

## Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat Daun Cabe Rawit Terhadap *Streptococcus Pyogenes* dan Profil Bioutografi

### Antibacterial Activity of Etil Acetate Fraction of Chili Leaf Against *Streptococcus Pyogenes* and Bioautografy

Ade Irawan<sup>1\*</sup>, Nurkhasanah<sup>2</sup>, Nanik Sulistyani<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Program Studi S1 Farmasi  
STIKES Muhammadiyah  
Cirebon Jl.Kalitanjung Timur  
NO. 14/18 A Kel./Kec.  
Harjamukti Kota Cirebon  
45143

<sup>2</sup> Fakultas Farmasi,  
Universitas Ahmad Dahlan,  
Yogyakarta, Jl. Prof. DR.  
Soepomo SH, Warungboto,  
Kecamatan Umbulharjo,  
Yogyakarta 55164.  
Indonesia

**Submitted:** 23-09-2019

**Revised:** 01-11-2019

**Accepted:** 27-11-2019

\*Corresponding author  
Ade Irawan

Email:  
[adeponya111280@gmail.com](mailto:adeponya111280@gmail.com)

#### ABSTRAK

Cabe rawit (*Capsicum frutescens* L.) merupakan tanaman yang mempunyai aktivitas sebagai antibakteri. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri fraksi etil asetat daun cabe rawit terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes* dan melakukan bioautografi untuk melihat senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri. Telah dilakukan uji antibakteri fraksi etil asetat daun cabe rawit dengan konsentrasi 5%, 10%, 20%, 40% , 80% terhadap *Streptococcus pyogenes*. Hasil uji zona hambat fraksi etil asetat 5% menghasilkan rata-rata zona hambat 6,3 mm, 10% rata-rata zona hambat 10,3 mm, 20% rata-rata zona hambat 14 mm, 40% rata-rata zona hambat 18 mm dan 80% menghasilkan rata-rata zona hambat 22,7 mm. Uji bioautografi fase diam menggunakan silika gel GF 254 dan untuk fase gerak digunakan kloroform:etil asetat (3:7), menunjukkan adanya zona hambat pada media yang telah diinokulasikan bakteri *Streptococcus pyogenes* yaitu pada RF 0,88. Hasil yang diperoleh ialah fraksi etil asetat daun cabe rawit mempunyai daya hambat terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes* dan senyawa yang mempunyai daya hambat memiliki RF sebesar 0,88.

**Kata Kunci :** Antibakteri, Zona Hambat, Daun Cabe Rawit

#### ABSTRACT

One of the plant that has antibacterial activity is chili leaf (*Capsicum frutescens* L.). The purpose of this study was to determine the antibacterial activity of ethyl acetate fraction of chili leaf against *Streptococcus pyogenes* bacteria and conduct bioautography to see compounds that have antibacterial activity. In this study an antibacterial test for ethyl acetate fraction of chili leaf with a concentration of 5%, 10%, 20%, 40%, 80% to *Streptococcus pyogenes*. From the results of the inhibition zone test 5% ethyl acetate fraction produces an average inhibition

zone of 6.3 mm, 10% average inhibition zone 10.3 mm, 20% average inhibition zone of 14 mm, 40% average inhibition zone 18 mm and 80% have 22.7 an average inhibition zone. In the silent phase bioautographic was used test silica gel GF 254 and for the mobile phase was used chloroform : ethyl acetate (3: 7), indicating the presence of inhibition zones on the media which had been inoculated by *Streptococcus pyogenes* bacteria, namely at RF 0.88. From the research that has been done, the results show that the ethyl acetate fraction of chili leaf has inhibitory zone against *Streptococcus pyogenes* bacteria and the spotting of compounds which have inhibitory zone has an RF of 0.88.

**Keywords:** Antibacterial, Inhibitory Zone, Chili Leaf

## 1. PENDAHULUAN

Cabe rawit (*Capsicum frutescens* L.) merupakan tanaman yang mempunyai aktivitas sebagai antibakteri. Tanaman cabe rawit merupakan salah satu tanaman yang buahnya digunakan sebagai bumbu masakan dan senyawa yang terkandung dalam daunnya mempunyai potensi untuk dikembangkan sebagai antibakteri (Anuzar, Hazar, & Suwendar, 2017). Daun cabe rawit mengandung saponin, tanin, alkaloid, glikosida, steroid golongan senyawa flavonoid dan glikon (Vinayaka et al., 2010). Senyawa flavonoid memiliki aktivitas sebagai antibakteri dengan mekanisme kerja mengganggu integritas membran sel bakteri. Flavonoid merupakan senyawa sekunder yang bersifat koagulator protein. Tingkat aktivitas saponin yang tinggi dalam melawan toksisitas fungi, sehingga mampu mempercepat proses *recovery* pada proses penyembuhan luka (Wijaya, Citraningtyas, & Wehantouw, 2014). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun cabe rawit mempunyai aktivitas sebagai antibakteri. Penelitian yang dilakukan oleh (Puji, Abdur, & Indra, n.d.) menjelaskan bahwa konsentrasi minimum 70% (b/v) ekstrak etanol daun cabe rawit memiliki aktivitas antibakteri. Penelitian (Vinayaka et al., 2010) menyatakan bahwa ekstrak metanol daun cabai rawit dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus aureus*, *Klebsiela pneumoniae* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Berdasarkan penelitian tersebut, senyawa yang terkandung dalam daun cabe mempunyai aktivitas sebagai antibiotik. Oleh karena hal tersebut maka peneliti akan melakukan pembuktian melalui serangkaian pengujian terhadap aktivitas antibakteri fraksi etil asetat terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes* dengan metode difusi *disk Kirby-Bauer* dan melakukan Bioautografi untuk membuktikan daya hambat fraksi etil asetat daun cabe rawit terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes* dan melihat profil kromatografi senyawa yang mempunyai daya hambat terhadap bakteri tersebut.

## 2. METODE

### Alat dan Bahan

#### Alat

Autoklaf, LAF (*Laminar Air Flow*), timbangan, gelas ukur, selotip, gunting, sarung tangan, pipet mikro, kertas saring, *rotary evaporator*, inkubator, oven, kulkas, tabung reaksi, rak

tabung, cawan petri, labu erlenmeyer, kawat ose, batang pengaduk, lampu spiritus, korek api, kapas, kertas label, kertas cakram dan jangka sorong, *chamber*, lampu Uv-Vis

### **Bahan**

Daun cabai rawit (*Capsicum frutescens L*) yang digunakan dalam penelitian ini diambil dari daerah Purwomartani, Sleman, Yogyakarta, bakteri *Streptococcus pyogenes* didapatkan dari LABKESDA Yogyakarta, *Mueller Hinton Agar* (MHA), DMSO, Ethanol 96%, diklorometana, metanol, etil asetat, aquades, kloroform, Plat KLT Silika Gel GF 254, semua bahan (kecuali bakteri dan daun cabe rawit) dibeli dari laboratorium Mikrobiologi Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan.

### **Maserasi dan Fraksinasi**

Ekstraksi menggunakan metode maserasi, daun cabe dikeringkan dan dihaluskan kemudian direndam dengan etanol 96%. Maserat yang dihasilkan dipekatkan dengan *rotary evaporator*. Ekstrak kental dikeringkan, kemudian ditimbang dengan berat tertentu ditempatkan dalam beker glass kemudian ditambahkan diklorometan sebanyak 10 kali berat ekstrak diaduk dengan menggunakan *stearer* selama 30 menit hingga larut dan homogen kemudian diendapkan sari diklorometan dipisahkan dari residunya. Prosedur diatas diulang kembali hingga dihasilkan sari diklorometan yang sudah tidak berwarna lagi. Selanjutnya residu yang dihasilkan dari fraksinasi diklorometan ditambahkan etil asetat sebanyak 10 kali berat residu kemudian digojok dengan *stearer* selama 30 menit hingga keruh dan homogen setelah itu diendapkan, sari etil asetat dipisahkan dari ampasnya. Prosedur tersebut diulangi hingga mendapatkan sari etil asetat yang tidak berwarna (Anggraeni, Fasya, & Hanapi, 2014).

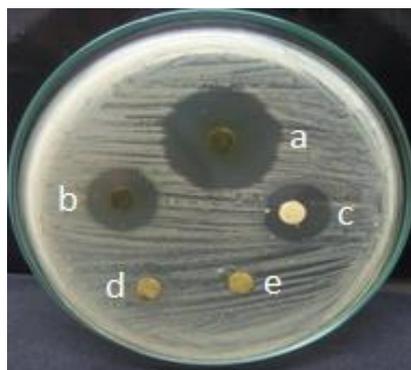
### **Uji Aktivitas**

Kertas cakram dilarutkan dalam masing-masing konsentrasi larutan fraksi etil asetat daun cabe rawit, kontrol positif dan negatif, kemudian diujikan dalam media MHA pada cawan petri yang telah diinokulasikan bakteri, selanjutnya diinkubasi dalam inkubator selama 18 s/d 24 jam. Uji aktivitas ini dilakukan replikasi sebanyak 2 kali.

## **3. HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Uji Aktivitas Antibakteri**

Fraksi etil asetat yang diperoleh kemudian dilakukan uji antibakteri dengan metode difusi *disk* dengan beberapa seri konsentrasi diantaranya 80%, 40%, 20%, 10% dan 5% b/v.



Gambar 1 . Hasil Uji Zona Hambat Fraksi Etil Asetat Daun Cabe Rawit (*Capsicum frutescens L.*) terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes* konsentrasi 80% (a), 40% (b), 20% (c), 10% (d) dan 5% (e).

**Tabel 1. Diameter Zona Hambat Fraksi etil asetat daun cabe rawit ( *Capsicum frutescens L.*)**

konsentrasi	R1	R2	R3	Rerata (mm) ± SD
5%	6 mm	6 mm	7 mm	6,3 ± 0,58
10%	8 mm	12 mm	11 mm	10,3 ± 2,08
20%	15 mm	13 mm	14 mm	14 ± 1
40%	17 mm	18 mm	19 mm	18 ± 1
80%	22 mm	24 mm	22 mm	22,7 ± 1,15

Hasil data diameter zona hambat fraksi etil asetat daun cabe rawit ( *Capsicum frutescens L.*) terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes* (gambar 1) pada beberapa seri konsentrasi pada tabel 1 diperoleh bahwa zona hambat terkecil dihasilkan oleh fraksi etil asetat dengan konsentrasi 10% b/v (10,3 ± 2,08 mm), sedangkan zona hambat terbesar dihasilkan oleh fraksi etil asetat dengan konsentrasi 80% b/v (22,7 ± 1,15 mm). Data diameter zona hambat diperoleh hasil bahwa besarnya konsentrasi fraksi yang diujikan berbanding lurus dengan zona hambat yang dihasilkan.

Analisis data zona hambat secara statistik menggunakan uji *Kolmogrov-Smirnov (K-S)* menunjukkan bahwa data terdistribusi normal dengan nilai Signifikansi 0,677 ( $p > 0,05$ ) dan homogen dengan nilai Sig 0,052 ( $p > 0,05$ ). Uji normalitas *Kolmogrov-Smirnov (K-S)* diperoleh hasil bahwa data zona hambat terdistribusi normal ( $P > 0,05$ ) dan homogen ( $P > 0,05$ ), maka analisis dengan *one way anova* dapat dilakukan. Uji statistik dengan *one way anova* menunjukkan kelompok kontrol negatif (-) dengan kelompok perlakuan 5% menghasilkan nilai Signifikansi 0,999 ( $p > 0,05$ ), kelompok perlakuan 10% memiliki nilai signifikansi 0,006 ( $p < 0,05$ ) dan kelompok perlakuan 20%, 40%, 80% menghasilkan nilai signifikansi 0,000 ( $p < 0,05$ ). Dapat disimpulkan bahwa kelompok kontrol negatif (-) dengan kelompok perlakuan 10%, 20%, 40%, 80% memiliki perbedaan yang signifikan.

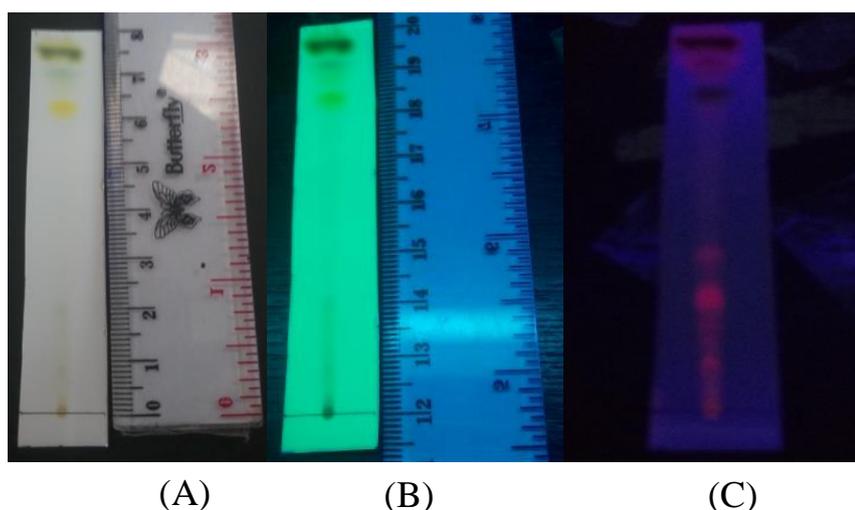
Pada kelompok perlakuan dengan konsentrasi fraksi 5% tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. pyogenes* sedangkan kelompok perlakuan 10%, 20%, 40%, 80% memiliki potensi antibakteri terhadap *Streptococcus pyogenes*. Konsentrasi 10% merupakan konsentrasi minimum ekstrak daun cabe rawit yang mampu menghambat pertumbuhan

bakteri *Streptococcus pyogenes*. Mekanisme penghambatan bakteri *Streptococcus pyogenes* oleh fraksi etil asetat daun cabe rawit berasal dari senyawa aktif flavonoid. Flavonoid akan menyebabkan denaturasi protein dan meningkatkan permeabilitas dinding sel mikroorganisme. Interaksi antara senyawa aktif dan bakteri menyebabkan perubahan struktur sel protein dan menyebabkan terjadinya koagulasi akibat terjadinya perubahan keseimbangan muatan dalam molekul protein. Protein akan kehilangan aktivitas fisiologi sehingga tidak dapat berfungsi dengan baik akibat dari terjadinya denaturasi dan koagulasi. Karena struktur dinding sel bakteri berubah, akan meningkatkan permeabilitas sel sehingga pertumbuhan sel akan terhambat dan sel akan menjadi rusak (Dian Riana Ningsih1, Zusfahair, 2016). Sel akan mengalami lisis akibat dari terganggunya dinding sel (Dewi, Mulyani, & Rochima, 2004). Menurut (Yunita, 2012) di dalam daun cabe rawit terdapat beberapa senyawa sekunder diantaranya adalah flavonoid. Ada tiga mekanisme flavonoid sebagai antibakteri, antara lain menghambat metabolisme energi, menghambat fungsi membran dan dengan menghambat sintesis asam nukleat (Hendra, Ahmad, Sukari, Shukor, & Oskoueian, 2011).

### Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis (KLT) adalah suatu metode identifikasi terhadap senyawa tertentu secara kualitatif terhadap suatu sampel tertentu (Efendi, Hertiani, 2013). KLT merupakan suatu identifikasi suatu senyawa dengan prinsip adsorpsi dan partisi (Akhyar, 2010). Pada plat KLT sebelum ditotolkan sampel, untuk mengaktifkan fase diam terlebih dahulu dipanaskan dalam oven pada suhu 110 °C selama 15 menit. Selain itu sebelum dilakukan pengembangan maka *chamber* harus dilakukan penjemuran terlebih dahulu dengan proses elusi dengan fase diam kertas saring untuk mencegah terjadinya penguapan pelarut (Hanifah, 2014).

KLT dilakukan pada fraksi etil asetat dengan fase gerak etil asetat : kloroform (7:3), sedangkan fase diamnya digunakan plat silika Gel GF 254. Sebanyak 5 µl fraksi etil asetat ditotolkan pada plat silika gel GF 254 lalu dielusi dengan jarak 8 cm, Kemudian dikeringkan setelah itu dilihat profil kromatogramnya di bawah sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm, 365 nm dan di bawah sinar tampak seperti ditunjukkan pada gambar 2.



Gambar 2. Profil Kromatografi Lapis Tipis Silika Gel GF 254 Fraksi Etil Asetat. Sinar Tampak (A), sinar UV 254 nm (B), Sinar UV 365 nm (C)

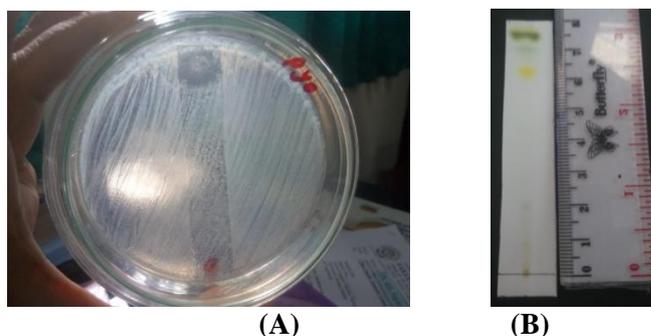
**Tabel 2. Data Bercak Kromatografi Lapis Tipis Silika Gel GF 254 Fraksi Etil Asetat**

Bercak	Rf	Sinar Tampak	Warna	Deteksi Bercak			Warna
				UV 254 nm	Warna	UV 365 nm	
1	0,10	-	-	-	-	√	Merah muda
2	0,25	-	-	-	-	√	Merah muda
3	0,31	-	-	-	-	√	Merah muda
4	0,79	√	Kuning	√	Kuning	√	Hitam
5	0,88	√	Hijau	√	Kijau	√	Merah muda
6	0,94	√	Hitam	√	Hitam	√	Hitam

Hasil penelusuran dengan fase diam plat Kromatografi Lapis Tipis (KLT) silika Gel GF 254 dan fase gerak etil asetat : kloroform (7:3) (gambar 2), setelah diamati melalui sinar tampak terlihat 3 bercak, Uv –Vis pada panjang gelombang 254 nm terlihat 3 bercak dan pada panjang gelombang 365 nm terlihat 6 bercak. Penjelasan warna bercak dan Rf dapat dilihat pada tabel 2 diatas. Dari ke 6 bercak diatas (UV 365 nm) Rf bercak terendah sebesar 0,10 dan Rf bercak tertinggi sebesar 0,94. Pada bercak senyawa yang mempunyai nilai Rf rendah, ini diakibatkan karena senyawa tersebut cenderung memiliki kepolaran yang hampir sama dengan fase diamnya sehingga akan mudah berikatan dengan silika gel. Pada bercak senyawa yang mempunyai nilai Rf tinggi kepolarannya hampir sama dengan fase geraknya sehingga tidak mudah berikatan dengan fase diamnya (Rustanti, Jannah, & Fasya, 2013).

### Bioautografi

Bioautografi adalah suatu metode yang sederhana yang digunakan untuk mendeteksi bercak pada kromatogram hasil elusi yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri pada plat Kromatografi Lapis Tipis (KLT) yang sifatnya spesifik (Astriani, 2011). Pada proses bioautografi fase geraknya adalah etil asetat : kloroform (7:3) dan fase diam yang digunakan adalah plat KLT silika gel GF 254. Hasil bioautografi menunjukkan adanya zona bening pada media yang telah diinokulasikan bakteri *S. pyogenes* yaitu pada Rf 0,88. Hasil bioautografi dapat dilihat pada gambar 3



Gambar 3. Hasil Bioautografi Fraksi Etil Asetat Daun Cabe Rawit (A) dan (B).

#### 4. KESIMPULAN

Fraksi etil asetat daun cabe rawit memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes*. Semakin besar konsentrasi fraksi yang diberikan maka semakin besar pula daya hambat yang dihasilkan. Proses bioautografi yang sudah dilakukan menunjukkan bahwa senyawa yang memiliki daya hambat terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes* memiliki tingkat kepolaran yang rendah hal ini ditandai dengan tingginya nilai Rf (0,88).

#### 5. UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis tujukan kepada semua pihak yang telah membantu penelitian ini termasuk pembimbing sehingga penelitian ini *dapat* terlaksana dengan lancar

#### 6. CONFLICT OF INTEREST

*The author declares that there no competing conflicts of interest*

#### 7. DAFTAR PUSTAKA

- Akhyyar. (2010). *Uji Daya Hambat Dan Analisis Klt Bioautografi Ekstrak Akar Dan Buah Bakau (Rhizophora stylosa Griff.) TERHADAP Vibrio harveyi*. Skripsi. Program Studi Farmasi.Fakultas farmasi.Universitas Hasanuddin Makassar.
- Anggraeni, O. N., Fasya, A. G., & Hanapi, A. (2014). Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat, Kloroform, Petroleum Eter, Dan N-Heksana Hasil Hidrolisis Ekstrak Metanol Mikroalga Chlorella sp. *Jurnal Alchemy*, (1).Vol.3. hal 173-188.
- Anuzar, C. H., Hazar, S., & Suwendar. (2017). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Cabe Rawit ( *Capsicum frutescens L.* ) terhadap Pertumbuhan Bakteri Penyebab Jerawat Propionibacterium acnes secara Invitro. *Jurnal Farmasi*, 3(2), 457–464.
- Astriani.,(2011) Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Daun Turi ( *Sesbania grandiflora L.* ) Secara Klt-Bioautografi.Skripsi. Jurusan Farmasi. Fakultas Ilmu Kesehatan.UIN Alaudin Makassar.
- Dewi, O., Mulyani, Y., & Rochima, E. (2004). Aktivitas Antioksidan Dan Antibakteri Ekstrak Jeroan Teripang *Holothuria atra* Dari Perairan Pulau Biawak Kabupaten Indramayu. In *Jurnal Perikanan Kelautan* (Vol. 6). Retrieved from <http://journal.unpad.ac.id/jpk/article/view/8773/3999>
- Dian Riana Ningsih1, Zufahair, D. K. (2016). Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Serta Uji Aktivitas Ekstrak Daun Sirsak Sebagai Antibakteri. In *scholar.google.co.id* (Vol. 11, p. 100191). <https://doi.org/10.1002/sml.201601676>.
- Efendi, N., Heriani, T., (2013). Potensi Antimikroba Ekstrak Etanol Sarang Semut (*Myrmecodiatuberosa Jack.*) Terhadap *Candida Albicans*, *Escherichia Coli* Dan *Staphylococcus aureus*.*Traditional Journal Medicine*. Vol18(1),p 53-58. ISSN : 1410-5918.
- Hanifah, S. (2014). *Isolasi dan Elusidasi Struktur Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Etil Asetat Daun Angiopteris palmiformis (Cav.) C.Chr.*Skripsi. Program Studi Farmasi. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan.UIN Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Hendra, R., Ahmad, S., Sukari, A., Shukor, M. Y., & Oskoueian, E. (2011). Flavonoid analyses and antimicrobial activity of various parts of *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl fruit. *International Journal of Molecular Sciences*, 12(6), 3422–3431. <https://doi.org/10.3390/ijms12063422>
- Puji, A., Abdur, L., & Indra, R. (n.d.). Efektifitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Daun Cabe Rawit (*Capsicum frutescens L.* ) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Dengan Metode Difusi: Uji Pendahuluan Potensi Tanaman Obat Tradisional Sebagai Alternatif Pengobatan Infeksi Saluran Pernafasan . Prosiding SNST ke-5. Fakultas Teknik Universitas Wahid

Hasyim Semarang

- Rustanti, E., Jannah, A., & Fasya, A. G. (2013). Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Katekin Dari Daun Teh (*Cameliasinensis L.var assamica*) TERHADAP BAKTERI *Micrococculuteus*. *Jurnal Alchemy*, 2(2). Vol. 2 No. 2. hal 138-149.
- Vinayaka, K. S., Nandini, K. C., Rakshitha, M. N., Martis, R., Shruthi, J., Hegde, S. V., ... Raghavendra, H. L. (2010). Proximate composition, antibacterial and anthelmintic activity of *Capsicum frutescens* (L.) var. Longa (Solanaceae) leaves. *Pharmacognosy Journal*, 2(12), 486–491. [https://doi.org/10.1016/S0975-3575\(10\)80036-7](https://doi.org/10.1016/S0975-3575(10)80036-7)
- Wijaya, B. A., Citraningtyas, G., & Wehantouw, F. (2014). *Potensi Ekstrak Etanol Tangkai Daun Talas ( Colocasia Esculenta [ L ] ) Sebagai Alternatif Obat Luka Pada Kulit Kelinci ( Oryctolagus cuniculus )*. *Jurnal Ilmiah Farmasi. UNSRAT*. Vol.3 No.3. ISSN 2302-2493
- Yunita. (2012). *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Ekstrak Daun Cabe Rawit (Capsicum frutescens L.) dan Identifikasi Golongan Senyawa dari Fraksi Teraktif*. Skripsi. Program Studi Farmasi. Fakultas MIPA UI. Jakarta.