan kontrol negatif adalah pelarut etil asetat, masing-masing disiapkan secara triplikat. Seluruh cawan petri diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24-48 jam. Adanya zona hambat ditandai dengan area bening di

sekeliling cakram pada permukaan media padat yang diukur dengan jangka sorong dalam satuan milimeter (mm).

## HASIL

### Ekstraksi Biji Lamtoro

Proses ekstraksi dilakukan sebanyak dua kali karena ekstrak kental yang dihasilkan pada maserasi pertama kurang memadai sehingga dilakukan ekstraksi kedua. Pada ekstraksi yang pertama, simplisia biji lamtoro sebanyak 100 gr dimaserasi menggunakan 500 ml etil asetat dengan perbandingan 1:5 (b/v) menghasilkan ekstrak kental biji lamtoro sebanyak 4,2 gr. Pada ekstraksi yang kedua, simplisia biji lamtoro sebanyak 200 gr dimaserasi menggunakan 1000 ml etil asetat dan menghasilkan 12 gr ekstrak.

### Skrining Fitokimia

Pada uji skrining fitokimia senyawa yang diuji meliputi alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin. Berdasarkan tabel 1, hasil skrining fitokimia ekstrak etil asetat biji lamtoro menunjukkan hasil positif pada senyawa flavonoid dan tanin kemudian senyawa saponin positif pada ekstrak tanpa pengenceran dan negatif pada ekstrak dengan pengenceran. Senyawa alkaloid menunjukkan hasil negatif sehingga tidak terjadi perubahan warna pada tabung reaksi. Senyawa flavonoid menunjukkan hasil positif dengan perubahan warna menjadi kuning. Senyawa tanin menunjukkan hasil positif dengan perubahan warna menjadi hijau pekat kehitaman pada ekstrak tanpa pengenceran dan berwarna kuning pekat pada ekstrak yang dengan pengenceran. Senyawa saponin menunjukkan hasil positif pada senyawa tanpa pengenceran saja dengan terbentuknya busa yang persisten.

Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Biji Lamtoro

Jenis Uji	Tanpa Pengenceran	Dengan Pengenceran
Alkaloid	-	-
Flavonoid	+	+
Saponin	+	-
Tanin	+	+

### Skrining Aktivitas Antibakteri

Hasil pengujian menunjukkan bahwa seluruh konsentrasi ekstrak etil asetat biji lamtoro tidak mempunyai daya hambat antibakteri terhadap bakteri Gram positif maupun Gram negatif (Tabel 2). Kontrol

positif levofloxacin pada masing-masing uji bakteri menunjukkan aktivitas antibakteri dengan kategori yang sangat kuat ( $< 20$  mm), sedangkan tidak ditemukan aktivitas antibakteri pada kontrol negatif etil asetat.

Tabel 2. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Biji Lamtoro

No	Konsentrasi dan Kontrol	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>S. mutans</i> FNCC 0405	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>K. pneumoniae</i> ATCC 700603
1.	100%	0	0	0	0
2.	75%	0	0	0	0
3.	50%	0	0	0	0
4.	25%	0	0	0	0
5.	Levofloxacin	19,58±0,74	20,33±0,49	19,39±0,14	20,92±0,80
6.	Etil Asetat	0	0	0	0

### Skrining Aktiitas Antijamur

Berdasarkan hasil pengujian tidak ditemukan daya hambat aktivitas antijamur pada seluruh konsentrasi ekstrak etil asetat biji lamtoro terhadap jamur *C. albicans* dan *A. flavus* (Tabel 3). Kontrol positif nystatin

pada masing-masing jamur uji menunjukkan daya hambat dengan kategori sangat kuat ( $< 20$  mm) dan pada kontrol negatif etil asetat tidak ditemukan daya hambat terhadap jamur uji.

Tabel 3. Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Etil Asetat Biji Lamtoro

No	Konsentrasi dan Kontrol	<i>C. albicans</i>	<i>A. flavus</i>
1.	100%	0	0
2.	75%	0	0
3.	50%	0	0
4.	25%	0	0
5.	Nystatin	10,63±1,07	10,69±0,13
6.	Etil asetat	0	0

## PEMBAHASAN

### Pembuatan Simplisia dan Ekstraksi Biji Lamtoro

Pembuatan simplisia diawali dengan pengumpulan biji lamtoro tua sebanyak 4 kg karena senyawa metabolit sekunder lebih banyak terdapat pada jaringan yang tua. Setelah itu biji dipilih melalui proses sortasi basah untuk memisahkan dari biji yang tidak layak pakai, kotoran dan hama yang menempel. Seluruh biji yang sudah disortasi dilakukan proses pencucian

menggunakan air mengalir, lalu ditiriskan sebentar dan dikeringkan menggunakan oven. Simplisia yang sudah kering nantinya dihaluskan menggunakan mesin penggiling agar memudahkan proses ekstraksi.

Ekstraksi merupakan suatu metode pelepasan bahan kimia yang memiliki tujuan untuk mengekstrak atau mengambil senyawa kimia yang ada dalam simplisia suatu tanaman. Pada penelitian ini metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi. Pemilihan pelarut dalam metode ekstraksi

sangat mempengaruhi perolehan hasil zat aktif dan proses ekstraksi dapat berjalan optimal.<sup>(15)</sup> Pelarut yang digunakan pada ekstraksi ini adalah etil asetat yang berwarna bening, memiliki bau khas, dan memiliki sifat semi polar sehingga mampu menarik senyawa polar dan non-polar. Kelebihan dari etil asetat juga mempunyai efek toksik yang rendah dan mudah menguap.<sup>(16)</sup> Setelah dilakukan proses maserasi dan remaserasi, dilanjutkan dengan penguapan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 50°C sehingga nantinya memperoleh ekstrak kental dari biji lamtoro.

### Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Biji Lamtoro

Identifikasi senyawa bioaktif yang terdapat dalam ekstrak sehingga dapat menggambarkan golongan senyawa yang terdapat dalam suatu tanaman yang sedang dianalisis dapat dilakukan dengan skrining fitokimia.<sup>(17)</sup> Biji lamtoro diketahui memiliki kandungan senyawa aktif seperti flavonoid, tanin, saponin, alkaloid dan mimosin berdasarkan penelitian yang sudah pernah dilakukan sebelumnya.<sup>(18)</sup> Berdasarkan penelitian yang pernah dilakukan oleh Adriana *et al*<sup>(19)</sup>, hasil skrining fitokimia pada ekstrak etanol daun lamtoro ditemukan mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, senyawa fenolik, triterpenoid dan tanin. Hal ini menunjukkan adanya perbedaan pada hasil skrining fitokimia ekstrak etil asetat biji lamtoro yang dilakukan pada penelitian ini yaitu pada biji lamtoro tidak ditemukannya senyawa alkaloid. Hal ini diduga karena daun adalah bagian utama dari tumbuhan yang memiliki fungsi untuk proses metabolisme sehingga menyebabkan metabolit sekunder lebih banyak dan optimal terdapat pada daun.<sup>(20)</sup>

Skrining fitokimia ekstrak etil asetat biji lamtoro pada penelitian ini dilakukan dengan dua metode yaitu tanpa pengenceran dan dengan pengenceran. Hal ini dilakukan karena ekstrak kental yang diperoleh dari hasil ekstraksi biji lamtoro sangat pekat sehingga jika tidak dilakukan pengenceran dikhawatirkan hasilnya akan

dominan berwarna hijau dan menyebabkan bias. Untuk mencegah hal tersebut pada penelitian ini dilakukan metode pengenceran dan tanpa pengenceran untuk membandingkan hasilnya. Hasil skrining fitokimia ekstrak etil asetat biji lamtoro tanpa pengenceran dan dengan pengenceran menunjukkan hasil yang hampir sama, perbedaannya hanya terlihat pada senyawa saponin. Ekstrak etil asetat biji lamtoro terbukti positif mengandung senyawa flavonoid yang ditandai munculnya perubahan warna menjadi kuning jingga. Umumnya, flavonoid diketahui membentuk ikatan dengan gula menjadi glikosida sehingga senyawa ini mudah larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, dan juga efisien untuk menarik senyawa semipolar seperti etil asetat.<sup>(16)</sup> Oleh karena itu, senyawa flavonoid dapat tertarik ke ekstrak etil asetat biji lamtoro. Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat biji lamtoro positif mengandung senyawa tanin yang ditandai dengan munculnya perubahan warna hijau kehitaman. Tanin adalah senyawa fenolik dengan gugus hidroksi (-OH) aromatis. Gugus tersebut akan bereaksi dengan FeCl<sub>3</sub> membentuk warna merah, ungu, biru, atau hitam pekat.<sup>(21)</sup> Walaupun demikian, pelarut etil asetat juga memiliki kemampuan untuk menarik senyawa tanin yang terkandung dalam biji lamtoro karena diperkirakan gugus hidroksil yang terdapat pada senyawa tanin dapat membentuk ikatan dengan gugus metoksil atau gugus hidroksil yang ada pada pelarut etil asetat.<sup>(17)</sup>

Senyawa saponin hanya terbukti positif pada ekstrak biji lamtoro yang tanpa pengenceran sedangkan yang dengan pengenceran negatif. Hal ini disebabkan karena pada ekstrak yang diencerkan kandungan biji lamtoronya lebih sedikit daripada yang tidak diencerkan sehingga senyawa saponin tidak dapat terdeteksi pada ekstrak yang kandungan biji lamtoronya sedikit. Saponin mempunyai dua gugus berbeda yaitu hidrofilik dan hidrofobik. Letak gugus penyusun dari senyawa saponin bisa mengalami perubahan akibat terjadinya peningkatan

kepolaran yang dapat disebabkan oleh penambahan larutan HCL. Struktur misel dapat terbentuk dari gugus hidrofilik yang mengarah ke luar dan gugus hidrofobik yang mengarah ke dalam.<sup>(16)</sup> Hal inilah yang menyebabkan timbulnya busa dalam ekstrak yang mengandung saponin. Senyawa lain yang tidak terkandung dalam ekstrak etil asetat biji lamtoro berdasarkan hasil penelitian adalah alkaloid. Pengujian alkaloid menunjukkan hasil negatif terbukti dari tidak terbentuknya endapan pada ekstrak.<sup>(19)</sup>

Alkaloid adalah senyawa yang memiliki sifat basa. Jika alkaloid diuji menggunakan reagen Mayer, Dragendrof, Wagner maka akan menyebabkan munculnya endapan jika positif mengandung alkaloid.<sup>(19)</sup> Suatu ekstrak dikatakan tidak mengandung senyawa alkaloid bila tidak terbentuk endapan berwarna putih pada reagen Mayer, coklat kemerahan pada pereaksi Wagner atau jingga pereaksi Dragendrof.<sup>(17)</sup> Ekstrak etil asetat biji lamtoro pada penelitian ini tidak memiliki kandungan senyawa alkaloid diduga karena pada pelarut etil asetat terdapat ikatan hidrogen yang memiliki struktur lebih lemah dibandingkan dengan pelarut yang bersifat polar sehingga tidak memiliki kemampuan untuk menarik senyawa alkaloid yang ada di dalam biji lamtoro.

### **Skrining Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Biji Lamtoro**

Hasil penelitian ini menunjukkan seluruh konsentrasi yaitu 100%, 75%, 50%, 25% dari ekstrak etil asetat biji lamtoro dengan 3 kali pengulangan menunjukkan tidak terbentuknya zona bening disekitar kertas cakram yang menandakan tidak adanya daya hambat antibakteri terhadap bakteri Gram positif *S. aureus* ATCC 25923 dan *S. mutans* FNCC 0405, serta bakteri Gram negatif *E. coli* ATCC 25922 dan *K. pneumoniae* ATCC 700603.

Berdasarkan hasil skrining fitokimia ekstrak etil asetat biji lamtoro menunjukkan bahwa biji lamtoro memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, saponin, dan tanin. Hasil

penelitian menyebutkan bahwa senyawa metabolit sekunder tersebut mempunyai cara kerja khusus yang dapat mencegah serta membunuh bakteri.<sup>(22)</sup> Namun, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat biji lamtoro tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji Gram positif maupun Gram negatif. Penelitian sebelumnya melaporkan terbentuknya zona hambat antibakteri biji lamtoro terhadap bakteri Gram positif yaitu *S. aureus* dan Gram negatif yaitu *E. coli* yang diekstraksi menggunakan pelarut etanol, air, dan heksana.<sup>(12)</sup> Pada penelitian tersebut zona hambat ekstrak biji lamtoro terhadap bakteri *E. coli* lebih kecil daripada bakteri *S. aureus*. Hal ini dimungkinkan karena *E. coli* merupakan bakteri Gram negatif yang secara umum memiliki struktur dinding sel yang lebih kompleks dibandingkan bakteri Gram positif. Penelitian yang dilakukan oleh Megariani *et al* <sup>(23)</sup> melaporkan bahwa selain bijinya, ekstrak etanol dari daun lamtoro juga memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli* pada konsentrasi 100%. Penelitian lain juga melaporkan bahwa ekstrak etanol biji lamtoro membentuk KHM terhadap *Bacillus subtilis* sebesar 24,3 mg/ml dan KHM sebesar 25,7 mg/ml pada *E. coli* berdasarkan metode dilusi cair.<sup>(24)</sup> Ketidakselarasan hasil penelitian yang diperoleh terjadi karena pelarut etanol dan air lebih baik daripada etil asetat yang digunakan dalam penelitian ini dalam menarik senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam biji lamtoro. Hasil ini juga mengindikasikan bahwa senyawa yang terdapat pada ekstrak biji lamtoro cenderung bersifat polar sehingga kurang cocok untuk pelarut yang bersifat semi polar maupun nonpolar.

### **Skrining Aktivitas Antijamur Ekstrak Etil Asetat Biji Lamtoro**

Hasil penelitian ekstrak etil asetat biji lamtoro dengan konsentrasi 100%, 75%, 50%, dan 25% pada kedua jenis jamur uji yaitu *C. albicans* dan *A. flavus* tidak menunjukkan adanya aktivitas antijamur. Hasil penelitian menyebutkan bahwa senyawa metabolit sekunder seperti



flavonoid, saponin, dan tanin yang terdapat dalam suatu tanaman mempunyai kemampuan sebagai antijamur dengan mekanisme yang berbeda-beda. Namun, senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak etil asetat biji lamtoro ini tidak mampu menghambat pertumbuhan jamur uji diduga karena kadar dari masing-masing senyawa metabolit sekunder tersebut belum mencukupi untuk menghambat pertumbuhan jamur.<sup>(25)</sup>

Komponen lain yang mempengaruhi daya hambat antijamur ekstrak etil asetat biji lamtoro kemungkinan disebabkan karena pelarut etil asetat yang digunakan tidak mampu menarik senyawa metabolit sekunder spesifik yang berfungsi sebagai antijamur karena perbedaan kepolarannya.<sup>(26)</sup> Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Zain *et al* <sup>(27)</sup>, ekstrak etil asetat biji buah kupa (*Syzygium polycephalum*) pada konsentrasi 100% mampu menghambat *C. albicans* dengan diameter zona hambat sebesar 6,69 mm. Kemudian, penelitian Mierza *et al* <sup>(28)</sup> juga menyebutkan bahwa pada ekstrak etil asetat biji salak (*Salacca zalacca*) memiliki aktivitas antijamur terhadap *C. albicans* dengan terbentuknya zona hambat sebesar 19,41 mm. Berdasarkan perbandingan beberapa penelitian tersebut ketidaksesuaian hasil yang diperoleh pada penelitian ini dikarenakan kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak biji lamtoro diduga lebih bersifat polar sehingga tidak terekstraksi dengan baik menggunakan pelarut semi polar maupun non polar. Pada sisi lain, ekstrak biji salak dan biji kupa memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yang lebih bersifat semipolar sehingga mampu terekstraksi dengan sempurna menggunakan pelarut etil asetat.

Pada penelitian ini kontrol positif yang digunakan adalah nystatin karena merupakan golongan obat antijamur dengan mekanisme kerja mampu mengikat ergosterol secara *irreversible* yang merupakan bagian utama dari dinding sel jamur.<sup>(29)</sup> Nystatin dalam konsentrasi yang optimal mampu membentuk suatu lubang pada membran sel jamur sehingga dapat

mengakibatkan bocornya kalium dan matinya sel jamur.<sup>(29)</sup> Sementara kontrol negatif yang digunakan adalah etil asetat yang berfungsi sebagai pembanding dalam skrining antijamur.<sup>(30)</sup> Hasil yang didapatkan dari uji kontrol negatif telah sesuai harapan bahwa tidak ditemukan aktivitas antijamur. Penggunaan kontrol negatif menjadi parameter yang wajib ditambahkan pada setiap pengujian skrining aktivitas biologi yang menyesuaikan dengan jenis pelarut yang digunakan pada tahap ekstraksi.<sup>(30)</sup>

Keterbatasan dari penelitian hanya menggunakan pelarut etil asetat untuk mengekstraksi senyawa metabolit sekunder dari biji lamtoro. Padahal, beberapa penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa pelarut lain seperti etanol, air, dan heksana mampu mengekstraksi senyawa aktif dengan lebih baik. Hal ini dapat mempengaruhi hasil uji aktivitas antibakteri dan antijamur, karena kandungan senyawa polar mungkin tidak terekstraksi dengan baik menggunakan pelarut semi-polar seperti etil asetat.

## SIMPULAN

Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak etil asetat biji lamtoro yaitu flavonoid tanin, dan saponin. Sedangkan untuk aktivitas antibakteri dan antijamur pada seluruh konsentrasi tidak menunjukkan adanya daya hambat antibakteri dan antijamur pada ekstrak etil asetat biji lamtoro terhadap bakteri dan jamur uji. Untuk itu, penelitian selanjutnya sebaiknya mengeksplorasi potensi antibakteri dan antijamur dari biji lamtoro dengan menggunakan pelarut organik lainnya seperti etanol, metanol, dan air. Selain itu juga penelitian mendatang dapat difokuskan untuk mempelajari kandungan senyawa fitokimia secara kuantitatif menggunakan metode GC/MS atau LC/MS pada ekstrak biji lamtoro.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada berbagai pihak yang

telah membantu proses penyelesaian penelitian ini. Penelitian ini dapat terlaksana atas dukungan hibah penelitian dari unit Penelitian FKIK Unwar no 163/Unwar/FKIK/Unit-Penelitian/PD-13/VIII/2023 yang diberikan kepada Anak Agung Gede Indraningrat.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. Novard MFA, Suharti N, Rasyid R. Gambaran Bakteri Penyebab Infeksi pada Anak Berdasarkan Jenis Spesimen dan Pola Resistensinya di Laboratorium RSUP Dr. M. Djamil Padang Tahun 2014-2016. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 2019; 8(2): 26-7.
2. Andiarna F, Hidayati I, Agustina E. Pendidikan Kesehatan tentang Penggunaan Antibiotik secara Tepat dan Efektif sebagai Upaya Mengatasi Resistensi Obat. *Journal Of Community Engagement and Employment*. 2020; 2(1): 15-6.
3. Kalsum & Ayu. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Umbi Wortel (*Daucus carota L.*) sebagai Antifungi terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*. *Warta Farmasi* 2019; 8(2): 71- 80.
4. Yunita SL, Atmadani RN, Titani M. Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Pengetahuan dan Perilaku Penggunaan Antibiotika pada Mahasiswa Farmasi Universitas Muhammadiyah Malang. *Pharmaceutical Journal Of Indonesia*. 2021; 63(2): 119- 23.
5. Sumampouw OJ. Uji Sensitivitas Antibiotik terhadap Bakteri *Escherichia Coli* Penyebab Diare Balita Di Kota Manado. *Journal Of Current Pharmaceutical Sciences*. 2018; 2(1): 105-6.
6. Azkiyah SZ. Pengaruh Uji Antibakteri Ekstrak Rimpang Jahe terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus Aureus* dan *Escherichia Coli In Vitro*. *Jurnal Farmasi Tinctura*. 2020; 1(2): 71-3.
7. Alim Alim MKA, Purwanta M, Setiawati Y. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Lamtoro (*Leucaena Leucocephala*) terhadap *Staphylococcus Aureus* dengan Metode Dilusi. *Jurnal Ilmiah Indonesia*. 2022; 2(2): 282-3.
8. Aderibigbe SA, Adetunji OA, Odeniyi MA. Antimicrobial and Pharmaceutical Properties of The Seed Oil *Leucaena leucocephala (Lam.) De Wit (Leguminosae)*. *Afr. J. Biomed*. 2011; 14(1): 63-8.
9. EritriEritriana RE, Rosiana AH, Tantri Y, Ekayamti E. Efektivitas Ekstrak Daun Lamtoro (*Leucaena Leucocephala*) sebagai Alternatif Penyembuhan Luka Abrasi. *Jurnal Penelitian Kesehatan Suara Forikes*. 2019; 10(4): 290-1.
10. RachRachma YA, Indrati R, Supriyadi. Karakteristik Perkecambahan Biji Lamtoro [*Leucaena leucocephala (Lam.) de Wit*] dan Perubahan Nilai Gizi Kecambah dengan Perlakuan Skarifikasi. *Buletin Anatomi dan Fisiologi*. 2022; 7(1): 12.
11. Elbanoby NE, Settawy AAAE, Mohamed AA, Salem MZM. Phytochemicals Derived from *Leucaena Leucocephala (Lam.) De Wit (Fabaceae)* Biomass and Their Antimicrobial and Antioxidant Activities: HPLC Analysis of Extracts. *Biomass Conversion and Biorefinery*. 2022
12. Rosida DF. Lamtoro Gung, Produk, Sifat Fungsional, dan Manfaatnya. Sidoarjo: Indomedia Pustaka. 2022; 1-5.
13. Soares AMDS, Araujo SA, Lopes SG, Junior LMC. Anthelmintic Activity of *Leucaena leucocephala* Protein Extracts on *Haemonchus contortus*. *Jaboticaba*. 2015; 24(4): 396-8.
14. Sari VP, Retnowati W, Setiawati Y. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Petai Cina (*Leucaena leucocephala*) terhadap *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala*. 2020; 20(2): 85-7.
15. Rivai H, Putra RY, Krisnayella. Penentuan Pengaruh Jenis Pelarut Pengekstrak Terhadap Perolehan

- Kadar Senyawa Fenolat dan Aktifitas Antioksidan dari Daun Jambu Biji (*Psidium guajava L.*). Jurnal Farmasi Higea. 2021; 4(1): 16-21.
16. Sri Y, Kusnadi, Purgiyanti. Pengaruh Perbedaan Pelarut terhadap Profil Kromatografi Lapis Tipis pada Ekstrak Rimpang Kencur (*Kaempferia galanga L.*). Jurnal Politeknik Harapan Bersama. 2019; 1-12.
17. Putri DB, Lubis SS. Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Daun Kalayu (*Erioglossum rubiginosum (Roxb.) Blum*). AMINA.2020; 2(3): 120-6.
18. Adelia Y, Iskandar D. Uji Efektivitas Ekstrak Biji Lamtoro (*Leucaena leucocephala*) sebagai Insektisida terhadap Kecoa Amerika (*Periplaneta americana*). Jurnal Riset Kimia. 2020; 11(2): 72–79.
19. Adriana Y, Komarudin D, Nusantara BB, Sadikin M. Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Lamtoro (*Leucaena leucocephala*) terhadap Bakteri *Shigella flexneri* dan *Escherichia coli* dengan Metode Difusi Sumuran. IONTech.2023; 4(1): 13-22.
20. Pertiwi M, Wulandari KK, Rodja HA, Urjiyah UG, Fibriani E, Putri FA. Teknik Diagnostik Konvensional dan Lanjutan Untuk Infeksi Bakteri dan Resistensi Antibakteri di Indonesia. Widya Biologi. 2021; 12 (2): 99-100.
21. Hidjrawan Y. Identifikasi Senyawa Tanin pada Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*). Jurnal Optimalisasi. 2018; 4(2): 79.
22. Fitriani E. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata L.*) Terhadap *Shigella flexneri* Secara In Vitro. Jurnal Universitas Tanjungpura. 2014; 1-9.
23. Megariani MA, Rini DI, Setianingrum ELS. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Lamtoro (*Leucaena Leucocephala (Lam.) De Wit*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia Coli Secara In Vitro*. Cendana Medical Journal.2020; 19(1): 66-9.
24. Usman SK. Aktivitas Antioksidan Dan Antibakteri Ekstrak Biji Lamtoro (*Leucaena leucocephala*). Universitas Jember. 2016; 28-9.
25. Tedjo MA. Uji Aktivitas Antijamur Infusa Daun Mangga Bacang (*Mangifera foetida L.*) Terhadap Pertumbuhan Jamur *Trichophyton rubrum*. Jurnal Universitas Tanjungpura. 2015; 8-13.
26. Megawati EP, Khotimah S, Bangsawan PI. Uji Aktivitas Antifungi Ekstrak Etanol Daun Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa (Aiton) Hassk*) Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans* secara In Vitro. Jurnal Tanjungpura. 2020; 9-13.
27. Zain DN, Yuliana A. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Buah Kupa (*Syzygium polycephalum Miq.*) terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans*. STIKes Bakti Tunas Husada Tasikmalaya. 2021; 140-6.
28. Mierza V et al. Analisis Kromatografi Lapis Tipis Dan Aktivitas Antimikroba Ekstrak N-Heksana, Etil Asetat dan Etanol Biji Salak (*Salacca zalacca (Gaertn.) Voss*). Jambura Journal Of Health Science And Research. 2023; 5(2): 591-8.
29. Permataningrum NI, Dewi LR, Prihanti AM. Daya Hambat Ekstrak Daun Kakao (*Theobroma Cacao L.*) terhadap Pertumbuhan *Candida Albicans*. e-Journal Pustaka Kesehatan. 2019; 7(3): 142-5.
30. Kumayas AR, Wewengkang DS, Sudewi S. Aktifitas Antibakteri dan Karakteristik Gugus Fungsi dari *Tunikata Polycarpa Aurata*. PHARMACON. 2020; 4(1): 33-7.