

Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri dari Daun Ketepeng Cina (*Cassia alata* L.)

Fajar Hutagalung^{1*}

¹Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sam Ratulangi, Manado 95115, Indonesia

*e-mail korespondensi: fajarhutagalung@unsrat.ac.id

ABSTRAK

Cassia alata L. merupakan tanaman obat yang kaya akan kandungan senyawa metabolit sekunder. Penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi aktivitas antioksidan dan antibakteri ekstrak serta fraksi daun *C. alata* L. dari Kabupaten Bolaang Mongondow, Provinsi Sulawesi Utara, Indonesia. Pendekatan penelitian mengintegrasikan analisis fitokimia dan pengujian aktivitas biologis untuk memperoleh profil bioaktivitas yang komprehensif. Ekstraksi dilakukan melalui metode maserasi dengan etanol 96%, dilanjutkan dengan fraksinasi menggunakan pelarut n-heksana, etil asetat, dan akuades. Skrining fitokimia menunjukkan senyawa flavonoid, tanin, dan fenolik terdapat pada seluruh sampel, sedangkan alkaloid dan triterpenoid hanya terdapat pada ekstrak etanol dan fraksi air. Analisis kandungan total fenolik, tanin, dan flavonoid menunjukkan nilai tertinggi pada fraksi etil asetat masing-masing sebesar 159,34 µg/mL, 6,12 µg/mL, dan 54,08 µg/mL. Aktivitas penangkal radikal bebas metode DPPH menunjukkan fraksi etil asetat memiliki aktivitas paling kuat (IC₅₀=0,63 µg/mL). Uji antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* menunjukkan bahwa fraksi etil asetat memiliki daya hambat tertinggi, yakni masing-masing 25,3 mm dan 22,5 mm pada konsentrasi 80%. Hasil ini mengindikasikan bahwa kandungan senyawa bioaktif semi-polar dalam fraksi etil asetat berperan besar terhadap aktivitas biologisnya. Secara keseluruhan, daun *C. alata* L. berpotensi sebagai sumber alami senyawa antioksidan dan antibakteri yang mendukung pengembangan fitofarmaka berbasis tanaman lokal.

Kata kunci: Daun Ketepeng Cina, senyawa bioaktif, antioksidan, antibakteri

ABSTRACT

Cassia alata L. is a medicinal plant rich in secondary metabolite compounds. This study aims to explore the antioxidant and antibacterial activities of extracts and fractions of *C. alata* L. leaves from Bolaang Mongondow Regency, North Sulawesi Province, Indonesia. The research approach integrates phytochemical analysis and biological activity testing to obtain a comprehensive bioactivity profile. Extraction was carried out through a maceration method with ethanol 96%, followed by fractionation using n-hexane, ethyl acetate, and aquadest solvents. Phytochemical screening showed that flavonoids, tannins, and phenolics were present in all samples, while alkaloids and triterpenoids were only found in the ethanol extract and aqueous fraction. Analysis of total phenolic, tannin, and flavonoid content showed the highest values in the ethyl acetate fraction at 159.34 µg/mL, 6.12 µg/mL, and 54.08 µg/mL, respectively. The DPPH method showed that the ethyl acetate fraction had the strongest free radical scavenging activity (IC₅₀=0.63 µg/mL). Antibacterial tests against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* showed that the ethyl acetate fraction had the highest inhibitory activity, at 25.3 and 22.5 mm, respectively, at 80% concentration. These results indicate that the semi-polar bioactive compounds in the ethyl acetate fraction play a significant role in its biological activity. Overall, *C. alata* L. leaves have the potential to be a natural source of antioxidant and antibacterial compounds, supporting the development of local plant-based phytopharmaceuticals.

Keywords: Ketepeng Cina leaves, bioactive compounds, antioxidants, antibacterials

PENDAHULUAN

Keanekaragaman hayati hutan Indonesia memiliki peran vital bagi kehidupan manusia, tidak hanya sebagai sumber kehidupan tetapi juga sebagai sumber daya alam dengan potensi besar di bidang pengobatan. Sebagai negara mega biodiversitas, Indonesia memiliki lebih dari 30.000 spesies tumbuhan, banyak di antaranya memiliki manfaat medis (Hasyim dkk., 2025). Keanekaragaman ini mencakup berbagai tumbuhan obat yang dapat dimanfaatkan untuk pengobatan tradisional dan modern. Berdasarkan data Organisasi Kesehatan Dunia (WHO), sekitar 70% penduduk dunia masih

mengandalkan pengobatan tradisional yang memanfaatkan tanaman obat (Jeelani dkk., 2018). Di Indonesia, tanaman obat memiliki peran penting dalam sistem kesehatan konvensional yang telah dipraktikkan oleh masyarakat selama berabad-abad. Selain itu, tanaman obat juga berpotensi untuk dikembangkan dalam pengobatan modern, mengingat semakin banyaknya penelitian yang menunjukkan keberhasilan ekstrak tumbuhan dalam mengatasi berbagai penyakit (Dürbeck dkk., 2015).

Cassia alata Linn (*Cassia alata* L.) adalah semak hias berbunga yang dikenal sebagai "semak lilin" karena kerangka bunganya menyerupai lilin. Tanaman ini tumbuh subur di dataran rendah dan dataran menengah. *Cassia alata* L. merupakan obat herbal yang populer di banyak negara (Eusebio-Alpapa dkk., 2020). Tanaman *C. alata* L. telah banyak digunakan dalam berbagai pengobatan, seperti diuretik, pencahar, herpes, wasir, hernia, sifilis, parasit usus, dan diabetes, influenza dan malaria, antibakteri, antiinflamasi, antioksidan, anthelmintik, dan antijamur. *C. alata* L. kaya akan senyawa fitokimia, seperti alkaloid, tanin, saponin, fenol, vedaflavonoid, dan glikosida yang berkontribusi terhadap efek farmakologis (Oladeji dkk., 2020, Yon dkk., 2023).

Penelitian ini berfokus pada eksplorasi aktivitas antioksidan dan antibakteri dari ekstrak dan fraksi dari daun Ketepeng Cina (*C. alata* L.) yang berasal dari wilayah Kabupaten Bolaang Mongondow, Provinsi Sulawesi Utara, Indonesia, yang secara ekologis memiliki kondisi lingkungan berbeda dibandingkan daerah asal sampel pada penelitian sebelumnya. Perbedaan kondisi geografis dan ekologi tersebut berpotensi memengaruhi kandungan metabolit sekunder yang dihasilkan tanaman. Selain itu, penelitian ini menggabungkan analisis fitokimia dengan pengujian aktivitas biologis secara terintegrasi untuk memperoleh gambaran yang lebih komprehensif mengenai potensi fitofarmaka daun *C. alata* L. Pendekatan ini diharapkan dapat memberikan kontribusi baru dalam pemetaan profil bioaktivitas tanaman obat lokal serta memperkuat dasar ilmiah pengembangan *C. alata* L. sebagai sumber alami senyawa bioaktif dengan potensi antioksidan dan antibakteri.

BAHAN DAN METODE

Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini berupa daun Ketepeng Cina (*C. alata* L.) yang diperoleh dari Desa Ikhwan, Kecamatan Dumoga Barat, Kabupaten Bolaang Mongondow, Provinsi Sulawesi Utara, Indonesia. Bahan-bahan kimia yang digunakan seluruhnya berkualitas pro-analisis, meliputi etanol 96%, etil asetat, n-heksana, akuades, DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil), pereaksi dragendrof, pereaksi folin-ciocalteu, asam galat, Na_2CO_3 , AlCl_3 2%, kuersetin, asam asetat anhidrat, serbuk Mg, HCl pekat, dan FeCl_3 1%.

Preparasi Sampel

Sampel daun Ketepeng Cina (*C. alata* L.) terlebih dahulu dicuci bersih menggunakan air mengalir, kemudian dikering-anginkan selama 2 minggu. Setelah kering, sampel digiling menggunakan blender dan disaring dengan ayakan berukuran 60 mesh hingga diperoleh serbuk Ketepeng Cina (*C. alata* L.) sebanyak 500 g.

Ekstraksi

Ekstraksi daun Ketepeng Cina (*C. alata* L.) dilakukan melalui metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% dengan rasio 1:5. Sebanyak 500 g serbuk daun Ketepeng Cina (*C. alata* L.) diekstraksi dengan etanol 96% sebanyak 2,5 L. Proses maserasi berlangsung selama 3×24 jam dalam kondisi terlindung cahaya dan campuran diaduk setiap 24 jam sekali. Filtrat hasil maserasi kemudian dipisahkan dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak pekat, yang selanjutnya dikeringkan dalam oven pada suhu 40°C sebelum dilanjutkan ke proses berikutnya yakni tahap partisi (Sayuti, 2017).

Fraksinasi

Sebanyak 2 g ekstrak pekat dilarutkan dalam 100 mL akuades, kemudian dilakukan proses fraksinasi secara bertahap dengan penambahan pelarut n-heksana dan etil asetat dengan urutan bergantian. Hasil dari tahap fraksinasi kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air.

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan dengan serangkaian uji, meliputi uji fenolik, flavonoid, tanin, alkaloid, steroid, dan triterpenoid.

Uji Kandungan Total Fenolik

Kandungan total fenolik dilakukan berdasarkan metode Jeong dkk., (2004). Sampel sebanyak 0,1 mL dengan konsentrasi 1000 µg/mL dicampurkan dengan 0,1 mL reagen Folin-Ciocalteu 50% dalam tabung reaksi. Kemudian campuran dilakukan vortex selama 3 menit, dilanjutkan dengan penambahan 2 mL larutan Na₂CO₃ 2%. Setelah itu, larutan diinkubasi dalam kondisi gelap selama 30 menit, dan nilai absorbansinya diukur menggunakan spektrofotometer UV-Visible pada panjang gelombang 750 nm.

Uji Kandungan Total Flavonoid

Sampel sebanyak 2 mL dicampur dengan 2 mL aluminium klorida (AlCl₃) 2% yang telah dilarutkan dalam etanol dan divortex. Pengukuran absorbansi dilakukan dengan spektrofotometer UV-Visible pada panjang gelombang 415 nm (Meda dkk., 2005).

Uji Kandungan Total Tanin

Prosedur analisis diawali dengan mencampurkan 0,5 mL sampel dengan 1,5 mL larutan vanillin-metanol 4%, kemudian dihomogenkan menggunakan vortex selama 3 menit. Setelah itu, ditambahkan 0,75 mL asam klorida 37% dan campuran diinkubasi pada suhu kamar selama 20 menit. Absorbansi larutan hasil reaksi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Visibel pada panjang gelombang 500 nm (Julkunen-Tiito, 1985).

Penentuan Aktivitas Penangkal Radikal Bebas dengan Metode DPPH

Penentuan aktivitas penangkal radikal bebas dilakukan dengan menggunakan metode DPPH menurut Burda dan Oleszeck (Togolo dkk., 2013). Sampel 0,5 mL dengan konsentrasi 1000 µg/mL direaksikan dengan 2 mL larutan DPPH dan divortex selama 2 menit. Selanjutnya, absorbansi dari larutan diukur dengan bantuan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Aktivitas penangkal radikal bebas (APRB) dinyatakan sebagai persentase penurunan intensitas warna larutan DPPH, diukur saat 5 menit menjelang akhir waktu inkubasi 30 menit (Togolo dkk., 2013). Nilai IC₅₀ diperoleh dari persamaan garis regresi linear dengan persamaan rumus:

$$y = mx + c \quad \dots\dots\dots (1)$$

di mana: y = % inhibisi, x = konsentrasi, m = kemiringan garis, dan c = intercept

IC₅₀ merupakan konsentrasi sampel yang menghasilkan 50% inhibisi. Dari persamaan garis:

$$50 = m \cdot IC_{50} + c \quad \dots\dots\dots (2)$$

nilai IC₅₀ dapat ditentukan melalui persamaan:

$$IC_{50} = \frac{50-c}{m} \quad \dots\dots\dots (3)$$

Penentuan Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode-difusi cakram/metode Kirby-Bauer. Media yang digunakan untuk pertumbuhan bakteri adalah *Nutrient Agar* (NA), yaitu media yang kaya nutrisi. Larutan uji disiapkan dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, dan 80% b/v dari sampel yang dilarutkan dalam akuades. Ciproflaxin digunakan sebagai kontrol positif, sedangkan akuades berfungsi sebagai kontrol negatif. Bakteri uji yang digunakan meliputi *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Menurut Davis dan Stout (1971), efektivitas antibakteri dinilai melalui ukuran diameter zona hambat yang terbentuk, dengan klasifikasi sebagai berikut: <5 mm (kategori lemah), 5-10 mm (kategori sedang), 11-20 mm (kategori kuat), dan >20 mm (kategori sangat kuat).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rendemen Hasil Fraksinasi Ekstrak

Etanol digunakan sebagai pelarut awal untuk mengekstrak daun Ketepeng Cina (*C. alata* L.). Selanjutnya, fraksinasi dilakukan dengan tujuan guna memisahkan senyawa-senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam ekstrak etanol dengan menggunakan tiga pelarut yang memiliki tingkat kepolaran yang berbeda-beda, seperti n-heksana (sifat non-polar), etil asetat (sifat semi-polar), dan akuades/air (sifat polar). Rendemen hasil fraksinasi dari ekstrak etanol daun Ketepeng Cina (*C. alata* L.) dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rendemen Hasil Fraksinasi dari Ekstrak daun *C. alata* L.

Sampel	Rendemen (%)
Fraksi n-heksana (FNH)	3,25
Fraksi etil asetat (FEA)	4,32
Fraksi air (FA)	2,54

Ekstrak etanol daun Ketepeng Cina difraksinasi untuk memisahkan senyawa berdasarkan tingkat kepolaran. Berdasarkan Tabel 1, FEA menunjukkan hasil rendemen terbesar (4,32%). Hasil ini mengindikasikan bahwa senyawa semi-polar merupakan komponen paling dominan dalam ekstrak etanol yang difraksinasi. Sebaliknya, FNH (3,25%) dan FA (2,54%) menghasilkan rendemen yang lebih rendah. Distribusi rendemen ini (FEA > FNH > FA) mengindikasikan bahwa mayoritas metabolit sekunder dalam ekstrak etanol daun Ketepeng Cina memiliki sifat kepolaran menengah (semi-polar).

Hasil Skrining Fitokimia Daun Ketepeng Cina (*C. alata* L.)

Hasil uji skrining fitokimia dari daun Ketepeng Cina (*C. alata* L.) disajikan pada Tabel 2 berikut.

Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia dari daun *C. alata* L.

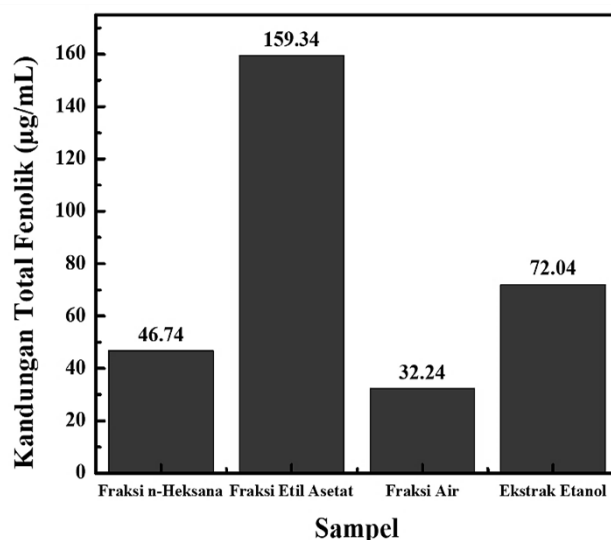
Uji Skrining Fitokimia	Fraksi n-Heksana	Fraksi Etil Asetat	Fraksi Air	Ekstrak Etanol
1. Fenolik	+	+	+	+
2. Flavonoid	+	+	+	+
3. Tanin	+	+	+	+
4. Alkaloid (dragondorf)	-	-	+	+
5. Steroid	-	-	-	-
6. Triterpenoid	-	-	+	+

Uji skrining fitokimia pada ekstrak etanol (EE) dan ketiga fraksi (FNH, FEA, dan FA) dari daun Ketepeng Cina (*C. alata* L.) menunjukkan adanya senyawa fenolik, tanin (gugus hidroksil akan bereaksi dengan Fe^{3+} pada FeCl_3 membentuk senyawa kompleks dengan warna khas hijau kehitaman (Setyowati dkk., 2014; Prayoga dkk., 2019)), dan flavonoid (positif dengan uji Mg/HCl menghasilkan warna merah atau jingga) yang terdapat pada seluruh sampel. Hal ini mengindikasikan bahwa ketiga kelompok senyawa (fenolik, tanin, dan flavonoid) ini memiliki rentang kepolaran yang luas sehingga terdistribusi merata pada semua fraksi. Sebaliknya, senyawa steroid tidak terdeteksi pada semua sampel (negatif pada uji Lieberman-Burchard yang menghasilkan warna hijau kebiruan). Sementara itu, kelompok senyawa alkaloid (positif dengan uji Dragendorf membentuk endapan jingga-kuning) dan triterpenoid (positif dengan uji Salkowski membentuk endapan cincin merah pada batas pelarut) secara eksklusif ditemukan pada fraksi air (FA) dan ekstrak etanol (EE).

Kandungan Total Fenolik

Penentuan kadar total fenolik pada ekstrak dan fraksi daun Ketepeng Cina (*C. alata* L.) dilakukan dengan menggunakan metode Folin-Ciocalteu, di mana intensitas warna hijau yang terbentuk sebanding dengan konsentrasi fenolik dalam sampel. Hasil uji kandungan total fenolik pada ekstrak dan fraksi daun Ketepeng Cina (*C. alata* L.) dapat dilihat pada Gambar 1. Analisis kandungan total fenolik

(Gambar 1) menunjukkan variasi konsentrasi yang signifikan di antara ekstrak etanol dan fraksi hasil partisi. Fraksi etil asetat menunjukkan konsentrasi total fenolik tertinggi, mencapai 159,34 $\mu\text{g/mL}$. Nilai ini menunjukkan peningkatan konsentrasi yang signifikan, lebih dari dua kali lipat dibandingkan dengan ekstrak etanol (72,04 $\mu\text{g/mL}$). Peningkatan drastis ini mengindikasikan bahwa sebagian besar senyawa fenolik yang terkandung dalam daun Ketepeng Cina memiliki tingkat kepolaran menengah (semi-polar) dan berhasil dipartisi secara efisien ke dalam pelarut etil asetat. Kandungan total fenol yang tinggi pada FEA ini menunjukkan adanya senyawa polifenol (flavonoid dan saponin) tertentu, yang kemungkinan memiliki kesesuaian dengan pelarut etil asetat (Samin dkk., 2013).

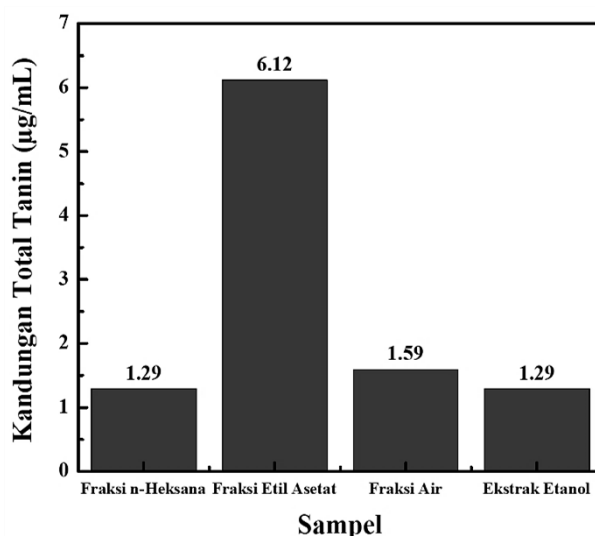


Gambar 1. Kandungan total fenolik dari ekstrak dan fraksi daun *C. alata* L. (konsentrasi 1000 $\mu\text{g/mL}$)

Fraksi n-heksana (non-polar) dan fraksi air (polar) menunjukkan konsentrasi total fenolik yang lebih rendah, yaitu masing-masing 46,74 $\mu\text{g/mL}$ dan 32,24 $\mu\text{g/mL}$. Rendahnya konsentrasi pada kedua fraksi ini mengkonfirmasi bahwa senyawa fenolik dominan yang terdapat dalam ekstrak ini tidak bersifat sangat polar maupun non-polar. Distribusi kandungan total fenolik ini (FEA > EE > FNH > FA) sangat relevan dengan hasil skrining fitokimia (Tabel 2) sebelumnya yang menunjukkan senyawa fenolik ada pada semua fraksi.

Kandungan Total Tanin

Hasil uji kandungan total tanin dapat dilihat pada Gambar 2.

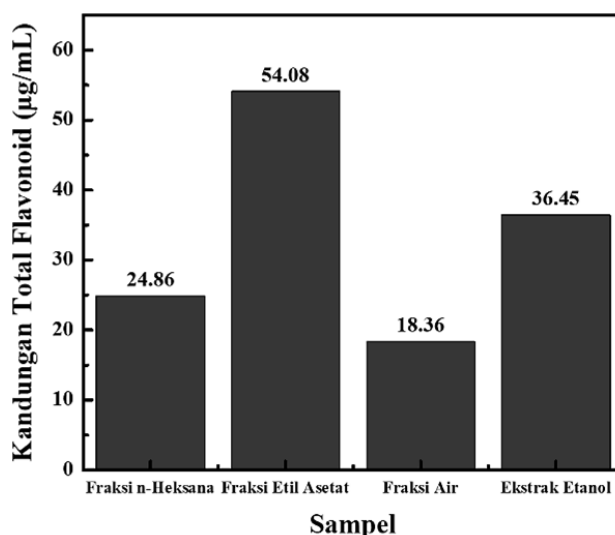


Gambar 2. Kandungan total tanin dari ekstrak dan fraksi daun Ketepeng Cina (konsentrasi 1000 $\mu\text{g/mL}$)

Kandungan total tanin diukur menggunakan metode yang didasarkan pada reaksi protonasi vanillin dalam medium asam. Reaksi ini melibatkan pembentukan karbokation dari vanillin, yang kemudian bereaksi dengan senyawa flavonoid (khususnya tanin terkondensasi), menghasilkan senyawa kompleks yang dapat diidentifikasi melalui munculnya warna ungu atau merah (Tan dkk., 2018). Analisis kuantitatif kandungan total tanin (Gambar 2) membuktikan efektivitas fraksinasi, di mana fraksi etil asetat menunjukkan pemekatan tanin tertinggi mencapai 6,12 $\mu\text{g/mL}$, diikuti dengan fraksi air (1,59 $\mu\text{g/mL}$) dan terendah pada fraksi n-heksana dan ekstrak etanol (masing-masing 1,29 $\mu\text{g/mL}$). Kandungan tanin yang paling tinggi ditemukan pada fraksi etil asetat mengindikasikan bahwa sebagian besar tanin terkondensasi dalam sampel secara efektif telah terkonsentrasi dan terpisahkan pada fraksi semi-polar. Hal ini memperkuat bahwa fraksi etil asetat dominan mengandung senyawa tanin terkondensasi. Tanin diketahui memiliki berbagai khasiat terapeutik, seperti astringen (mengatasi diare), antiseptik, antioksidan, antivirus, antibakteri, antitumor (Ningtyas, 2020).

Kandungan Total Flavonoid

Hasil kandungan total flavonoid dapat dilihat pada Gambar 3. Berdasarkan Gambar 3, fraksi etil asetat memiliki kandungan total flavonoid tertinggi (54,08 $\mu\text{g/mL}$), diikuti dengan ekstrak etanol (36,45 $\mu\text{g/mL}$), fraksi n-heksana (24,86 $\mu\text{g/mL}$) dan fraksi air dengan kandungan total flavonoid terendah (18,36 $\mu\text{g/mL}$). Hal ini menunjukkan bahwa pelarut etil asetat dengan polaritas menengah (semi-polar) lebih efektif dalam mengekstraksi senyawa flavonoid dibandingkan pelarut non-polar (n-heksana) maupun polar (air). Hal ini disebabkan oleh sifat kimia flavonoid yang umumnya bersifat semi-polar, sehingga lebih mudah larut dalam pelarut semi-polar (Theodora dkk., 2019).

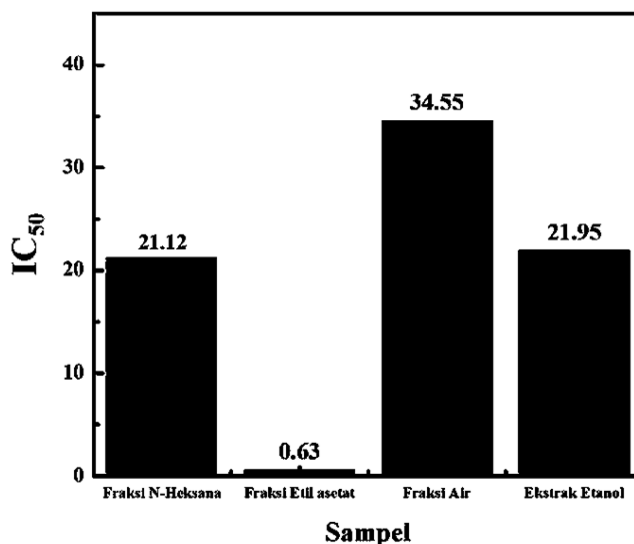


Gambar 3. Kandungan total flavonoid dari ekstrak dan fraksi daun Ketepeng Cina (konsentrasi 1000 $\mu\text{g/mL}$)

Aktivitas Penangkal Radikal Bebas dengan Metode DPPH

Pengujian aktivitas penangkal radikal bebas dengan metode DPPH dari ekstrak dan fraksi daun Ketepeng Cina dilakukan dengan mereaksikan larutan DPPH dengan sampel. Nilai IC_{50} dari ekstrak dan fraksi daun Ketepeng Cina dapat dilihat pada Gambar 4. Gambar 4 menunjukkan nilai IC_{50} dari ekstrak etanol dan berbagai fraksi daun Ketepeng Cina yang menggambarkan aktivitas penangkal radikal bebas (antioksidan) dari masing-masing sampel. Berdasarkan hasil yang diperoleh, fraksi etil asetat ($y=5,629x+52,579$; $R^2=0,9835$) memiliki IC_{50} paling rendah (0,63 $\mu\text{g/mL}$), diikuti oleh fraksi n-heksana ($y=20,667x-13,036$; $R^2=0,9433$; $\text{IC}_{50}=21,12$ $\mu\text{g/mL}$), ekstrak etanol ($y=20,449x-13,319$; $R^2=0,922$; $\text{IC}_{50}=21,95$ $\mu\text{g/mL}$), dan fraksi air dengan nilai tertinggi ($y=25,953x-41,938$; $R^2=0,9908$; $\text{IC}_{50}=34,55$ $\mu\text{g/mL}$). Nilai IC_{50} yang rendah menunjukkan aktivitas antioksidan yang tinggi, karena dibutuhkan konsentrasi yang lebih kecil untuk menangkal 50% radikal bebas (Saufani dkk., 2024; Tasiyam dkk., 2025). Dengan demikian, fraksi etil asetat menunjukkan aktivitas antioksidan paling kuat di antara sampel lainnya. Hal ini didukung oleh kandungan total flavonoid, fenolik, dan tanin yang juga tertinggi pada fraksi etil asetat (Gambar 3). Flavonoid berperan penting dalam aktivitas antioksidan melalui

mekanisme penyerapan radikal bebas dan penghambatan oksidasi lipid (Widiasriani dkk., 2024), senyawa fenolik memiliki gugus hidroksil yang mudah bereaksi dengan radikal bebas sehingga mampu menghambat oksidasi lipid atau molekul biologis lain (Erniati dkk., 2024), dan senyawa tanin mengandung banyak gugus fenol yang dapat menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan oksidatif (Isromarina dkk., 2022). Ketiga senyawa bioaktif ini secara strategis mendukung aktivitas penangkal radikal bebas (antioksidan) dari sampel.



Gambar 4. Nilai IC₅₀ dari ekstrak serta fraksi daun Ketepeng Cina (konsentrasi 1000 µg/mL)

Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan terhadap fraksi n-heksana (FNH), fraksi etil asetat (FEA), fraksi air (FA), dan ekstrak etanol (EE) dengan berbagai konsentrasi (20%, 40%, 60%, dan 80%) menggunakan metode difusi cakram terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* (gram positif) dan *Escherichia coli* (gram negatif). Adanya zona bening di antara cakram menunjukkan kemampuan sampel dalam menghambat pertumbuhan bakteri (Lestari dan Mustakim, 2025). Data hasil pengukuran diameter zona hambat dari masing-masing fraksi dan ekstrak daun Ketepeng Cina dapat dilihat pada Tabel 3 dan Tabel 4.

Tabel 3. Hasil pengukuran diameter zona hambat pada bakteri *S. aureus*

Konsentrasi	Rata-rata diameter zona hambat (mm)			
	Fraksi n-Heksana	Fraksi Etil Asetat	Fraksi Air	Ekstrak Etanol
20%	16,5	13,3	16,3	14,2
40%	19,2	16,3	20,8	15,3
60%	21,3	20,3	22,3	20,5
80%	24,3	25,3	24,8	22,2
Kontrol Positif	42,8	43,3	42,5	42,2
Kontrol Negatif	0	0	0	0

Hasil pengujian aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* (Tabel 3) menunjukkan kemampuan ekstrak etanol dan berbagai fraksi daun Ketepeng Cina dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus* dengan diameter zona hambat yang meningkat seiring dengan kenaikan konsentrasi sampel. Aktivitas tertinggi diperoleh pada fraksi etil asetat dengan diameter zona hambat masing-masing 24,3 mm pada konsentrasi 80%. Zona hambat yang terbentuk menunjukkan adanya kandungan senyawa aktif antibakteri dalam sampel yang mampu merusak membran sel atau menghambat proses metabolisme bakteri.

Hasil pengujian antibakteri terhadap bakteri *E. coli* (Tabel 4), pola yang serupa juga terlihat, yaitu adanya peningkatan aktivitas antibakteri seiring kenaikan konsentrasi sampel FNH, FEA, FA dan EE. Fraksi etil asetat (FEA) juga menunjukkan aktivitas antibakteri tertinggi, dengan diameter zona hambat 22,5 mm pada konsentrasi 80%, diikuti oleh FNH (18,2 mm), dan EE (17,2 mm). FA memperlihatkan aktivitas antibakteri paling rendah terhadap *E. coli* (diameter zona hambat 20,0 mm pada konsentrasi 80%).

Tabel 4. Hasil pengukuran diameter zona hambat pada bakteri *E. Coli*

Konsentrasi	Rata-rata diameter zona hambat (mm)			
	Fraksi n-Heksana	Fraksi Etil Asetat	Fraksi Air	Ekstrak Etanol
20%	9,8	16,2	10,3	10,5
40%	13,3	20,5	12,2	13,5
60%	16,3	21,5	15,2	15,0
80%	18,2	22,5	20,0	17,2
Kontrol Positif	45,7	36,8	36,3	36,2
Kontrol Negatif	0	0	0	0

Hasil ini menunjukkan bahwa fraksi etil asetat memiliki aktivitas antibakteri paling kuat terhadap kedua jenis bakteri uji. Hal ini sejalan dengan hasil analisis fitokimia yang menunjukkan kandungan total flavonoid, fenolik dan tanin terkondensasi tertinggi pada fraksi etil asetat. Senyawa fenolik, flavonoid, dan tanin terkondensasi berperan penting dalam aktivitas antibakteri daun Ketepeng Cina (Dhurhania dan Novianto, 2018). Ketiga senyawa tersebut meningkatkan kemampuan ekstrak dan fraksi untuk menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Senyawa fenolik bekerja melalui gugus hidroksil (-OH) yang dapat berinteraksi dengan protein dan lipid membran sel bakteri, menyebabkan perubahan permeabilitas, kebocoran komponen sel, serta inaktivasi enzim metabolik (Dembińska dkk., 2025). Flavonoid berperan dengan menghambat sintesis asam nukleat, merusak integritas membran sel, dan membentuk kompleks dengan protein dinding sel yang menghambat pertumbuhan bakteri (Liu dkk., 2025). Sementara itu, tanin terkondensasi mampu merusak dinding dan membran sel bakteri, mengendapkan protein sel dan enzim bakteri, serta menghambat adhesi bakteri pada inang (Sunani dan Hendriani, 2023).

Perbedaan sensitivitas antara *S. aureus* dan *E. coli* kemungkinan disebabkan oleh perbedaan struktur dinding sel. Bakteri gram-positif memiliki lapisan peptidoglikan yang lebih tebal namun tidak memiliki lapisan lipopolisakarida seperti pada bakteri gram-negatif, sehingga senyawa antibakteri lebih mudah menembus dan berinteraksi dengan komponen sel bakteri gram-positif (Hallmann dan Gerngroß, 2025).

KESIMPULAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa fraksi etil asetat dari daun Ketepeng Cina (*C. alata* L.) memiliki kandungan total fenolik, flavonoid dan tanin tertinggi, masing-masing sebesar 159,34 µg/mL, 54,08 µg/mL, dan 6,12 µg/mL, serta menunjukkan aktivitas antioksidan paling kuat ($IC_{50} = 0,63$ µg/mL) dan daya hambat antibakteri terbesar terhadap bakteri *S. aureus* (zona hambat = 25,3 mm) dan *E. coli* (zona hambat = 22,5 mm). Hasil ini menegaskan bahwa senyawa bioaktif semi-polar, terutama flavonoid dan fenolik, berperan dominan dalam aktivitas biologis tersebut. Dengan demikian, daun Ketepeng Cina (*C. alata* L.) berpotensi sebagai sumber fitofarmaka alami dengan aktivitas antioksidan dan antibakteri yang tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

Davis, W.W., & Stout T.R. 1971. Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assa. *Applied Microbiology*. 22(4): 659-665.

- Dembińska, K., Shinde, A. H., Pejchalová, M., Richert A., & Brzezinska, M. S. 2025. The Application of Natural Phenolic Substances as Antimicrobial Agents in Agriculture and Food Industry. *MDPI: Foods*. 14(11), 1893.
- Dhurhanian C. E., & Novianto, A. 2018. Uji Kandungan Fenolik Total dan Pengaruhnya terhadap Aktivitas Antioksidan dari Berbagai Bentuk Sediaan Sarang Semut (*Myrmecodia pendens*). *Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 5(2): 62-68.
- Dürbeck, K., & Hüttenhofer, T. 2015. International trade of medicinal and aromatic plants. In *Medicinal and Aromatic Plants of the World. Scientific, Production, Commercial and Utilization Aspects*; Máthé, Á., Ed.; Springer: Dordrecht, The Netherlands, 375–382.
- Erniati, Syahril, Erlangga, Imanullah, & Andika, Y. 2024. Aktivitas Antioksidan dan Total Fenol Rumput Laut *Sargassum* sp. dari Perairan Simeulue Aceh. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 27(3), 186-196.
- Eusebio-Alpapara, K. M. V., Dofitas, B. L., Balita-Crisostomo, C. L. A, Tioleco-Ver, G. M. S., Jandoc, L. E., & Frez, M. L. F. 2020. Senna (*Cassia alata* (Linn.) Roxb. Leaf Decoction as A Treatment for Tinea Imbricata in an Indigenous Tribe in Southern Philippines. *Mycoses*. 63(11):1226-1234.
- Hallmann L., & Gerngroß, M. D. 2025. Antibacterial Polysaccharides in Dental Implantology. *Marine Drugs*. 23(8), 321.
- Hasyim, D. M., Anurogo, D., Bansaleng, Y. F., Hiola, S. F., & Anripa, N. 2025. Potential of Medicinal Plants in Indonesian Forest Biodiversity Conservation in Synergy with Pharmaceutical Technology for Modern Medicine. *International Journal of Engineering Science and Information Technology*. 5(3):200-207.
- Isromarina, R., Rusli, D., & Sari, D.U., 2022. Aktivitas Antioksidan, Kandungan Flavonoid Total, dan Tanin Total Ekstrak Etanol Kulit Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.). *Jurnal Ilmiah Farmasi (Scientific Journal of Pharmacy)*. 169-174
- Jeelani, S.M., Rather, G.A., Sharma, A., & Lattoo, S.K. 2018. In perspective: Potential medicinal plant resources of Kashmir Himalayas, their domestication and cultivation for commercial exploitation. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*. 8, 10–25.
- Jeong, S. M., Kim, S. Y., Kim, D. R., Jo, S. C., Nam, K. C., Ahn, D. U., & Lee, S. C. 2004. Effect of Heat Treatment on the Antioxidant Activity of Extracts from Citrus Peels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52(11), 3389-3393.
- Julkunen-Tiitto, R. 1985. Phenolics Constituents in the Leaves of Northern Willows, Methods for the Analysis of Phenolics. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 33(2), 213-217.
- Lestari, C. B., & Mustakim, A. 2025. Uji Efektivitas Antimikroba Dettol, Betadine, dan Harpic terhadap *Staphylococcus aureus* dengan Metode Difusi Cakram. *Jurnal Cakrawala Pendidikan dan Biologi*. 2(3): 7-13.
- Liu, Y., Zhu J., Liu, Z., Zhi, Y., Mei, C., & Wang, H. 2025. Flavonoids as Promising Natural Compounds for Combating Bacterial Infections. *International Journal of Molecular Sciences*. 26(6):2455.
- Meda, A., Lamien, C. E., Romito, M., Millogo, J., & Nacoulma, O. G. 2005. Determination of the Total Phenolic, Flavonoid and Proline Content in Burkina Faso Honey, as well as Their Radical Scavenging Activity. *Journal of Food Chemistry*. 91(3), 571-577.
- Ningtyas, R. D. 2020. *Pengembangan Sensor Berbasis Kertas Paper Microzone Plates untuk Penentuan Tanin pada Ekstrak Tanaman Obat* [Disertasi]. Fakultas Farmasi Universitas Jember). Jember: FF UNEJ.
- Oladeji, O.S., Adelowo, F.E., Oluyori, A.P., & Bankole, D.T. 2020. Ethnobotanical description and biological activities of *Senna alata*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2020:2580259.
- Prayoga, D. G.E., NocianitriK. A., & Puspawati, N. N. 2019. Identifikasi Senyawa Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kasar Daun Pepe (*Gymnema reticulatum* Br.) pada Berbagai Jenis Pelarut. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*. 8(2), 111-121.
- Samin, A. A., Nurhayati, B., & Yuszda, K. S. 2013. Penentuan Kandungan Fenol Total dan Aktivitas Antioksidan dari Rambut Jagung (*Zea Mays* L.) yang Tumbuh di Daerah Gorontalo. *Jurnal Sainstek*. 7(3),1–3.

- Saufani, I. A., Rahmi, A., Afriani, T., & Zikirzi, W. U. 2024. Antioxidant Activity of Nanoparticle Modified from Sembung Leaf (*Blumea balsamifera* L.) Extract: Aktivitas Antioksidan Nanopartikel dari Ekstrak Daun Sembung (*Blumea balsamifera* L.). *Amerta Nutrition*. 8(3SP), 362–371.
- Sayuti, M. 2017. Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi, Bagian dan Jenis Pelarut terhadap Rendemen dan Aktifitas Antioksidan Bambu Laut (*Isis hippuris*). *Technology Science and Engineering Journal*, 1(3).
- Setyowati, W. A. E., Ariani, S. R. D., Ashadi, B. M. B., & Rahmawati, C. P. 2014. Skrining Fitokimia dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian (*Durio zibethinus* Murr.) Varietas Petruk. *Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia VI*. ISBN (979363175-0), 271-280.
- Sunani, S., & Hendriani, R. 2023. Review Article: Classification and Pharmacological Activities of Bioactive Tannins. *Indonesian Journal of Biological Pharmacy*. 3(2): 130-136.
- Tan, M.V., Rorong, J.A., & Sangi, M.S. 2018. Fotoreduksi Besi Fe³⁺ menggunakan Ekstrak Daun Kayu Manis (*Cinnamomum burmanii*). *Jurnal Ilmiah Sains*.18(1),1-9.
- Tasiam, E., Hutagalung, F., Katja, D. G., & Sinaga, J. C. E. 2025. Potensi Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Kayu Lawang (*Cinnamomum culilaban* (L.) Presl.). *Pharmacon*. 14(2), 929–936.
- Theodora, C. T., Gunawan, I W. G., & Swantara, I M. D. 2019. Isolasi dan Identifikasi Golongan Flavonoid pada Ekstrak Etil Asetat Daun Gedi (*Abelmoschus Manihot* L.). *Jurnal Kimia*. 13(2): 131-138.
- Togolo, E., Suryanto, E., & Sangi, M. S. 2013. Aktivitas Antioksidan dari Tepung Pisang Goroho yang Direndam dengan Lemon Kalamansi. *Jurnal MIPA Unsrat Online*. 2(2), 105-108.
- Widiasriani, I. A. P., Udayani, N. N. W., Triansyah, G. A. P., Dewi, N. P. E. M. K., Wulandari, N. L. W. E., Prabandari, A. A. S. S. 2024. Peran Antioksidan Flavonoid dalam Menghambat Radikal Bebas. *Journal Syifa Sciences and Clinical Research (JSSCR)*. 6(2): 188-197.
- Yon, J.-A.-L., Lee, S.-K., Keng, J.-W., Chow, S.-C., Liew, K.-B., Teo, S.-S., Shaik Mossadeq, W. M., Marriott, P. J., Akowuah, G. A., Ming, L. C., Goh, B. H., & Chew, Y.-L. 2023. *Cassia alata* (Linnaeus) Roxburgh for Skin: Natural Remedies for Atopic Dermatitis in Asia and Their Pharmacological Activities. *Cosmetics*. 10(1), 5.