

**ORIGINAL ARTICLE**

J Sains Farm Klin 7(3):194–201 (Desember 2020) | DOI: 10.25077/jsfk.7.2.194-201.2020

Aktivitas Antibakteri Fraksi Serbuk Kayu Eboni (*Diospyros celebica* Bakh.) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

(Antibacterial activity of ebony wood (*Diospyros celebica* Bakh.) fractions against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*)

Arsa Wahyu Nugrahani*, **Mohammad Farid Maulida** & **Akhmad Khumaidi**

Jurusan Farmasi, FMIPA Universitas Tadulako, Tondo, Kec. Palu Tim., Kota Palu, Sulawesi Tengah

ABSTRACT: Ebony (*Diospyros celebica* Bakh.) is one of the typical trees in Sulawesi. Wood sawdust as a by-product of wood processing has not been utilized further. It is reported that the ethanol extract of ebony wood powder exhibit antibacterial activities. This study aimed to separate the antibacterial the fractions. The liquid-liquid phase separation method was conducted by using hexane, ethyl acetate, n-butanol, and water as the solvents. The antibacterial activity of these fractions was by the disk and TLC-bioautography diffusion methods of bioactive compounds using chromogenic reagents. The results showed that at the concentration of 1 mg/µL, the n-hexane fraction had the highest inhibitory activity against *Escherichia coli* with the inhibitory zone diameter of 12.53 mm containing steroids as the chemical constituents. Meanwhile, the most active fraction that inhibited the growth of *Staphylococcus aureus* was the ethyl acetate fraction with the inhibitory zone diameter of 14.77 mm containing terpenoids, phenolics, and steroids.

Keywords: *Diospyros celebica* Bakh.; disk diffusion; TLC-bioautography; antibacterial; *Escherichia coli*; *Staphylococcus aureus*.

ABSTRAK: Eboni (*Diospyros celebica* Bakh.) merupakan salah satu pohon khas daerah Sulawesi. Serbuk kayu sebagai hasil sampingan dari pengolahan kayu ini belum dimanfaatkan secara maksimal. Hasil penelitian pendahuluan menyatakan bahwa ekstrak etanol serbuk kayu eboni memiliki aktivitas antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan pemisahan senyawa antibakteri yang terdapat di dalamnya dengan metode fraksinasi cair-cair menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat, n-butanol, dan air, serta pengujian aktivitas antibakteri dari fraksi-fraksi tersebut dengan metode difusi cakram dan KLT bioautografi. Identifikasi golongan senyawa dari fraksi aktif dilakukan dengan menggunakan pereaksi kromogenik. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada konsentrasi 1 mg/µL, fraksi n-heksan merupakan fraksi yang memberikan diameter hambat tertinggi terhadap *Escherichia coli* yakni sebesar 12,53 mm dengan golongan senyawa yang memiliki aktivitas penghambatan adalah steroid. Sedangkan fraksi etil asetat memiliki diameter hambat tertinggi terhadap *Staphylococcus aureus* yakni sebesar 14,77 mm dengan golongan senyawa yang memberikan zona hambat yaitu terpenoid, fenolik, dan steroid.

Kata kunci: kayu eboni; *Diospyros celebica* Bakh.; Antibakteri; *Escherichia coli*; *Staphylococcus aureus*.

Pendahuluan

Eboni (*Diospyros celebica* Bakh.) merupakan salah satu jenis pohon endemik yang tumbuh di daerah Sulawesi Tengah dan Sulawesi Selatan (Gambar 1). Pohon ini memiliki nilai ekonomi yang cukup tinggi karena digunakan dalam pembuatan berbagai produk sehingga dapat meningkatkan devisa negara [1]. Sayangnya, serbuk yang merupakan hasil sampingan yang berlimpah dari pengolahan kayu eboni belum banyak dimanfaatkan.

Penelitian terdahulu telah mengungkap potensi ekstrak serbuk kayu eboni sebagai fungisida dan bakterisida [2]. Aktivitas fungisida ditunjukkan oleh ekstrak serbuk kayu eboni (*Diospyros celebica* Bakh.) pada konsentrasi 1% sampai

5% dalam menghambat pertumbuhan jamur *Phytophthora palmivora* yang merupakan penyebab pembusukan pada buah. Aktivitas antijamur ini disebabkan oleh adanya beberapa senyawa metabolit sekunder seperti terpenoid, saponin, dan tannin yang diduga bersifat toksik terhadap jamur tersebut [3]. Penelitian lain juga telah memperkuat adanya aktivitas antibakteri serbuk kayu ini dengan teridentifikasinya golongan senyawa aktif dalam ekstrak etanol seperti tanin, saponin, dan terpenoid yang terlihat pada hasil KLT bioautografi. Ekstrak serbuk kayu eboni memiliki nilai kadar hambat minimum (KHM)

Article history

Received: 13 Feb 2020

Accepted: 20 Okt 2020

Published: 30 Des 2020

Access this article

*Corresponding Author: Arsa Wahyu Nugrahani
Jurusan Farmasi, FMIPA Universitas Tadulako, Tondo, Kec. Palu Tim,
Kota Palu, Sulawesi Tengah, 94148 | Email: arsa_wahyu@yahoo.com

terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* pada konsentrasi 6% dan 7% serta nilai kadar bunuh minimum (KBM) pada konsentrasi 12% dan 13%, secara berturut-turut [4].

Penelitian untuk memisahkan senyawa antibakteri yang terdapat pada ekstrak serbuk kayu eboni perlu dilakukan. Hal ini sekaligus untuk mengetahui potensi senyawa antibakteri yang terdapat dalam hasil pemisahan ekstrak serbuk kayu eboni menggunakan beberapa pelarut yang memiliki tingkat kepolaran yang berbeda. Identifikasi juga perlu dilakukan terhadap senyawa hasil fraksinasi yang dapat menghambat atau membunuh bakteri khususnya bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri fraksi *n*-heksan, etil asetat, *n*-butanol dan air serbuk kayu eboni terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan menggunakan metode difusi cakram serta untuk mengetahui golongan senyawa aktif yang memberikan aktivitas tersebut.

Metode Penelitian

Bahan

Serbuk kayu eboni (*Diospyros celebica* Bakh.) diperoleh dari Desa Kalukubula, Kecamatan Sigi Biromaru, Kabupaten Sigi, Sulawesi Tengah. Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* didapatkan dari Balai Laboratorium Kesehatan Provinsi Sulawesi Tengah. Bahan-bahan yang digunakan meliputi air suling, etanol 96% (Bratachem, Indonesia), *n*-heksan (Merck, Jerman), etil asetat (Merck, Jerman), *n*-butanol (Merck, Jerman), dimetilsulfoksida (DMSO) (Merck, Jerman), lempeng KLT GF₂₅₄ nm (Merck, Jerman), asam sulfat (H₂SO₄) 10 % (Merck, Jerman), pereaksi besi (III) klorida (FeCl₃) 1 % (Merck, Jerman),

pereaksi anisaldehid-asam sulfat, pereaksi Lieberman-Burchard, larutan 0,5 McFarland I, larutan NaCl 0,9% (Merck, Jerman), medium *Nutrient Agar* (NA) (OXOID, Inggris), medium *Nutrient Broth* (NB) (OXOID, Inggris).

Ekstraksi

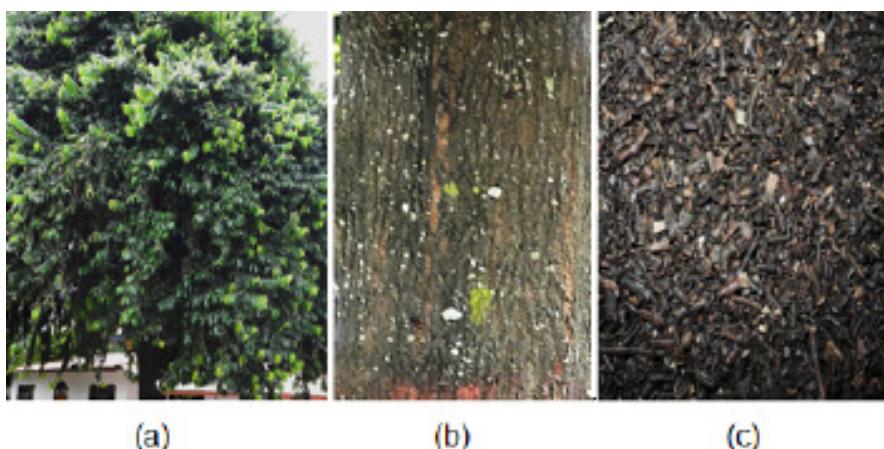
Sebanyak 300 g serbuk kayu eboni dimaserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 3 L. Ekstraksi dilakukan selama 5x24 jam dan dilakukan pengadukan setiap 1x24 jam. Maserat disaring lalu dipekatkan menggunakan *vacuum rotary evaporator* (Eyela N-1110S-W-D, Jepang) pada suhu 70°C dengan kecepatan 100 rpm sampai semua pelarut menguap, kemudian dikeringkan.

Fraksinasi

Fraksinasi dilakukan dengan metode FCC (fraksinasi cair-cair) dengan pelarut *n*-heksan, etil asetat, *n*-butanol dan air secara berkesinambungan. Sebanyak 28,64 g ekstrak disuspensikan dalam 60 mL air-etanol (2:1), kemudian ditambahkan air hingga 200 mL. Campuran ini dimasukkan ke dalam corong pisah kemudian ditambahkan 200 mL *n*-heksan, dikocok secara perlahan-lahan, lalu didiamkan hingga terbentuk 2 fase/lapisan. Lapisan *n*-heksan dipisahkan, kemudian lapisan airnya dipartisi kembali sampai lapisannya berwarna bening. Fraksinasi dilanjutkan menggunakan etil asetat dan *n*-butanol jenuh air dengan proses yang sama. Fraksi *n*-heksan cair, fraksi etil asetat cair, fraksi *n*-butanol cair dan fraksi air diuapkan pada suhu 50°C sampai diperoleh fraksi kering.

Pengujian Aktivitas Antibakteri

Pengujian antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi agar, yaitu dengan cara *Nutrient Agar* (NA) dalam keadaan cair dimasukkan ke dalam cawan petri yang



Gambar 1. Bentuk pohon eboni, batang eboni serbuk kayu eboni

Tabel 1. Hasil fraksinasi serbuk kayu eboni (*Diospyros celebica* Bakh.)

Fraksi	Bobot Fraksi (g)	Persen Rendemen Fraksi (%)
n-Heksan	4,29	14,97
Etil asetat	13,33	46,54
n-Butanol	5,98	20,87
Air	0,45	1,57
Recovery	24,05	83,95

masing-masing berisi 0,1 mL suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* yang kekeruhannya setara dengan larutan standar 0,5 Mc Farland I ($1,5 \times 10^8$ CFU/mL). Medium dihomogenkan lalu dibiarkan memadat secara merata. Paper disc (diameter 6 mm) diletakkan di atas permukaan agar kemudian ditetesi bahan uji dengan konsentrasi 0,25; 0,5; 0,75 dan 1 mg/ μ L sebanyak 5 μ L, lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

KLT Bioautografi

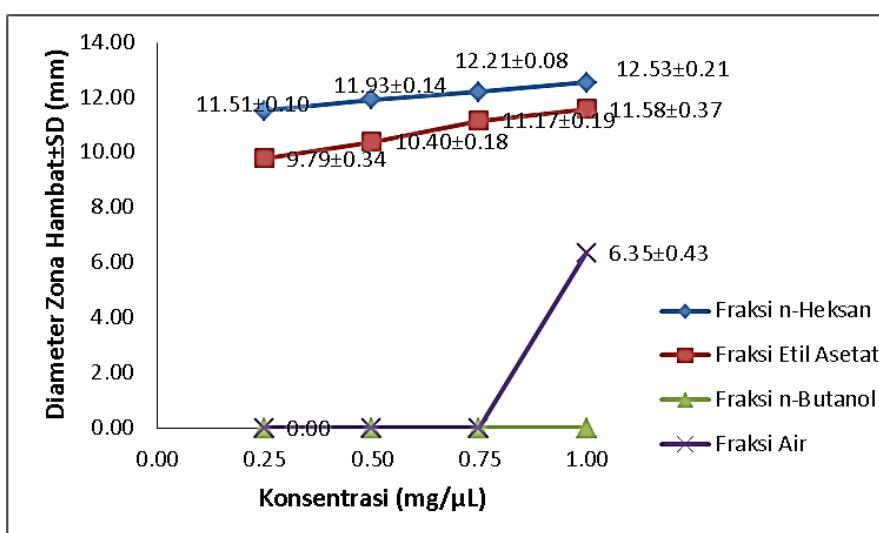
Sebanyak 0,1 mL suspensi bakteri diinokulasikan ke dalam cawan petri steril lalu ditambahkan 10 mL medium NA. Fraksi dengan aktivitas antibakteri tertinggi ditimbang 2 mg dan dilarutkan dalam 600 μ L, kemudian ditotolkan sebanyak 5 μ L pada pelat KLT dengan *loading dose* 15 μ g kemudian dielusi menggunakan eluen dengan pemisahan terbaik. Pelat ini diletakkan pada permukaan media agar dan diinkubasi pada suhu 37oC selama 1x24 jam. Zona hambat yang terbentuk kemudian diamati [5].

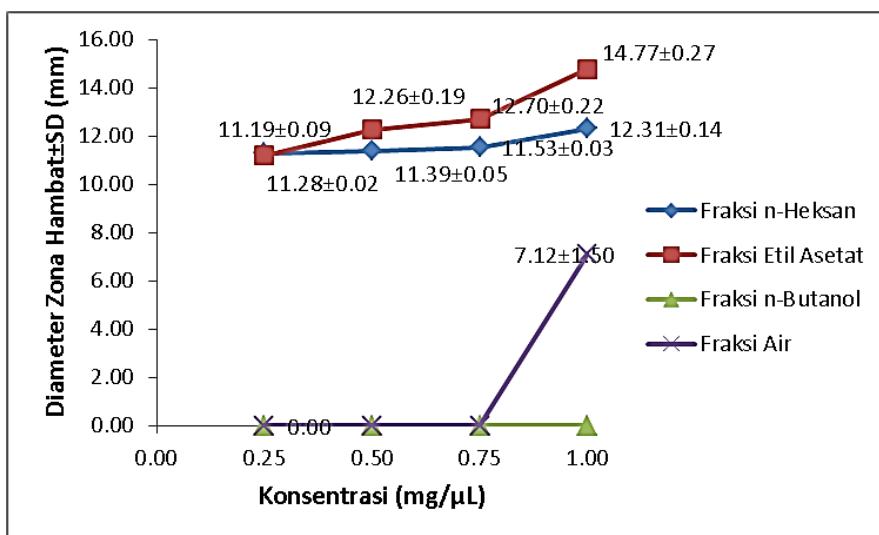
Identifikasi Senyawa

Hasil uji KLT bioautografi kemudian diidentifikasi golongan senyawa antibakterinya menggunakan pereaksi semprot FeCl_3 1%, H_2SO_4 10%, pereaksi anisaldehid-asam sulfat, dan pereaksi Liebermann-Burchard [4,6].

Hasil dan Diskusi

Serbuk kayu eboni diperoleh dari produk samping pengolahan kayu eboni yang dipisahkan dari pengotor dan ditampung dalam wadah kering. Serbuk ini tidak melalui proses pengolahan simplisia seperti pada umumnya yang menggunakan pencucian dengan air mengalir. Hal ini karena senyawa-senyawa pada serbuk kayu eboni dapat langsung terekstraksi dengan adanya air [3]. Hasil ekstraksi serbuk kayu eboni dengan metode maserasi menghasilkan ekstrak kental sebanyak 29,92 g dengan nilai persen rendemen 9,97%. Hasil ini lebih rendah jika dibandingkan dengan yang telah dilakukan oleh Wahyuni et al [4]. Hal ini diduga karena tidak dilakukannya proses remerasasi,

**Gambar 2.** Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi terhadap *Escherichia coli*, $n=3$



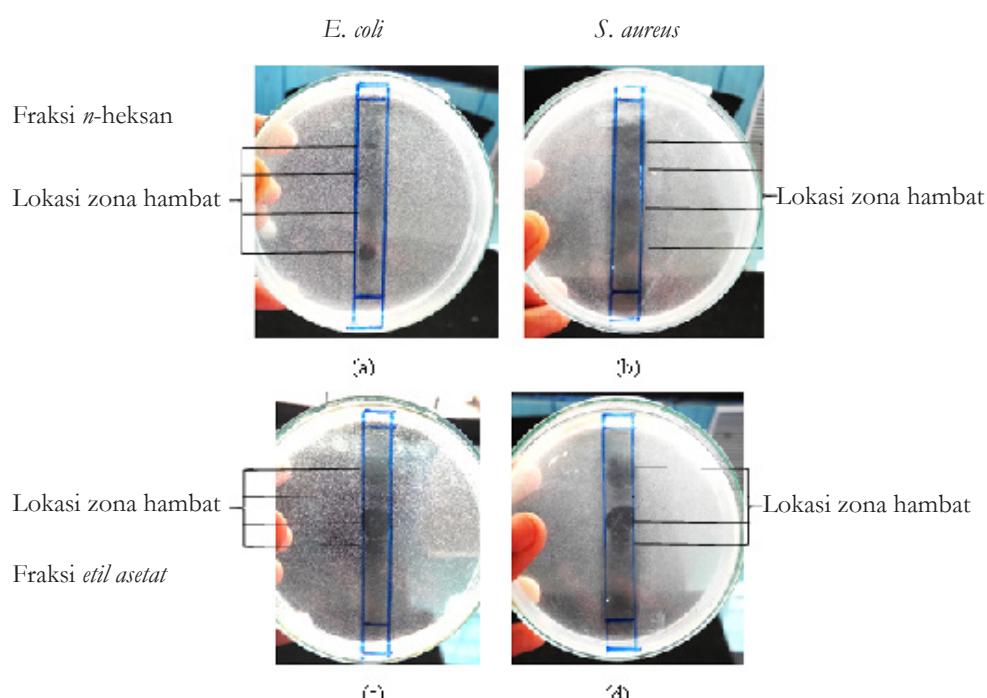
Gambar 3. Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi terhadap *Staphylococcus aureus*, $n=3$

sehingga rendemen yang dihasilkan lebih sedikit. Proses remaserasi dapat membantu melarutkan senyawa-senyawa yang sebelumnya tidak terlarutkan akibat telah jenuhnya pelarut oleh senyawa yang telah terekstraksi, atau karena telah terjadi kesetimbangan di luar dan di dalam sel. Proses remaserasi memberikan keterulangan kontak antara bahan yang akan diekstraksi dengan pelarut yang digunakan [10]. Hal ini akan memberikan kecenderungan peningkatan jumlah ekstrak yang diperoleh [11].

Hasil fraksinasi sampel dengan metode fraksinasi cair-cair dapat dilihat pada Tabel 1. Hasil tersebut

menunjukkan bahwa ekstrak etanol serbuk kayu eboni setelah dipartisi memiliki kecenderungan larut dalam pelarut etil asetat (relatif banyak yang bersifat semipolar). Hal ini sejalan dengan hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Ariyanti dkk (2016), di mana fraksi semipolar (etil asetat-aseton) memiliki variasi komponen kimia yang lebih banyak dibandingkan dengan fraksi nonpolar dan fraksi polarnya [12].

Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi dari serbuk kayu eboni terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan metode *disk diffusion* menunjukkan bahwa



Gambar 4. Hasil KLT bioautografi

Tabel 2. Hasil identifikasi senyawa antibakteri fraksi *n*-heksan menggunakan pereaksi semprot

Identifikasi Senyawa	Nilai Rf	Warna noda		
		UV 254 nm	UV 366 nm	Pereaksi Semprot
Fenolik (FeCl_3 1 %)	0,24	Hitam	Coklat	-
	0,45	Hitam	Merah muda	-
	0,77	Hitam	Biru	-
	0,95	Hitam	Ungu	-
Saponin (H_2SO_4 10 %)	0,24	Hitam	Coklat	-
	0,45	Hitam	Merah muda	-
	0,77	Hitam	Biru	-
	0,95	Hitam	Ungu	-
Terpenoid (anisaldehid-asam sulfat)	0,24	Hitam	Coklat	-
	0,45	Hitam	Merah muda	-
	0,77	Hitam	Biru	-
	0,95	Hitam	Ungu	-
Steroid (Lieberman-Burchard)	0,24	Hitam	Coklat	Coklat
	0,45	Hitam	Merah muda	Coklat
	0,77	Hitam	Biru	Coklat
	0,95	Hitam	Ungu	-

fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air dapat menghambat pertumbuhan kedua jenis bakteri tersebut, namun tidak demikian halnya dengan fraksi *n*-butanol. Hasil pengukuran diameter zona hambat dari fraksi dapat dilihat pada [Gambar 2](#) dan [Gambar 3](#). Potensi aktivitas antibakteri terbesar ditunjukkan oleh fraksi *n*-heksan terhadap bakteri *E. coli* dan fraksi etil asetat terhadap bakteri *S. aureus*, sedangkan fraksi air memiliki aktivitas yang rendah terhadap kedua jenis bakteri ini. Perbedaan potensi antibakteri pada kedua fraksi yang aktif terhadap bakteri ini diduga karena pada fraksi *n*-heksan terdapat senyawa yang lebih berpengaruh terhadap bakteri *E. coli*, sedangkan pada fraksi etil asetat terdapat senyawa yang lebih memiliki aktivitas penghambatan terhadap bakteri *S. aureus* dibandingkan dengan *E. coli*.

Perbedaan aktivitas dari senyawa-senyawa yang terdapat pada kedua fraksi tersebut terhadap kedua jenis bakteri uji diduga karena senyawa antibakteri bekerja secara bersamaan pada koloni bakteri yang sama. Pada dasarnya, hal ini dapat memberikan efek berupa salah satu diantara hal berikut: (1) efek tidak berbeda, yaitu kerja kombinasi tidak lebih besar daripada kerja agen yang lebih efektif bila digunakan tunggal; (2) efek bertambah, yaitu kerja kombinasi setara dengan jumlah kerja masing-masing

obat bila digunakan tunggal; atau (3) sinergisme, yaitu kerja kombinasi secara nyata lebih besar dari pada jumlah kedua efek; atau (4) antagonisme, yaitu kerja kombinasi kurang efektif daripada kerja agen yang lebih efektif bila digunakan tunggal [\[9\]](#). Selain senyawa yang berkontribusi dalam memberikan aktivitas antibakteri pada fraksi, sifat dan morfologi dari kedua jenis bakteri yang berbeda juga memungkinkan memberikan pengaruh terhadap perbedaan potensi antibakteri dari kedua fraksi tersebut.

Uji aktivitas antibakteri fraksi-fraksi dengan potensi tertinggi dilanjutkan dengan menggunakan metode bioautografi kontak. Hasil pengujian aktivitas antibakteri dengan metode ini dapat dilihat pada [Gambar 4](#). Senyawa-senyawa (noda) yang memberikan aktivitas penghambatan dari hasil KLT bioautografi dapat dilihat dari nilai Rf masing-masing noda.

Hasil identifikasi golongan senyawa melalui kromatografi lapis tipis dapat dilihat pada [Tabel 2](#) dan [Tabel 3](#). Dari hasil tersebut, diduga senyawa yang memberikan penghambatan pertumbuhan bakteri pada fraksi *n*-heksan adalah golongan senyawa steroid sedangkan pada fraksi etil asetat yaitu golongan senyawa terpenoid, fenolik dan steroid. Hasil ini diperkuat dengan hasil identifikasi KLT fraksi *n*-heksan terhadap noda yang menghambat

Tabel 3. Hasil identifikasi senyawa antibakteri fraksi etil asetat menggunakan pereaksi semprot

Identifikasi Senyawa	Nilai Rf	Warna noda		
		UV 254 nm	UV 366 nm	Pereaksi Semprot
Fenolik (FeCl_3 1 %)	0,41	Hitam	Ungu	-
	0,51	Hitam	Ungu	Merah kecoklatan
	0,65	Hitam	Biru	Coklat
	0,78	Hitam	Biru	Coklat
Saponin (H_2SO_4 10 %)	0,41	Hitam	Ungu	-
	0,51	Hitam	Ungu	Coklat
	0,65	Hitam	Biru	-
	0,78	Hitam	Biru	-
Terpenoid (anisaldehid-asam sulfat)	0,41	Hitam	Ungu	-
	0,51	Hitam	Ungu	Hijau kebiruan
	0,65	Hitam	Biru	Hijau
	0,78	Hitam	Biru	Ungu
Steroid (Lieberman-Burchard)	0,41	Hitam	Ungu	-
	0,51	Hitam	Ungu	Hitam
	0,65	Hitam	Biru	-
	0,78	Hitam	Biru	Coklat

pertumbuhan bakteri memberikan perubahan warna dari tidak berwarna (secara visibel) menjadi coklat setelah disemprot dengan pereaksi Liebermann-Burchard dan setelah dipanaskan pada ketiga noda (R_f 0,24; 0,45; 0,77) dengan satu noda yang belum teridentifikasi (R_f 0,95) sehingga diperlukan identifikasi lebih lanjut [13]. Pada fraksi etil asetat noda dengan R_f 0,51 setelah disemprot dengan pereaksi anisaldehid asam sulfat dan setelah dipanaskan memberikan warna biru. Hasil tersebut menunjukkan bahwa senyawa tersebut diduga adalah senyawa terpenoid (monoterpen) [14]. Noda dengan R_f 0,65 setelah disemprot dengan pereaksi ferri klorida memberikan warna coklat. Hasil ini menunjukkan noda tersebut merupakan senyawa fenolik (asam fenolat) yang diduga merupakan asam vanilat [15]. Untuk noda dengan R_f 0,78 menunjukkan perubahan warna menjadi warna coklat setelah disemprot dengan pereaksi Liebermann-Burchard dan setelah dipanaskan. Hasil ini memberikan gambaran bahwa noda dengan R_f 0,78 tersebut diduga senyawa steroid [13]. Noda dengan nilai R_f 0,41 belum dapat dideteksi sehingga masih membutuhkan penelusuran lanjutan.

Hasil penelitian yang telah dilakukan sebelumnya menunjukkan adanya tiga golongan senyawa yaitu tannin,

saponin, dan terpenoid pada ekstrak etanol serbuk kayu eboni [4]. Pada penelitian lanjutan ini mengenai aktivitas antibakteri fraksi dari serbuk kayu eboni menunjukkan hasil yang relatif serupa dengan penelitian ekstrak kayu eboni dengan terdeteksinya senyawa terpenoid, steroid dan fenolik. Steroid telah dilaporkan memiliki sifat antibakteri. Hubungan antara membran lipid dan sensitivitas dari komponen steroid menunjukkan bahwa mekanisme gabungan antara steroid spesifik dengan membran lipid melalui beberapa aksi dapat menyebabkan bocornya liposom [16]. Mekanisme penghambatan pertumbuhan bakteri oleh senyawa terpenoid diduga karena senyawa tersebut akan bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin merupakan pintu keluar masuknya substansi, mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri yang akan mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati [17]. Senyawa-senyawa fenolik seperti asam-asam fenolat juga memiliki aktivitas antibakteri [16]. Senyawa-senyawa asam fenolat dapat menonaktifkan sel-sel CREC (carbapenem-resistant *Enterobacter cloacae*) dan pembentukan biofilm. Senyawa

tersebut bisa menginduksi lisis sel yang mengakibatkan kerusakan membran sel dan kebocoran komponen intraseluler sel CREC. Selain itu, senyawa fenolat pada dua kali konsentrasi *minimum inhibition concentration* (2MIC) dapat menonaktifkan sel CREC biofilm dan karenanya berpotensi digunakan sebagai agen antibakteri alami untuk mengendalikan kontaminasi CREC terutama di industri makanan [19].

Senyawa steroid dapat terlarut ke dalam pelarut non-polar seperti *n*-heksan dan juga semipolar seperti etil asetat. Hasil ini sesuai dengan penelitian-penelitian lain yang menyatakan bahwa senyawa-senyawa steroid dari fraksi *n*-heksan memiliki aktivitas sebagai antibakteri [20-23]. Hal yang berbeda terjadi pada senyawa terpenoid yang memiliki kemampuan melarut dalam pelarut yang memiliki tingkat kepolaran yang lebih tinggi dari *n*-heksan seperti etil asetat, sebagaimana penelitian mengenai isolasi daun gaharu yang dilakukan oleh Yusuf dkk. (2016) menyatakan bahwa dalam fraksi etil asetat terdapat senyawa fidelanol yang merupakan golongan senyawa terpenoid [24]. Menurut literatur yang relevan, serbuk kayu eboni mengandung senyawa 6a, 12a-dihydro-6H-(1,3)dioxolo 5,6) benzofuro (3,2-c) chromen-3-ol yang telah diketahui memiliki aktivitas antiangiogenik, senyawa benzene, 1,2,3-trimethoxy-5(2-propenyl) dengan aktivitas antioksidan, antiinflamasi, efek antitrombosis dan hipolipidemik, senyawa 3-O-methyl-d-glukosa yang memiliki sifat dapat melindungi sel beta pankreas terhadap toksitas dari alloxan, senyawa *p-cresol* berperan dalam disfungsi endotel pada pasien uremik, dan itu dapat memperbaiki luka dan mengurangi perkembangan endotel. Selain itu, terdapat juga senyawa 2-naphthalenemethanol, decahydro-.alpha., .alpha., 4a-trimethyl-8-methylene-, [2R-(2.alpha., 4a.alpha., 8a.beta.)] dengan khasiat obat batuk dan pengencer dahak serta detoksifikasi [25].

Kesimpulan

Fraksi yang memiliki aktivitas antibakteri terbesar dari serbuk kayu eboni (*Diospyros celebica* Bakh.) terhadap bakteri *Escherichia coli* adalah fraksi *n*-heksan dan fraksi etil asetat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Golongan senyawa aktif yang diduga memiliki aktivitas antibakteri yaitu steroid pada fraksi *n*-heksan dan terpenoid, fenolik, steroid pada fraksi etil asetat.

Ucapan Terima Kasih

Kami ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Bapak Prof. Dr. Ramadanil, M.Si. dan Bapak

Sahlan, S.Si., dari Laboratorium Biodiversitas Jurusan Biologi FMIPA Universitas Tadulako yang telah membantu mengidentifikasi sampel yang digunakan pada penelitian ini.

Referensi

- [1]. Pitopang R, Khairuddin I, Thoa A, Burhanudin I. 100 Pohon-pohon khas Sulawesi. Palu: UNTAD Press; 2009.
- [2]. Pitopang R, dan Nur A. Potensi ekstrak limbah serbuk gergaji kayu eboni (*Diospyros celebica* Bakh.) sebagai pestisida botani untuk mengendalikan hama *Helopeltis antonii* Sign. Palu: Universitas Tadulako;1997.
- [3]. Alwi, M, Ramadanil, Puspa DW. Ekstrak serbuk gergaji kayu eboni (*Diospyros celebica* Bakh.) sebagai fungisida terhadap *Phytophthora palmivora* Butler. Biocelebes. 2010;4(2):89-97.
- [4]. Wahyuni, Ibrahim N, Nugrahani AW. Uji Aktivitas antibakteri ekstrak serbuk gergaji kayu eboni (*Diospyros celebica* Bakh.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Biocelebes. 2018;12(1):54-64.
- [5]. Etame RE, et al. Effect of fractioning on antibacterial activity of Enantia chlorantha Oliver (Annonaceae) methanol extract and mode of action. Evid Based Complement Alternat Med. 2018;4831593. <https://doi.org/10.1155/2018/4831593>
- [6]. Cunhaa LCS, et al. Bioassay-guided fractionation and antimicrobial and cytotoxic activities of Cassia bakeriana extracts. Rev Bras Farmacogn. 2017;27(1):91-8. <https://doi.org/10.1016/j.bjfp.2016.08.002>
- [7]. Choma IM, Jesionek W. TLC-direct bioautography as a high throughput method for detection of antimicrobials in plants. Chromatography. 2015;2:225238. <https://doi.org/10.3390/chromatography2020225>
- [8]. Khumaidi A, Maulina K, Nugrahani AW. Aktivitas antibakteri fraksi *Allium ascalonicum* Linn asal lembah Palu terhadap *Shigella dysenteriae*. Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia. 2019;17(2):199-209. <https://doi.org/10.35814/jifi.v17i2.728>
- [9]. Brooks GF, Butel JS, Morse SA. Mikrobiologi Kedokteran : Jawetz, Melnick, & Adelberg, Ed.23. Terjemahan dari Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology, 23thEd. Hartono H, Rachman C, Dimanti A, Diani A. (penerjemah); Elferia RN, Ramadhan D, Karolina S, Indriyani F, Rianti SSP, Yulia P. (editor). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC; 2008.
- [10]. Departemen Kesehatan RI. Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat. Jakarta : Direktorat Pengawasan Obat Tradisional Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 2000.
- [11]. Ningsih G, Utami SR, Nugrahani RA. Pengaruh lamanya waktu ekstraksi remaserasi kulit buah Durian terhadap rendemen saponin dan aplikasinya sebagai zat aktif anti jamur. Konversi. 2015;4(1):8-16.
- [12]. Ariyanti, Budiarso E, Budi AS, Kusuma IW. Analisis fitokimia ekstrak kayu eboni (*Diospyros celebica* Bakh.). Warta Rimba. 2016;4(2):61-8.
- [13]. Waksmundzka-Hajnos M, Sherma J, Kowalska T. Thin layer chromatography in phytochemistry. Boca Raton : CRC Press, Taylor & Francis Group; 2008.
- [14]. Gerlac ADCL, Gadea A, Silveira RMBD, Clerc P, Dévéhat FL. The use of anisaldehyde sulfuric acid as an alternative spray reagent in TLC analysis reveals three classes of compounds in the genus Usnea adans (Parmeliaceae, lichenized Ascomycota). Preprints. 2018; 2018020151. <https://doi.org/10.20944/preprints201802.0151.v1>
- [15]. Pyka A. Detection progress of selected drugs in TLC. BioMed Research International. 2014;732078. <http://doi.org/10.1155/2014/732078>
- [16]. Madduluri S, Rao KB, Sitaram B. In vitro evaluation of antibacterial activity of five indigenous plants extract against five bacterial pathogenens of human. Int J Pharm Pharm Sci. 2013;5(4):680-4.

- [17]. Salni, Marisa H, Mukti RW. Isolasi senyawa antibakteri dari daun jengkol (*Pithecellobium lobatum* Benth) dan penentuan nilai KHMnya. Jurnal Penelitian Sains. 2011;14(1):38-41.
- [18]. Tyagi B, Dubey A, Verma AK, Tiwari S. Antibacterial activity of phenolics compounds against pathogenic bacteria. Int J Pharm Sci Rev Res. 2015;35(1), 16-18.
- [19]. Qian W, Fu Y, Liu M, Wang T, Zhang J, Yang M, et al. In vitro antibacterial activity and mechanism of vanillic acid against carbapenem-resistant *Enterobacter cloacae*. Antibiotics. 2019;8(220):1-13. <https://doi.org/10.3390/antibiotics8040220>
- [20]. Hidayah WW, Kusrini D, Fachriyah E. Isolasi, identifikasi senyawa steroid dari daun getih-getihan (*Rivina humilis* L.) dan uji aktivitas sebagai antibakteri. Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi. 2016;19(1):32-7. <https://doi.org/10.14710/jksa.19.1.32-37>
- [21]. Odibaa JO, Musa AM, Hassana HS, Yahaya SM, Okolo EI. Antimicrobial activity of isolated stigmast-5-en-3 β -ol (β -Sitosterol) from honeybee propolis from North-Western, Nigeria. International Journal of Pharma Sciences and Research (IJPSR). 2014;5(12):908-918.
- [22]. Abu-Lafi SA, Rayan M, Masalha M, Abu-Farich B, Al-Jaas H, Abu-Lafi M, et al. Phytochemical composition and biological activities of wild *Scolymus maculatus* L. Medicines. 2019;6(53):1-11. <https://doi.org/10.3390/medicines6020053>
- [23]. Ododo MM, Choudhury MK, Dekebo AH. Structure elucidation of β -sitosterol with antibacterial activity from the root bark of *Malva parviflora*. SpringerPlus. 2016; 5:1210. <http://doi.org/10.1186/s40064-016-2894-x>
- [24]. Yusuf S, Jayuska A, Indiawati N. Isolasi dan karakterisasi senyawa triterpenoid dari daun gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lam.). Jurnal Kimia Khatulistiwa. 2016;5(1),65-9.
- [25]. Chen J, Ni C, Lou J, Peng W. Molecules and functions of rosewood: *Diospyros celebica*. Arabian Journal of Chemistry. 2018;11:756–762. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2017.12.033>



Copyright © 2020 The author(s). You are free to share (copy and redistribute the material in any medium or format) and adapt (remix, transform, and build upon the material for any purpose, even commercially) under the following terms: Attribution — You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made. You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggests the licensor endorses you or your use, ShareAlike — If you remix, transform, or build upon the material, you must distribute your contributions under the same license as the original (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>)