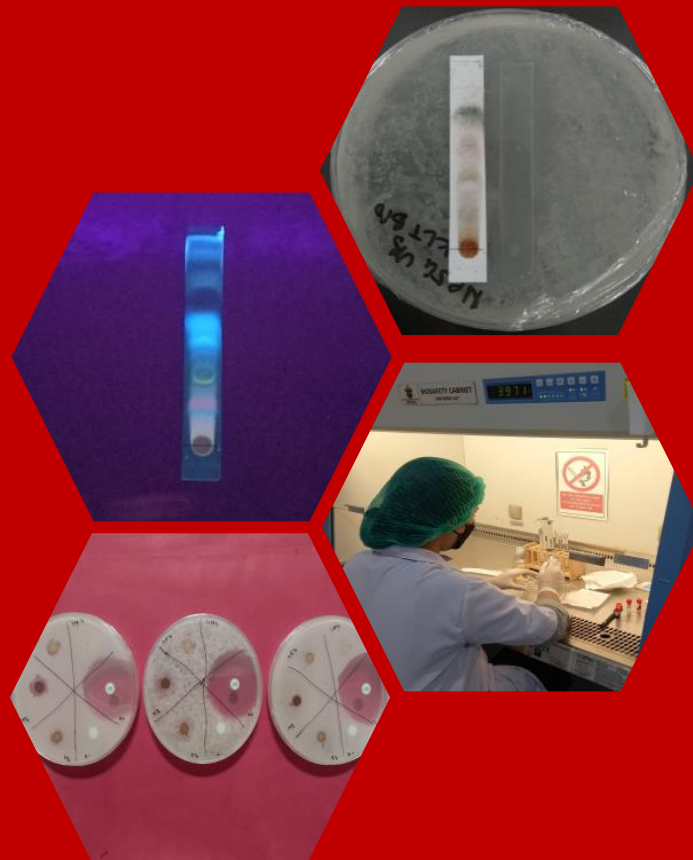


UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK KAYU MANIS (*Cinnamomum burmannii* (Nees & T.Nees) Blume.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* DENGAN METODE KLT-BIOAUTOGRAFI



**NESA VERONIKA BUBUN
N011201011**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK KAYU MANIS (*Cinnamomum burmannii* (Nees & T.Nees) Blume.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* DENGAN METODE KLT-BIOAUTOGRAFI

**NESA VERONIKA BUBUN
N011201011**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK KAYU MANIS (*Cinnamomum burmannii* (Nees & T.Nees) Blume.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* DENGAN METODE KLT-BIOAUTOGRAFI

NESA VERONIKA BUBUN
N011201011

Skripsi

sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar sarjana

Program Studi Farmasi

pada

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

SKRIPSI

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK KAYU MANIS (*Cinnamomum burmannii* (Nees & T.Nees) Blume.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* DENGAN METODE KLT-BIOAUTOGRAFI

**NESA VERONIKA BUBUN
N011201011**

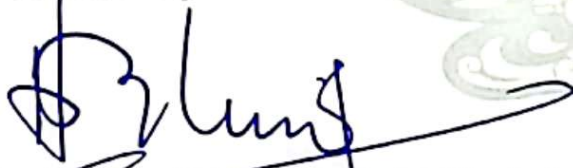
Skripsi

telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Sarjana Farmasi pada 18 November 2024 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan pada

Program Studi Farmasi
Fakultas Farmasi
Universitas Hasanuddin
Makassar

Mengesahkan:

Pembimbing Utama



Dr. Herlina Rante, S.Si., M.Si., Apt.
NIP. 19771125 200212 2 003

Pembimbing Pendamping



Dra. Rosany Tayeb, M.Si., Apt.
NIP. 19561011 198603 2 002

Mengetahui
Ketua Program Studi,



Nurhasni Hasan, S.Si., M.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt.
NIP. 19860116 201012 2 009

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi yang berjudul "Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii* (Nees & T.Nees) Blume.) Terhadap *Staphylococcus aureus* dengan Metode KLT-Bioautografi" merupakan benar karya saya sendiri dengan arahan pembimbing (Dr. Herlina Rante, S.Si., M.Si., Apt. sebagai pembimbing utama dan Dra. Rosany Tayeb, M.Si., Apt. sebagai pembimbing pendamping). Karya ilmiah ini belum diajukan atau sedang diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan manapun. Sumber berupa informasi yang dikutip berasal dari karya yang telah diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan pada Daftar Pustaka skripsi ini. Apabila dikemudian hari terbukti dan dapat dibuktikan bahwa karya ini milik orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi berdasarkan aturan yang telah berlaku.

Dengan ini, saya melimpahkan hak cipta dari karya ilmiah saya berupa skripsi kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 18 November 2024



NESA VERONIKA BUBUN
N011201011

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji dan Syukur yang dipanjatkan penulis kepada Tuhan Yang Maha Esa atas berkat dan karunia-Nya sehingga skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii* (Nees & T.Nees) Blume.) Terhadap *Staphylococcus aureus* Dengan Metode KLT-Bioautografi” ini dapat terselesaikan. Skripsi ini juga dapat tersusun dengan baik atas bantuan dari beberapa pihak, dengan ini penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada ibu Dr. Herlina Rante, S.Si., M.Si., Apt. sebagai pembimbing utama dan ibu Dra. Rosany Tayeb, M.Si., Apt. sebagai pembimbing pendamping yang telah memberikan berbagai arahan, nasihat dan ilmunya kepada penulis dalam masa penelitian dan pengerjaan skripsi ini.

Ucapan terima kasih kepada bapak Muhammad Raihan, S.Si., M.Sc.Stud., Apt dan bapak Aminullah, S.Si., M.Pharm.,Sc., Apt selaku penguji yang telah memberikan masukan berupa kritik dan saran kepada penulis. Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dekan, Wakil Dekan, Staf Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin atas konstribusi dalam meningkatkan fasilitas dan mempermudah penulis dalam proses studi dan penelitian.

Ucapan terima kasih kepada ibunda Irene dan seluruh keluarga Pabua yang tak henti-hentinya memberikan semangat dan doa kepada penulis. Teman-Teman HE20IN serta pihak lain yang tidak dapat penulis sampaikan satu per satu yang memberikan dukungan dan bantuan selama proses pengerjaan skripsi ini.

Penulis,

Nesa Veronika Bubun

ABSTRAK

NESA VERONIKA BUBUN. **Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii* (Nees & T.Nees) Blume.) Terhadap *Staphylococcus aureus* dengan Metode KLT-Bioautografi** (dibimbing oleh Herlina Rante dan Rosany Tayeb).

Latar belakang. Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu bakteri yang dapat menyebabkan infeksi dan penggunaan antibiotik untuk pengobatan infeksi dari waktu ke waktu mendapatkan masalah dalam hal resistensi, salah satunya yaitu munculnya *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). **Tujuan.** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak kulit kayu manis terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, konsentrasi ekstrak etanol kulit kayu manis yang efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, dan senyawa yang terkandung pada ekstrak etanol kulit kayu manis yang diduga berperan sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. **Metode.** Penelitian ini dilakukan ekstraksi sebanyak 100 gram sampel menggunakan pelarut etanol 96%. Kemudian dilakukan pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol kayu manis terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan metode difusi agar menggunakan *paper discs* dan pengujian KLT-Bioautografi. Selanjutnya, dilakukan skrining fitokimia menggunakan kromatografi lapis tipis. **Hasil.** Ekstraksi kulit kayu manis dengan pelarut etanol 96% didapatkan ekstrak sebanyak 17,96 gram dan persen rendemen 17,96%. Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak kulit kayu manis terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* menghasilkan zona hambat pada konsentrasi 5% dengan rata-rata sebesar $7,22 \pm 1,15$ mm dan konsentrasi 10% dengan rata-rata sebesar $8,25 \pm 2,55$ mm. Pada uji KLT-Bioautografi tidak menunjukkan adanya zona hambat pada medium agar. Skrining fitokimia yang dilakukan menghasilkan ekstrak etanol kulit kayu manis mengandung senyawa alkaloid dan terpenoid. **Kesimpulan.** Ekstrak etanol kulit kayu manis memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yang ditandai dengan terbentuknya zona hambat dikarenakan mengandung senyawa alkaloid dan terpenoid.

Kata kunci: kayu manis; *Staphylococcus aureus*; antibakteri; KLT-Bioautografi.

ABSTRACT

NESA VERONIKA BUBUN. **Antibacterial Activity Test of Cinnamon Extract (*Cinnamomum burmannii* (Nees & T.Nees) Blume.) Against *Staphylococcus aureus* Using TLC-Bioautography Method** (supervised by Herlina Rante and Rosany Tayeb).

Background. *Staphylococcus aureus* is one of the bacteria that can cause infections and the use of antibiotics to treat infections from time to time has problems in terms of resistance, one of which is the emergence of *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). **Aims.** This study aims to determine the antibacterial activity of cinnamon bark extract against *Staphylococcus aureus*, the concentration of cinnamon bark ethanol extract that effectively inhibits the growth of *Staphylococcus aureus*, and the compounds contained in the ethanol extract of cinnamon bark which are thought to act as an antibacterial against *Staphylococcus aureus*. **Methods.** This research carried out extraction of 100 grams of samples using 96% ethanol solvent. Then the antibacterial activity of cinnamon ethanol extract was tested against *Staphylococcus aureus* using the agar diffusion method using paper discs and TLC-Bioautography testing. Next, phytochemical screening was carried out using thin layer chromatography. **Results.** Extraction of cinnamon with 96% ethanol solvent resulted in 17.96 grams of extract and a percent yield of 17.96%. Testing the antibacterial activity of cinnamon extract against *Staphylococcus aureus* produced an inhibition zone at a concentration of 5% with an average of 7.22 ± 1.15 mm and a concentration of 10% with an average of 8.25 ± 2.55 mm. The TLC-Bioautography test did not show any inhibition zone on the agar medium. Phytochemical screening carried out resulted in ethanol extract of cinnamon containing alkaloids and terpenoid compounds. **Conclusion.** Cinnamon ethanol extract has antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* which is characterized by the formation of an inhibition zone because it contains alkaloids and terpenoid compounds.

Keywords: cinnamon; *Staphylococcus aureus*; antibacterial; TLC-Bioautography.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
PERNYATAAN PENGAJUAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI.....	iv
UCAPAN TERIMA KASIH.....	v
ABSTRAK.....	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar belakang	1
1.2. Teori	2
1.3. Rumusan masalah.....	5
1.4. Tujuan penelitian.....	5
BAB II METODE PENELITIAN.....	6
2.1 Bahan dan alat.....	6
2.2 Metode penelitian.....	6
BAB III HASIL DAN PEMBAHASAN.....	9
4.1 Hasil.....	9
4.2 Pembahasan.....	11
BAB IV KESIMPULAN	13
DAFTAR PUSTAKA.....	14
LAMPIRAN.....	17

DAFTAR TABEL

Nomor urut	Halaman
1. Hasil ekstraksi kulit kayu manis.....	9
2. Hasil uji aktivitas antibakteri.....	10
3. Hasil skrining fitokimia.....	11

DAFTAR GAMBAR

Nomor urut	Halaman
1. Simplisia kulit kayu manis.....	2
2. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak kulit kayu manis terhadap Staphylococcus aureus.....	9
3. Hasil KLT-Bioautografi.....	10
4. Hasil uji skrining fitokimia.	19
5. Preparasi sampel.....	20
6. Ekstraksi.....	20
7. Penguapan pelarut.....	20
8. Pengujian aktivitas antibakteri.....	20
9. Proses KLT.....	20
10. KLT-Bioautografi.....	20

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor urut	Halaman
1. Skema penelitian	17
2. Perhitungan.....	18
a. Persen rendemen.....	18
b. Konsentrasi Ekstrak	18
3. Skrining Fitokimia.....	19
4. Dokumentasi.....	20

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit infeksi merupakan penyakit yang memiliki prevalensi sangat banyak di Indonesia maupun dunia. Infeksi yang disebabkan oleh bakteri umumnya menyerang hidung dan kulit dimana bakteri yang menjadi penyebab adanya infeksi pada bagian tersebut adalah *Staphylococcus aureus* (Sitepu *et al*, 2020). Infeksi *Staphylococcus aureus* menyebabkan timbulnya infeksi pada kulit seperti bisul, otitis media, infeksi setelah tindakan bedah, dan pneumonia (Amelia dan Burhanuddin, 2018). Penggunaan antibiotik sebagai pengobatan infeksi dari waktu ke waktu mendapatkan masalah dalam hal resistensi. Salah satu permasalahan pada pengobatan infeksi *Staphylococcus aureus* adalah munculnya *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) yaitu bagian strain *Staphylococcus aureus* yang mengalami resisten terhadap antibiotik untuk turunan penicillin, methicillin dan antibiotik β -laktam (Intan *et al*, 2021). Solusi alternatif yang dapat digunakan yaitu dengan ekstrak tanaman (Sari *et al*, 2023).

Indonesia adalah suatu negara yang memiliki banyak keanekaragaman hayati. Di Indonesia terdapat 28.000 jenis tanaman obat, sebanyak 1.845 telah diidentifikasi mempunyai sifat sebagai obat. Obat tradisional mempunyai manfaat untuk kesehatan dan saat ini banyak digunakan karena lebih mudah didapatkan oleh masyarakat, baik dalam hal harga ataupun ketersediaannya. Salah satu jenis obat tradisional yang diketahui yaitu tanaman kayu manis (Reppi *et al*, 2016).

Kulit kayu manis adalah tanaman yang biasanya digunakan untuk bumbu dalam masakan. Kandungan senyawa aktif pada kayu manis yaitu alkaloid, saponin, flavonoid, polifenol, tannin, dan minyak atsiri mengandung sinamaldehyd. Selain memiliki kegunaan sebagai antibakteri, kayu manis juga mempunyai aktivitas antidiabetes, analgesik, antijamur, antirheumatik, antioksidan, antitrombotik, dan antitumor (Mursyida dan Wati, 2021). Kayu manis memiliki aktivitas analgesik, antibakteri, anti-diabetes, anti-jamur, antioksidan, antirematik, anti-trombotik, dan anti-tumor (Nabila *et al*, 2021).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Mursyida dan Wati (2021), kulit kayu manis memiliki aktivitas antibakteri pada bakteri *E. coli* menggunakan metode difusi kertas cakram. Magetsari (2013) meneliti *C. burmannii* memiliki aktivitas antimikrobal pada *S. epidermidis* dengan metode difusi sumur agar. Mubarak *et al* (2016) dan Sejumlah penelitian juga telah menunjukkan bahwa kulit kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) mempunyai efek antibakteri dikarenakan memiliki senyawa aktif seperti alkaloid, saponin, tanin, polifenol, flavonoid, kuinon dan triterpenoid.

KLT merupakan pemisahan komponen kimia berdasarkan prinsip adsorpsi dan partisi yang ditentukan oleh fase diam (adsorben) dan fase gerak (eluen). Komponen kimia bergerak naik mengikuti fase gerak karena daya serap adsorben terhadap komponen-komponen kimia tidak sama sehingga komponen kimia dapat bergerak dengan jarak yang berbeda berdasarkan tingkat kepolarannya (Alen *et al*, 2017).

Bioautografi adalah suatu metode dengan spesifik dalam pendeteksian bercak pada hasil kromatogram KLT yang memiliki aktivitas antibakteri. Metode ini memiliki dasar dengan teknik difusi agar, dimana senyawa antibakteri akan mengalami perpindahan dari plat KLT ke medium agar yang terdapat bakteri didalamnya (Paramita *et al*, 2018).

1.2 Teori

1.2.1 Uraian Tanaman

a. Klasifikasi tanaman

Tanaman kayu manis memiliki klasifikasi sebagai berikut (Rismunandar dan Paimin, 2001; Safratilofa, 2017).

Regnum	: Plantae
Divisio	: Spermatophyta
Classis	: Dicotyledonae
Subclassis	: Dialypetalae
Ordo	: Polycarpicae
Familia	: Lauraceae
Genus	: <i>Cinnamomum</i>
Spesies	: <i>Cinnamomum burmannii</i>



Gambar 1. Simplisia kulit kayu manis

b. Morfologi tanaman

Pada daerah sub tropis dan tropis banyak terdapat kayu manis. Berbentuk pohon dengan ketinggian sekitaran 5-15 m, kulit pohon memiliki warna abu-abu tua dan bau yang khas, kayunya dengan warna merah coklat muda. Daun berbentuk tunggal, kaku seperti kulit, berselingan, panjang 0,5-1,5 cm tangkai daun dan tiga buah tulang daun tumbuh melengkung. Daunnya memiliki panjang 4-14 cm dan lebar 1,5-6 cm berbentuk elips memanjang, ujung yang runcing, tepian rata, permukaan atas licin berwarna hijau, permukaan bawah pada daun bertepung dengan warna keabu-abuan. Daun yang masih muda warnanya merah pucat. Bunga berkelamin dua atau bunga sempurna yang warna kuning (Safratilofa, 2017). Bunga majemuk malai, terdapat di ketiak daun dengan rambut halus, mahkota warna kuning. Buah buni, memiliki warna hijau waktu muda dan warna hitam ketika tua. Biji berukuran kecil, bulat telur (Baguna dan Kaddas, 2021).

c. Kandungan Tanaman

Kayu manis memiliki senyawa aktif seperti alkaloid, saponin, tanin, polifenol, flavonoid, kuinon dan triterpenoid (Mubarak *et al*, 2016). Senyawa kimia pada kulit batang *Cinnamomum burmannii* memiliki senyawa antioksidan utama seperti polifenol

(tanin, flavonoid) dan minyak atsiri. Minyak atsiri kayu manis utamanya mengandung senyawa sinamaldehida dan eugenol. (Emilda, 2018). Kandungan senyawa pada kulit kayu manis terdapat sinamaldehida, asam kafein, asam benzoat, dan trans-sinamaldehida sedangkan didaunnya terdapat eukaliptol dan sinamaldehida dimana komponen senyawa yang terdapat pada kulit kayu lebih banyak dibandingkan pada daunnya (Wulandari and Yuniarti, 2023).

d. Manfaat Tanaman

Kayu manis mempunyai fungsi antibakteri, antioksidan, antifungi, antivirus, antifungi, antitumor, penurun tekanan darah, dan kolesterol. (Emilda, 2018). Kayu manis memiliki senyawa bioaktif yang memiliki sifat fungsionalnya dalam sejumlah farmakologi seperti antimikroba, antidiabetes, antiinflamasi, antioksidan, antitumor, dan antihipertensi. Sejumlah senyawa bioaktif pada kayu manis dapat memberikan perlindungan bagi tubuh dari infeksi mikroba (Ilmi *et al*, 2022).

1.2.2 Ekstraksi

a. Pengertian Ekstraksi

Ekstraksi merupakan suatu metode penarikan kandungan kimia atau senyawa aktif dengan menggunakan pelarut atau larutan penyari yang sesuai dari bahan simplisia (Handoyo, 2020).

b. Jenis Ekstraksi Modern dan Konvensional

Ekstraksi Konvensional senyawa aktif

1. Maserasi

Maserasi merupakan metode sederhana yang paling banyak digunakan. Maserasi merupakan metode ekstraksi dengan proses perendaman bahan dengan pelarut yang sesuai yang senyawa aktifnya akan diambil tanpa adanya proses pemanasan (Chairunnisa *et al*, 2019)

2. Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya selama waktu tertentu dan dalam jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

3. Perkolasi

Perkolasi merupakan proses melewati pelarut organik pada sampel sehingga pelarut akan membawa senyawa organik bersama-sama pelarut.

4. Sokhletasi

Sokhletasi merupakan salah satu proses ekstraksi yang pelarutnya dapat dihemat karena terjadinya sirkulasi pelarut yang selalu membasahi sampel.

5. Infusa

Infusa adalah ekstraksi menggunakan pelarut air pada temperature penangas air (bejana infusa tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur 90°C) selama 15 menit.

6. Dekokta

Dekokta adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur 90°C selama 30 menit (Hasrianti *et al*, 2017)

Ekstraksi Modern

1. *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE)

UAE yaitu metode ekstraksi yang melibatkan getaran gelombang ultrasonik dengan frekuensi diatas 20 kHz (20000 Hz) dan dibantu dengan sedikit pemanasan yaitu 40°C. Gelombang ultrasonik dapat memecahkan dinding sel yang akan membantu terlepasnya senyawa aktif keluar.

2. *Microwave Assisted Extraction* (MAE)

MAE merupakan metode ekstraksi yang menggunakan energi rotasi dan energi radiasi. Adanya radiasi gelombang mikro dan getaran yang berotasi akan mengakibatkan tekanan pada dinding sel meningkat, kemudian sel membengkak (*swelling*) dan senyawa aktif yang keluar semakin banyak (Utami et al, 2020).

1.2.3 Jenis Ekstrak

Jenis-jenis ekstrak terbagi atas 3 yaitu ekstrak cair, ekstrak kental, ekstrak kering. Ekstrak cair yaitu jika ekstraknya masih bisa dituang, biasanya kadar airnya lebih dari 30%. Ekstrak kental yaitu jika memiliki kadar air antara 5-30%. Ekstrak kering yaitu jika mengandung kadar air kurang dari 5% (Voigt, 1994).

1.2.4 Penguapan Pelarut

Penguapan pelarut atau evaporasi merupakan suatu proses penguapan sebagian atau keseluruhan pelarut sehingga didapatkan ekstrak dengan konsentrasi yang lebih pekat (Artini *et al*, 2022). *Rotary evaporator* adalah suatu alat yang digunakan untuk mengubah zat cair menjadi uap dengan prinsip yaitu terjadinya penurunan tekanan pada labu alas bulat dan terputarnya labu alas bulat menyebabkan pelarut dapat menguap lebih cepat dibawah titik didihnya (Santoso *et al*, 2021).

1.2.5 Antibakteri

Antibakteri merupakan senyawa yang berfungsi dalam penghambatan bakteri. Terkadang antibakteri berada pada organisme dengan peran metabolit sekunder. Senyawa antibakteri memiliki mekanisme secara umum yaitu melakukan kerusakan pada dinding sel, perubahan permeabilitas membran, mengganggu sintesis protein, serta penghambatan aktivitas enzim. Senyawa yang memiliki fungsi dalam kerusakan dinding sel yaitu flavonoid dan alkaloid. Senyawa fitokimia ini memiliki kemampuan sebagai antibakteri bersifat alami di bakteri patogen, contoh pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* (Septiani *et al*, 2017).

Senyawa antibakteri adalah suatu senyawa yang dapat merusak pertumbuhan atau mekanisme kerja bakteri. Berdasarkan pada sifat toksisitas, antibakteri dapat mematikan bakteri (bakterisidal) dan menghambat perkembangan bakteri (bakteriostatik). Antibakteri bakteriostatik hanya menghambat perkembangan dan tidak mematikan bakteri, dibandingkan bakterisidal dapat mematikan bakteri. Bakteriostatik memiliki karakter bakteriosidal ketika konsentrasi yang tinggi (Purnamaningsih *et al*, 2017).

Antibakteri dengan spektrum luas ketika membunuh bakteri Gram positif dan Gram negatif, spektrum sempit ketika membunuh bakteri Gram positif atau Gram

negatif saja, dan spektrum terbatas hanya pada satu spesies bakteri tertentu. Beberapa mekanisme kerja antibakteri antara lain penghambatan sintesis pada dinding sel, penghambatan keutuhan permeabilitas dinding sel, penghambatan protein dinding sel, penghambatan sintesis asam nukleat, dan penghambatan metabolisme sel mikroba (Purnamaningsih *et al*, 2017).

1.2.6 KLT-Bioautografi

KLT merupakan pemisahan komponen kimia berdasarkan prinsip adsorpsi dan partisi yang ditentukan oleh fase diam (adsorben) dan fase gerak (eluen). Komponen kimia bergerak naik mengikuti fase gerak karena daya serap adsorben terhadap komponen-komponen kimia tidak sama sehingga komponen kimia dapat bergerak dengan jarak yang berbeda berdasarkan tingkat kepolarannya (Alen *et al*, 2017).

Bioautografi adalah suatu metode dengan spesifik dalam pendeteksian bercak pada hasil kromatogram KLT yang memiliki aktivitas antibakteri. Metode ini memiliki dasar dengan teknik difusi agar, dimana senyawa antibakteri akan mengalami perpindahan dari plat KLT ke medium agar yang telah terdapat bakteri didalamnya (Paramita *et al*, 2018).

1.3 Rumusan Masalah

1. Apakah ekstrak kulit kayu manis memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*?
2. Konsentrasi berapa ekstrak etanol kulit kayu manis yang efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*?
3. Senyawa apa yang terkandung pada ekstrak etanol kulit kayu manis yang diduga berperan sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*?

1.4 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak kulit kayu manis terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.
2. Untuk mengetahui konsentrasi ekstrak etanol kulit kayu manis yang efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.
3. Untuk mengetahui senyawa yang terkandung pada ekstrak etanol kulit kayu manis yang diduga berperan sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan yaitu autoklaf (*All American Model 25X-2*[®]), *Biosafety Cabinet* (*Thermo*[®]), bunsen, *chamber*, *cotton swab*, Erlenmeyer, *hotplate* (*Oxone*[®]), inkubator (*Memmert*[®]), jangka sorong (*Tricle Brand*[®]), Lampu UV 254 nm dan 366 nm, mikropipet (*Dragonlab*[®]), oven (*Ecocell*[®]), sonikator (*Elma*[®]), timbangan analitik, *rotary evaporator* (*Hiedolph*[®]), vortex dan alat-alat gelas lainnya.

Bahan-bahan yang digunakan yaitu aquadest, *Chloramphenicol disc*, etanol 96%, etil asetat, *paperdisc* (*Oxoid*[®]), kulit kayu manis (*Cinnamomum burmannii* (Nees & T.Nees) Blume.), lempeng silika gel GF254, medium *Mueller Hinton Agar* (*Merck*[®]), medium *Nutrient Agar* (*Merck*[®]), bakteri uji *Staphylococcus aureus*, n-Heksan, NaCl 0,9%, reagen Dragendorf, reagen AlCl₃, reagen Vanilin H₂SO₄, dan lainnya.

2.2 Metode Penelitian

2.2.1 Penyiapan dan Preparasi Sampel

Sampel kulit kayu manis diambil di pasar tradisional Kota Makassar. Kulit kayu manis dibersihkan dari kotoran, dipotong menjadi ukuran yang lebih kecil, dan ditumbuk sehingga didapatkan simplisia dari kulit kayu manis.

2.2.2 Ekstraksi dan Penguapan Sampel

Simplisia kulit kayu manis dimaserasi menggunakan sonikator dengan pelarut etanol 96%. Ditimbang 100 gram simplisia kulit kayu manis dan dimasukkan kedalam Erlenmeyer, dibasahi dengan sedikit pelarut, dan dicukupkan hingga 1000 mL pelarut etanol 96% (1:10) kemudian disonikasi selama 30 menit. Ekstrak cair yang didapatkan disaring menggunakan kertas saring. Selanjutnya, dilakukan remaserasi dengan cara residu sampel disonikasi menggunakan pelarut baru kemudian disaring. Ekstrak cair yang telah didapatkan diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 40°C hingga didapatkan ekstrak kental etanol kulit kayu manis. Ekstrak kental ditempatkan pada cawan porselen, kemudian dimasukkan ke dalam deksikator yang berisi silika gel.

2.2.3 Pembuatan Seri Konsentrasi Sampel

Ekstrak kemudian dibuat dengan seri konsentrasi 1,25%, 2,5%, 5%, dan 10% b/v. Ekstrak ditimbang sebanyak 0,1 gram dilarutkan dengan 1 mL etanol 96% untuk konsentrasi 10%. Konsentrasi 5% dibuat dengan mengambil 0,5 mL dari konsentrasi 10% dan dicukupkan hingga 1 mL dengan etanol 96%. Konsentrasi 2,5% dibuat dengan mengambil 0,5 mL dari konsentrasi 5% dan dicukupkan hingga 1 mL

dengan etanol 96%. Konsentrasi 1,25% dibuat dengan mengambil 0,5 mL dari konsentrasi 2,5% dan dicukupkan hingga 1 mL dengan etanol 96%. Selanjutnya, Ekstrak yang diperoleh diuji aktivitasnya terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

2.2.4 Uji Aktivitas Antibakteri

2.2.4.1 Sterilisasi Alat

Alat-alat yang digunakan dibersihkan dengan air mengalir dan dikeringkan. Alat gelas yang tidak berskala dan tahan panas disterilkan menggunakan oven pada suhu 180°C selama 2 jam sedangkan alat gelas berskala dan tidak tahan panas (berbahan karet dan plastik) disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

2.2.4.2 Pembuatan Media

Ditimbang sebanyak 2,0 g *Nutrient Agar* kemudian masukkan ke dalam Erlenmeyer, ditambahkan sedikit demi sedikit akuades hingga 80 mL, lalu homogenkan. Media dipanaskan hingga jernih kemudian cukupkan media hingga 100 mL dengan akuades. Media disterilkan pada autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C.

Ditimbang sebanyak 3,4 g *Mueller Hinton Agar* kemudian masukkan ke dalam Erlenmeyer, ditambahkan sedikit demi sedikit akuades hingga 80 mL, lalu homogenkan. Media dipanaskan hingga jernih kemudian cukupkan media hingga 100 mL dengan akuades. Media disterilkan pada autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C.

2.2.4.3 Peremajaan Bakteri Uji

Dimasukkan media NA ke dalam tabung reaksi, tutup dengan kapas steril, dimiringkan sekitar 45°. Setelah memadat, Digoreskan 1 ose bakteri pada media NA miring dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

2.2.4.4 Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Diambil 1 ose bakteri *Staphylococcus aureus* yang telah diremajakan lalu disuspensikan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi larutan NaCl 0,9% steril, kemudian dibandingkan dengan kekeruhan 0,5 McFarland.

2.2.4.5 Pengujian Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi agar. Tuang media MHA ke dalam cawan petri hingga memadat, Goreskan suspensi bakteri uji pada media menggunakan *cotton swab*. Sampel uji dengan konsentrasi 1,25%, 2,5%, 5%, 10%, dan kontrol negatif (etanol 96%) diteteskan pada *paper disc* masing-masing sebanyak 20 µL menggunakan mikropipet. Diletakkan *paper discs* sampel uji, kontrol positif (*chloramphenicol disc*) dan kontrol negatif pada cawan petri yang berisi media dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Daerah dengan zona bening

dapat diukur dengan jangka sorong dengan satuan milimeter (mm). Ekstrak kulit kayu manis kemudian diuji dengan KLT-Bioautografi.

2.2.5 KLT-Bioautografi

Lempeng silika gel GF254 diaktifkan terlebih dahulu pada oven dengan suhu 105°C selama 15 menit. Lempeng yang telah dipanaskan yaitu 1 lempeng untuk pengujian KLT-Bioautografi dan 4 untuk skrining fitokimia ditotolkan ekstrak menggunakan pipa kapiler lalu dimasukkan kedalam chamber yang telah berisi n-Heksan dan etil asetat (9:1) sebagai cairan pengelusi. Setelah itu, diamati dibawah sinar UV 254 nm dan 366 nm. Uji KLT-Bioautografi yaitu dimasukkan media MHA pada cawan petri didiamkan hingga memadat, goreskan suspensi bakteri uji pada media menggunakan *cotton swab*. Plat KLT yang telah dielusi diletakkan menghadap ke media agar lalu dimasukkan dilemari pendingin selama 30 menit kemudian plat KLTnya dilepaskan. Selanjutnya, diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C.

2.2.6 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan dengan disemprotkan beberapa reagen yaitu Dragendorff, AlCl_3 , vanillin. H_2SO_4 , dan FeCl_3 pada lempeng KLT berbeda yang telah dielusi sebelumnya lalu dipanaskan jika diperlukan.

2.2.7 Analisis Hasil

Selanjutnya, hasil penelitian dianalisis, dibahas, dan ditarik sebuah kesimpulan.