

UJI FITOKIMIA, TOKSISITAS DAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI TERHADAP EKSTRAK ETANOL DAUN RAMBUSA (*Passiflora foetida* L.) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli*

Noviyanti Y, Subur P. Pasaribu, Daniel Tarigan

Program Studi Kimia FMIPA Universitas Mulawarman
Jalan Barong Tongkok No. 4 Kampus Gunung Kelua Samarinda, 75123

ABSTRACT

Phytochemical tests were conducted, *brine shrimp lethality test* / BSLT and antibacterial activity test of the coarse extract and fractions from the Rambusa leaves (*Passiflora foetida* L.) derived from Samarinda, East Kalimantan. Rambusa leaf samples (*Passiflora foetida* L.) was extracted by ethanol, then concentrated using rotary evaporator. Then fractionated by using *n*-hexane and ethyl acetate solvent. According the test results, phytochemical compounds of secondary metabolites has contained alkaloids and steroidal compounds, triterpenoids. Within the antibacterial activity test using *Staphylococcus aureus* (Positive gram) and *Escherichia coli* (Negative Gram) using the discs method. This test using concentration in 1%, 5%, 10%, 15%, 20% resulted that the most active fraction is the fraction of *n*-hexane with minimum inhibitory rate was 1% and brine shrimp lethality test within concentration in 1000; 500; 250; 125; 62.5; 31.25; 15.625; 7,8125 ppm showing larval lethality of *Artemia salina* (L.) using SAS probit analysis to determine the value of Lethal Concentration 50% (LC₅₀). This test resulted that the most active fraction is the fraction of *n*-hexane with 133.7473 ppm of LC₅₀ values .

Keywords : *Passiflora foetida* L. , phytochemical test , test antibacterial activity , bacterial and LC₅₀

A. PENDAHULUAN

Negara Indonesia adalah salah satu negara terbesar atau mega diversity untuk tanaman obat di dunia. Berbagai macam jenis tanaman yang ada di dunia banyak ditemui di Indonesia dan telah banyak dipergunakan dalam pengobatan tradisional secara turun-menurun dalam berbagai etnis [1]. Dalam pengobatan tradisional ini sendiri, sebagian besar racikan berasal dari tumbuh-tumbuhan baik berupa akar, kayu, daun, buah, bunga dan bijinya. Dan pengobatan tradisional ini adalah untuk menangani berbagai penyakit. Salah satunya adalah penyakit diabetes, asma, infeksi, demam, dan lain-lainnya. Penelitian-penelitian pencarian bahan antibakteri telah banyak dilakukan terutama dari berbagai jenis tumbuhan rempah-rempah. Tumbuhan yang digunakan untuk obat tradisional dapat dijadikan alternatif pencarian zat anti bakteri, karena pada umumnya memiliki senyawa aktif yang berperan dalam bidang kesehatan [2]. Infeksi merupakan penyakit yang dapat ditularkan dari satu orang ke orang lain atau dari hewan ke manusia. Penyakit infeksi dapat disebabkan oleh bakteri, jamur, virus dan parasit [3]. Senyawa bakteri adalah suatu senyawa yang memiliki kemampuan untuk mencegah terjadinya pertumbuhan dan reproduksi bakteri. Pada tumbuhan, senyawa

antibakteri biasanya terdapat pada bagian tanaman seperti daun, batang, buah, dan lain-lain. Dan antibakteri ini dipergunakan untuk menghilangkan bakteri yang berpotensi membahayakan bagi kesehatan yang bersifat patogen yakni antara lain bakteri *S. aureus* dan bakteri *E. coli* [4]. Salah satu tanaman obat yang digunakan adalah rambusa. Tanaman ini sendiri adalah tanaman *Passiflora foetida* yaitu sejenis buah markisah yang mungil. Untuk itu diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai aktifitas antibakteri terhadap daun rambusa (*Passiflora foetida* L.).

Fraksi manakah yang paling aktif terhadap larva udang (*Artemia salina* (L)) melalui uji mortalitas larva udang (*Brine shrimp lethality test*)? Pada konsentrasi berapakah ekstrak yang memiliki daya hambat efektif terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*?

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi berupa informasi tentang daya antibakteri sehingga dapat dimanfaatkan sebagai pertimbangan terhadap penelitian lain yang berkaitan dengan tumbuhan tradisional atau sebagai strategi dalam pengembangan obat tradisional.

B. METODOLOGI PENELITIAN

2.1. Alat dan Bahan

Alat yang di gunakan adalah corong pemisah, corong, kertas saring, spatula, gelas kimia, erlemeyer, cawan petri, botol kecil, pipet tetes, gelas ukur, balp, pinset, oven, tisu, kapas, kain kasa, neraca analitik, pipet mikro, autoklaf, stirer magnet, kawat platina, tabung reaksi, lampu, tiang statif dan klem.

Bahan yang di gunakan adalah Etanol, n-heksana, akuades, aseton, etil asetat H₂SO₄ 2M, HCl pekat, CHCl₃, asam asetat glasial, H₂SO₄ pekat, FeCl₃ 1%, serbuk Mg, reagen dragendorf, backtoagar, yeast, pepton, natrium klorida, bakteri *Staphylococcus aureus*

dan *Escherichia coli*, KI, DMSO, air laur, dan larva udang.

2.2. Ekstraksi Senyawa Metabolit Sekunder

Sampel yang telah halus, dimaserasi dengan menggunakan pelarut etanol dan dilakukan ekstraksi berulang-ulang hingga larutan ekstrak tidak berwarna lagi. Selanjutnya, ekstrak tersebut disaring dan pelarut diuapkan dengan rotari evaporator sehingga diperoleh ekstrak kasar etanol. Ekstraksi pelarut atau sering disebut dengan ekstraksi cair merupakan metode pemisahan atau pengambilan zat terlarut dalam larutan dengan menggunakan pelarut lain biasanya menggunakan pelarut organik, ekstraksi pelarut merupakan metode yang paling baik dan populer, karena metode ini dapat dilakukan baik dalam tingkat makro maupun mikro, tidak memerlukan alat canggih atau khusus, bersifat sederhana, cepat, mudah, serta tidak memerlukan waktu lama [5]. Berdasarkan mekanisme kerja antimikroba secara umum dapat dikelompokkan kedalam 4 kelompok utama yaitu antibakteri yang menghambat sintesis dinding sel bakteri, antibakteri yang menghambat fungsi membran dinding sel bakteri, antibakteri yang menghambat sintesis protein sel bakteri, antibakteri yang menghambat sintesis asam nukleat [6].

2.3. Fraksinasi

Ekstrak kasar etanol difraksinasi berdasarkan perbedaan kepolaran pelarut-pelarut organik. Caranya adalah sebagai berikut: ekstrak kasar yang sudah bebas etanol ditambahkan campuran etanol dan air dengan perbandingan 6:4 (v/v). selanjutnya difraksinasi dengan *n*-heksana di dalam corong pisah, hingga diperoleh 2 fraksi, yaitu fraksi etanol-air dan fraksi *n*-heksana. Fraksi *n*-heksana dipekatkan dengan rotari evaporator dan disebut ekstrak fraksi *n*-heksana.

Selanjutnya fraksi etanol-air difraksinasi dengan penambahan etil asetat. Dari fraksinasi kedua ini diperoleh 2 fraksi, yaitu fraksi etil asetat dan fraksi etanol-air. Kemudian kedua fraksi tersebut dipekatkan dengan rotari evaporator dan hasilnya masing-masing disebut ekstrak fraksi etil asetat dan ekstrak fraksi etanol-air.

2.4. Uji Fitokimia

2.4.1. Uji Alkaloid (Uji Dragendorff-Meyer)

Larutan uji hasil ekstraksi di tambahkan 2 tetes pereaksi Dragendorff (campuran $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dalam asam nitrat dan larutan KI). Terbentuknya endapan jingga sampai merah coklat menunjukkan positif alkaloid [7].

2.4.2 Uji Flavonoid

Larutan uji hasil ekstraksi ditambahkan sedikit serbuk Mg dan 1 ml HCl pekat, kemudian dikocok-kocok. Terbentuknya warna merah, jingga atau ungu menunjukkan positif flavonoid [7].

2.4.3. Uji Triterpenoid dan Steroid (Uji Lieberman Buchard)

Larutan uji hasil ekstraksi dilarutkan dalam pelarutnya kemudian ditambahkan reagen Lieberman Buchard (asetat glasial + H_2SO_4 pekat). Larutan dikocok perlahan dan di biarkan selam beberapa menit. Triterpenoid memberikan warna merah atau ungu dan Steroid memberikan warna biru atau hijau [8].

2.4.4. Uji Saponin

Larutan uji hasil ekstraksi dikocok kuat-kuat, jika terbentuk busa dengan ketinggian 1-10 cm dan bertahan selama 10 menit. Ini menunjukkan positif saponin [8].

2.4.5. Uji Fenolik

Larutan uji hasil ekstraksi ditambahkan beberapa tetes FeCl_3 1% dalam air atau etanol. Terbentuknya warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam pekat menunjukkan positif fenolik [8].

2.4.6. Uji Aktifitas Antibakteri

Dilakukannya pengujian aktifitas antibakteri yakni adalah secara in vitro dengan menggunakan metode cakram kertas yang berdiameter 5 mm. bakteri uji yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus* (bakteri Gram positif) dan bakteri *Escherichia coli* (bakteri Gram negatif). Sebagai kontrol digunakan pelarut aquades dan kloramfenikol.

2.5. Sterilisasi Alat dan Bahan

Erlenmeyer, tabung reaksi, cawan petri, media agar, dan seluruh alat dan bahan (kecuali ekstrak daun rambusa) yang akan digunakan disterilisasi didalam autoklaf sekitar 20 menit dengan memakai pengaturan tekanan sebesar 15 dyne/cm³ (1 atm) dan suhu sebesar 121°C lalu sebelumnya dicuci bersih, dikeringkan dan dibungkus dengan kertas.

2.6. Regenerasi Bakteri

Biakan murni bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* terlebih dahulu diregenerasi. Diambil sebanyak 1-2 ose isolat menggunakan jarum ose steril masing-masing di inokulasi kedalam 10 ml media agar miring dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Kemudian selanjutnya biakan bakteri dapat digunakan untuk uji aktifitas antibakteri.

2.7. Pembuatan Media Nutrient Agar (NA)

Sebanyak 23 gram NA disuspensikan dalam 1000 ml aquades lalu dipanaskan sampai larut. Kemudian disterilisasi dalam autoklaf selama 20 menit pada suhu 120°C.

2.8. Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dengan menggunakan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dilakukan secara aseptik dengan menggunakan metode difusi agar. Kemudian ekstrak tersebut diencerkan dengan menggunakan DMSO lalu ditambahkan pelarut aquades hingga didapat konsentrasi ekstrak tertentu. Dan masing-masing konsentrasi mengalami pengulangan 3 kali.

Sebanyak 25 ml nutrient agar dimasukkan ke dalam cawan petri dan didiamkan hingga memadat. Lalu dimasukkan inokulum bakteri ke dalam cawan petri yang berisi nutrient agar dengan menggunakan lidi kapas steril. Inokulum bakteri dioleskan pada media agar dengan cara memiringkan cawan petri secara terus menerus hingga merata. Kemudian diletakkan kertas cakram (5 mm) pada permukaan media agar yang dicelupkan ke dalam ekstrak. Sebagai kontrol positif pada masing-masing cawan petri dimasukkan kertas cakram yang mengandung kloramfenikol. Dan sebagai kontrol negatif dimasukkan kertas cakram tanpa penambahan ekstrak. Selanjutnya cawan petri diketahui selama 24 jam pada suhu 37°C.

2.9. Penentuan MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*)

Ekstrak total beserta fraksi-fraksi daun rambusa dibuat dalam beberapa konsentrasi tertentu (b/v). Selanjutnya masing-masing konsentrasi diuji aktivitas antibakterinya dan hasilnya akan terlihat pada konsentrasi terendah dari ekstrak kasar etanol dan fraksinya yang masih dapat menghambat pertumbuhan bakteri merupakan nilai minimal.

Teknik analisis data yang digunakan untuk uji aktifitas antibakteri yaitu dengan cara mengukur diameter daerah bening yang didapat dari variasi konsentrasi ekstrak dan menentukan MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*). Selanjutnya hasil yang didapatkan dengan standar kloramfenikol. Ketentuan kekuatan antibakteri adalah sebagai berikut : daerah hambatan 20 mm atau lebih berarti sangat kuat, daerah hambatan 10-20 mm (kuat), 5-10 mm (sedang) dan daerah hambatan 5 mm atau kurang berarti lemah.

2.10. Uji Mortalitas Larva Udang (*Brine Shrimp Lethality Test*)

Sebanyak 10 mg telur udang diambil dan ditambahkan

dengan 100 ml air laut yang telah disaring. Selanjutnya diberi pencahayaan lampu TL agar menetas sempurna. Setelah 24-48 jam telur udang menetas dan siap untuk diuji

Ditimbang ekstrak kasar sebanyak 20 mg dan dilarutkan dengan air laut hingga volumenya mencapai 10 mL dalam labu ukur, untuk membuat konsentrasi sampel 2000 ppm. Disiapkan 8 buah tabung reaksi. Dipipet larutan induk 2000 ppm kedalam tabung reaksi masing-masing sebanyak 2500µL, 1250µL, 625µL, 312,5µL, 156,25µL, 78,125µL. Kemudian pada masing-masing tabung ditambahkan 2 mL air laut, 10 ekor larva udang dan ditambahkan lagi air laut hingga volumenya 5 mL. Sehingga konsentrasi masing-masing menjadi 1000 ppm, 500 ppm, 250 ppm, 125 ppm, 62,5 ppm, 31,2 ppm, 15,6 ppm, dan 7,8 ppm. Jumlah larva yang mati dihitung dalam waktu 24 jam dan dianalisa untuk menentukan nilai LC₅₀. Untuk kontrol dilakukan hal yang sama dengan perlakuan sampel tetapi tanpa penambahan ekstrak kasar. Setiap sampel dilakukan uji mortalitas sebanyak tiga kali (triplo). Data yang diperoleh dimasukkan dalam lembar pengamatan^[9].

2.11. Teknik Analisis Data

Teknik analisa yang digunakan untuk uji mortalitas larva udang yaitu berdasarkan nilai *Lethal Concentration* 50% (LC₅₀) yang ditentukan dengan menggunakan Analisa Probit SAS. SAS digunakan untuk melakukan stimulasi dengan bilangan acak (random number generators). Untuk distribusi yang bermacam-macam dapat mengambil sebagian (subset), menggabung (merge) dan menyusun kembali (rearrange), mentransformasi atau menggunakan teknik pencarian (queries) basis data dengan mudah. Efektivitas dari fraksi-fraksi terhadap larva *Artemia salina* (L) dinyatakan dalam LC₅₀ (ppm) 24 jam setelah perlakuan.

C. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Pengujian Fitokimia

Hasil uji Fitokimia ekstrak kasar serta masing-masing fraksinya

Tabel 1. Hasil uji fitokimia

Jenis senyawa	Jenis ekstrak			
	Ekstrak kasar etanol	Ekstrak fraksi n-heksana	Ekstrak fraksi etil asetat	Ekstrak fraksi etanol-air
Alkaloid	+	+	-	+
Triterpenoid	-	-	-	+
Steroid	+	+	-	-
Saponin	-	-	-	-
Fenolik	-	-	-	-
Flavonoid	-	-	-	-

Tanda +: mengandung senyawa metabolit sekunder.

Tanda -: tidak mengandung senyawa metabolit sekunder.

Dari hasil uji fitokimia yang di lakukan, metabolit sekunder yang di hasilkan adalah ekstrak kasar mengandung alkaloid dan steroid. Fraksi n-

heksan mengandung alkaloid dan steroid. Fraksi etanol air mengandung alkaloid dan triterpenoid. Sedangkan yang tidak mengandung metabolit sekunder adalah fraksi etil asetat.

Untuk dapat melihat pengaruh konsentrasi pada daun rambusa (*Passiflora foetida* L.) terhadap ekstrak kasar etanol serta ekstrak fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, etanol-air maka di beri konsentrasi yang bervariasi. Adapun variasi konsentrasi yaitu 1%, 5%, 10%, 15%, dan 20%. Selanjutnya diuji di dalam bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

Hasil uji antibakteri ekstrak kasar etanol daun rambusa (*Passiflora foetida* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* ditunjukkan pada tabel 2 :

Tabel 2. Hasil uji bakteri pada ekstrak kasar

Bakteri uji	Diameter zona bening (mm)						
	Ekstrak kasar etanol dengan variasi konsentrasi (%)					Antibiotik Kloramfenikol (3.0 mg)	Kontrol
	1	5	10	15	20		
<i>S. aureus</i>	7,70	9,3	10	12	13	22,8	-
<i>E. coli</i>	-	6	8,3	9,0	13,3	26,5	-

Keterangan : (-) = Tidak terdapat zona bening (cakram 5 mm)

Tabel 3. Hasil uji antibakteri ekstrak fraksi *n*-heksana daun rambusa (*Passiflora foetida L.*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

Bakteri uji	Diameter zona bening (mm)						
	Ekstrak fraksi <i>n</i> -heksana dengan variasi konsentrasi (%)					Antibiotik Kloramfenikol (3.0 mg)	Kontrol
	1	5	10	15	20		
<i>S. aureus</i>	8	8,7	10	12,3	13,3	22,8	-
<i>E. coli</i>	5,7	8	9,7	12,3	12,7	26,5	-

Keterangan : (-) = Tidak terdapat zona bening (cakram 5 mm).

Tabel 4. Hasil uji antibakteri ekstrak fraksi etil asetat daun rambusa (*Passiflora foetida L.*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

Bakteri uji	Diameter zona bening (mm)						
	Ekstrak fraksi etil asetat dengan variasi konsentrasi (%)					Antibiotik Kloramfenikol (3.0 mg)	Kontrol
	1	5	10	15	20		
<i>S. aureus</i>	6,3	8,3	10	11,3	11,3	22,8	-
<i>E. coli</i>	-	6	6,7	7,7	9,3	26,5	-

Keterangan : (-) = Tidak terdapat zona bening (cakram 5 mm).

Tabel 5. Hasil uji antibakteri ekstrak etanol-air daun rambusa (*Passiflora foetida L.*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

Bakteri uji	Diameter zona bening (mm)						
	Ekstrak kasar etanol dengan variasi konsentrasi (%)					Antibiotik Kloramfenikol (3.0 mg)	Kontrol
	1	5	10	15	20		
<i>S. aureus</i>	6	9,3	10,3	10,7	12,7	22,8	-
<i>E. coli</i>	7,7	7	7,7	9	10	26,5	-

Keterangan : (-) = Tidak terdapat zona bening (cakram 5 mm).

Dalam pengujian aktivitas antibakteri digunakan akuades sebagai control *negative* dan kloramfenikol sebagai standar (control positif). Penggunaan akuades ini juga berfungsi sebagai pelarut untuk membuat variasi konsentrasi pada uji aktivitas antibakteri. Alasan digunakan pelarut ini adalah agar daya hambat pertumbuhan bakteri yang dihasilkan tidak dipengaruhi oleh pelarut. Penggunaan etanol dikhawatirkan dapat membunuh bakteri tersebut karena dimungkinkan bersifat toksik terhadap bakteri tersebut. Kontrol positif yang digunakan adalah antibiotik kloramfenikol 30 mg/L sebagai pembanding untuk mengetahui kekuatan antibakteri dari ekstrak kasar dan fraksi-fraksinya. Kloramfenikol berfungsi sebagai pembanding karena merupakan jenis antibiotik yang memiliki spectrum luas (dapat menghambat pertumbuhan gram positif dan gram negatif). Kontrol negatif berfungsi untuk mengatasi apakah pelarut juga memiliki potensi

menghambat atau membunuh bakteri. Hasil uji menunjukkan bahwa akuades yang digunakan sebagai control negatif, tidak memiliki sifat sebagai antibakteri terhadap kedua bakteri uji yang digunakan karena tidak terbentuk zona bening disekitar kertas cakram, maka zona hambat atau zona bening yang terbentuk dengan variasi konsentrasi murni dari ekstrak uji, tidak dipengaruhi oleh pelarut. Dari hasil pengujian aktivitas antibakteri diketahui bahwa fraksi hasil ekstrak etanol dengan berbagai pelarut, memberikan aktivitas antibakteri yang berbeda-beda terhadap bakteri uji, perbedaan aktivitas pada masing-masing fraksi dapat disebabkan perbedaan komponen yang terekstraksi artinya bahwa kandungan senyawa yang bersifat antibakterinya berbeda-beda pada tiap-tiap komponen. suatu zat dikatakan aktif atau tidaknya dapat dilihat dari daerah bening yang dihasilkan, semakin banyak zat aktif yang diserap maka daerah bening yang dihasilkan akan lebih besar. Berdasarkan hasil yang diperoleh bahwa uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa pada fraksi *n*-heksana dan fraksi etanol air lebih besar daerah hambat atau zona beningnya daripada ekstrak kasar etanol dan fraksi etil asetat, suatu zat dikatakan aktif atau tidaknya dapat dilihat dari daerah bening yang dihasilkan, semakin banyak zat aktif yang diserap maka daerah bening yang dihasilkan akan lebih besar. Hal ini kemungkinan disebabkan adanya sistem kerja yang sinergis antar senyawa yang terkandung di dalam metabolit sekunder sebagai antibakteri. Adanya aktivitas antibakteri tersebut kemungkinan karena adanya aktivitas kerja dari senyawa-senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak daun rambusa (*Passiflora foetida L.*) antara lain adalah alkaloid, steroid dan triterpenoid. Senyawa steroid/triterpenoid juga memiliki potensi sebagai senyawa antibakteri. Senyawa steroid/triterpenoid menghambat pertumbuhan bakteri dengan mekanisme penghambatan terhadap sintesis protein karena terakumulasi dan menyebabkan perubahan komponen-komponen penyusun sel bakteri itu sendiri.

Dalam hal ini *Artemia* itu sendiri termasuk dalam kelas oranchipoda yang mempunyai membrane kulit yang sangat tipis sehingga memungkinkan terjadinya difusi zat dari lingkungan yang mempengaruhi metabolisme dalam tubuhnya. Pada uji mortalitas larva udang menggunakan hewan uji berupa larva udang *Artemia salina Leach*. *Artemia* termasuk dalam kelas eranchipoda yang memiliki membran kulit yang sangat tipis sehingga memungkinkan terjadinya difusi zat dari lingkungan yang mempengaruhi metabolisme dalam tubuhnya. Larva udang *Artemia* ditemukan hampir di semua tempat di permukaan air di bumi yang memiliki kisaran salinitas dari 10-20 g/L sampai dengan 180-220 g/L. Hal ini menyebabkan larva udang *Artemia* mudah untuk dibiakkan dan dipelajari dengan teliti. Saat digunakan dalam pengujian *Artemia* di biakkan selama 48 jam. Jika lebih dari itu, dikhawatirkan kematian larva udang bukan disebabkan oleh toksisitas ekstrak melainkan oleh terbatasnya persediaan makanan [9].

Metode BSLT digunakan untuk meneliti toksisitas ekstrak fungi, tumbuhan, logam berat, pestisida, substansi toksin dari cyanobacteria. Pengujian dengan brine shrimp bioassay menggunakan *nauplii Artemia sp.* umur 24 jam yang termasuk instar III adalah suatu metode alternatif yang dapat menggantikan penelitian yang menggunakan hewan besar, mengurangi angka kesakitan dan stress [10].

Nilai LC₅₀ pada uji mortalitas larva udang dapat diperoleh dengan menggunakan Analisis Probit SAS. Berikut ini adalah hasil yang menunjukkan nilai LC₅₀ pada ekstrak kasar daun rambusa (*Passiflora foetida L.*) dan masing-masing fraksi.

Apabila LC₅₀ < 30 ppm maka ekstrak sangat toksik dan berpotensi mengandung senyawa bioaktif antikanker [11], menyebutkan tingkat toksisitas suatu ekstrak:

LC₅₀ ≤ 30 ppm = Sangat toksik

LC₅₀ ≤ 1.000 ppm = Toksik

LC₅₀ > 1.000 ppm = Tidak toksik.

Tabel 6. Nilai LC₅₀ uji mortalitas larva udang ekstrak kasar dan masing-masing fraksi.

Jenis Ekstrak	LC ₅₀ (ppm)
Ekstrak Kasar	482.2435 ppm
Fraksi N-heksana	133.7473 ppm
Fraksi Etil asetat	613.2137 ppm
Fraksi Etanol-air	350.5545 ppm

D. KESIMPULAN

Senyawa metabolit sekunder yang terkandung adalah alkaloid dan steroid. Begitu juga didalam ekstrak fraksi n-heksana adalah alkaloid dan steroid serta didalam ekstrak fraksi etanol air adalah alkaloid dan triterpenoid.

Berdasarkan uji aktivitas antibakteri yang paling aktif adalah ekstrak fraksi n-heksana yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Pada ekstrak fraksi n-heksana konsentrasi minimum 1% dengan diameter zona bening 8 mm pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan 5,70 mm pada bakteri

Suatu senyawa antibakteri dapat dinamakan berspektrum luas jika dapat menghambat pertumbuhan Gram positif dan negative atau kebalikannya berspektrum sempit jika hanya menghambat pertumbuhan dari salah satu bakteri tersebut [12].

Berdasarkan hasil uji mortalitas larva udang yang terdapat di dalam tabel di atas. Nilai LC₅₀ pada ekstrak kasar etanol diperoleh sebanyak 482.2435 ppm. Nilai LC₅₀ pada fraksi n-heksana diperoleh sebanyak 133.7473 ppm. Nilai LC₅₀ pada ekstrak fraksi etil asetat diperoleh sebanyak 613.2137 ppm. Nilai LC₅₀ pada fraksi etanol air diperoleh sebanyak 350.5545 ppm. Dan nilai LC₅₀ menunjukkan bahwa pada konsentrasi tersebut, ekstrak sampel mampu membunuh larva udang sampai 50% populasi.

Nilai ini menggambarkan bahwa pada konsentersasi tersebut mampu membunuh larva udang sampai 50% populasi. Dan hal ini hal di atas dapat disimpulkan bahwa semakin kecil nilai LC₅₀ (*Lethal Concentration 50%*) maka semakin tinggi bioaktivitas suatu sampel. Dan berdasarkan uji fitokimia, jenis senyawa metabolit sekunder terkandung pada ekstrak fraksi n-heksana lebih tinggi daripada dibandingkan ekstrak etanol air, ekstrak etanol dan ekstrak fraksi etil asetat. Hal ini menunjukkan adanya kerja sama antara senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalamnya.

Escherichia coli. Oleh karena itu fraksi n-heksana perlu diteliti lebih lanjut karena fraksi ini yang mempunyai aktivitas antibakteri paling tinggi dan diharapkan dapat memperoleh senyawa aktif yang cukup banyak pula sehingga mempunyai potensi untuk dikembangkan kearah pencarian antibakteri.

Hasil uji berdasarkan mortalitas larva udang (*Brine Shrimp Lethality Test*) yang memiliki bioaktivitas paling tinggi adalah ekstrak fraksi n-heksana, dengan nilai LC₅₀ adalah sebesar 133.7473 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

1. Anonim. 1992. *Sepuluh Tahun Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri 1982-1991*. Jakarta: Puslitbangtri.
2. Wijayakusuma, H. T. 2008. *Ensiklopedia Milenium Tumbuhan Berkhasiat Obat Indonesia Jilid I*. Jakarta: Prestasi Insan Indonesia.
3. Widyarto, A.N.2009. "Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Jeruk Keprok (*Citros Nobilis Lour.*) Terhadap *Staphylococcus Aureus* dan *Escherichia Coli*". Skripsi Jurusan Farmasi, Univesitas Muhammadiyah Surakarta.
4. Entjang, I. 2001. *Mikrobiologi & Parasitologi Untuk Akademi Keperawatan dan Sekolah Tenaga Kesehatan yang Sederajat*. Bandung: PT. Citra Aditya Bakti.
5. Yazid Estien, 2005. *Kimia Fisika Untuk Paramedis*. Andi jogyakata.
6. Jawetz, E, Melnick, J, and Adelberg, E. 1996. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi 20*. Jakarta: EGC.
7. Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Bandung: ITB.
8. Harbone, J. B. 1987. *Metode Fitokimia*. Bandung: ITB.
9. Kadarisman, I. 2000. "Isolasi dan Identifikasi Senyawa Kimia Bioaktif dari Rimpang Bangle (*Zingiber Cassumunar Raxb*)". Skripsi Jurusan Kimia FMIPA, Institut Pertanian Bogor.

10. Kanwar, A.S. 2007. *Brine shrimp Artemia salina a marine animal for simple and rapid biological assays*. (Review). Journal of Chinese Clinical Medicine.
11. Meyer, B.N., Ferrigni, N.R., Putnam, J.E., Jacobson, L.B., Nichols, D.E., dan McLaughlin, J.L. 1982. *Brine shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents*. Planta Medica, 45: 31-34 pp.
12. Siswandono, S.B, 2000, *Kimia Medisinal*. Edisi kedua. Surabaya: Airlangga University Press.