

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN UJI BIOAUTOGRAFI
EKSTRAK ETANOL DAUN SELEDRI (*Apium graveolens* L.) TERHADAP
Acinetobacter baumannii dan *Staphylococcus epidermidis***

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST AND BIOAUTOGRAPHIC TEST
CELERY LEAF ETHANOL EXTRACT (*Apium graveolens* L.) AGAINST
Acinetobacter baumannii and *Staphylococcus epidermidis***

Namira Zahratunisa¹, Maryati Maryati^{1*}

¹Laboratorium Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Sukoharjo, Indonesia

*E-mail correspondence : maryati@ums.ac.id

Abstrak

Daun seledri adalah tanaman yang dipercaya masyarakat mempunyai banyak manfaat, salah satunya sebagai antibakteri untuk infeksi kulit. *Acinetobacter baumannii* dan *Staphylococcus epidermidis* merupakan bakteri penyebab infeksi kulit. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri daun seledri (*Apium graveolens* L.) terhadap *Acinetobacter baumannii* dan *Staphylococcus epidermidis* serta mengetahui senyawa yang bertanggungjawab sebagai antibakteri. Uji aktivitas antibakteri menggunakan metode dilusi cair. Nilai KHM belum diketahui sedangkan nilai KBM keduanya ada pada konsentrasi 500 mg/mL. Uji KLT (Kromatografi Lapis Tipis) untuk menentukan senyawa yang terdapat pada ekstrak. Daun seledri positif mengandung fenol, flavonoid, terpenoid, dan alkaloid. Hasil uji bioautografi menunjukkan bahwa senyawa yang bertanggungjawab terhadap aktivitas antibakteri pada *Staphylococcus epidermidis* adalah flavonoid, sedangkan senyawa yang bertanggungjawab terhadap aktivitas antibakteri pada *Acinetobacter baumannii* belum diketahui.

Kata Kunci: *Acinetobacter baumannii*, antibakteri, *Apium graveolens* L, bioautografi, *Staphylococcus epidermidis*

Abstract

Celery leaves are a plant that people believe has many benefits, one of which is as an antibacterial in treating skin infections. *Acinetobacter baumannii* and *Staphylococcus epidermidis* are known bacteria that cause skin infections. This study aims to examine the antibacterial activity of celery leaves (*Apium graveolens* L.) against *Acinetobacter baumannii* and *Staphylococcus epidermidis* and to determine the compounds responsible for being antibacterial. The antibacterial activity test used the liquid dilution method. The MIC results in this study are unknown, while the MBC results for both are at a concentration of 500 mg/mL. TLC (Thin Layer Chromatography) test to determine the compounds contained in the extract. Celery leaves positively contain phenols, flavonoids, terpenoids and alkaloids. Bioautography test to determine the compound responsible for being antibacterial. The results of bioautography on celery leaf extract (*Apium graveolens* L.) against *Staphylococcus epidermidis* are flavonoid, while the results of bioautography for *Acinetobacter baumannii* are unknown.

Keywords: *Acinetobacter baumannii*, antibakterial, *Apium graveolens* L, bioautographic, *Staphylococcus epidermidis*

PENDAHULUAN

Banyak tumbuhan telah diteliti memiliki efektivitas pengobatan pada penyakit tertentu, salah satunya adalah daun seledri. Salah satu manfaat daun seledri adalah sebagai antibakteri dalam mengatasi bakteri penyebab infeksi kulit (Prakoso *et al.*, 2020). Senyawa yang terdapat dalam daun seledri (*Apium graveolens* L.) meliputi saponin, flavonoid, tanin 1%, lipase, asparagin, kolin, vitamin (A, B, C), apiin, apigenin, minyak atsiri 0,033%. Alkaloid juga termasuk senyawa yang terkandung dalam daun seledri (Shanmugapriya and Ushadevi, 2014).

Staphylococcus epidermidis merupakan salah satu bakteri Gram positif yang sering dijumpai sebagai bakteri penyebab infeksi kulit (Byrd *et al.*, 2018). Selain itu, bakteri ini diketahui dapat menyebabkan pembengkakan,, infeksi ginjal, infeksi saluran kemih, dan jerawat (Radji *et al.*, 2011). Selain *Staphylococcus epidermidis*, *Acinetobacter baumannii* termasuk salah satu jenis bakteri Gram negatif yang diketahui menginfeksi kulit (Chiller *et al.*, 2001). *Acinetobacter baumannii* ditemukan menjadi penyebab infeksi pada kulit yang mengalami luka bakar dengan persentase 31%. Bakteri ini juga sering ditemukan sebagai mikroba yang menginfeksi saluran kemih pada pasien rawat inap di rumah sakit, menginfeksi pembuluh darah, meningitis, VAP (*Ventilator-Associated Pneumonia*) dan luka operasi.

Penelitian sebelumnya menunjukkan ekstrak daun seledri memiliki efektivitas yang kuat dalam mengatasi beberapa bakteri penyebab infeksi kulit. Beberapa bakteri yang diujikan adalah *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus β hemoliticus*, *Propionibacterium acnes*, *Streptococcus pyogenes*. Daun seledri dapat mencegah bakteri *Streptococcus mutans*. Berdasarkan penelitian-penelitian yang sudah ada, peneliti tertarik menguji ekstrak daun seledri (*Apium graveolens* L.) terhadap bakteri yang menyebabkan infeksi kulit menggunakan bakteri *Acinetobacter baumannii* dan *Staphylococcus epidermidis*. Hal ini dikarenakan masih minimnya penelitian yang membahas kedua bakteri tersebut sekaligus untuk mencari pengobatan alternatif jika terkena infeksi akibat bakteri *Acinetobacter baumannii* dan *Staphylococcus epidermidis*.

METODE PENELITIAN

Alat

Almari pengering, waterbath (Mammert), rotary evaporator (Stuart), alat gelas, corong buchner, blender, mikropipet (Socorex), oven (Mammert), autoklaf, Laminar Air Flow (LAF), bunsen, cork borer, lampu UV, neraca analitik (Ohaus), inkubator, vortex, dan tabung Eppendorf

Bahan

Bahan utama yang dibutuhkan yaitu daun seledri, dibeli di Pasar Plaosan Kabupaten Magetan, bakteri *Acinetobacter baumannii* yang didapat dari RSUD Genteng Banyuwangi, bakteri *Staphylococcus epidermidis* dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Farmasi UMS. Adapun bahan lain yang dipakai yakni etanol 96%, media Mueller Hinton Agar (MHA), media Nutrient Agar (NA), media Brain Heart Infusion (BHI), Natrium klorida (NaCl), Dimetil sulfoksida (DMSO), aquadest, antibiotik amikasin, tetrasiklin, kotrimoksazol, ciprofloksasin, reagen Liebermann-Burchard, FeCl₃, Dragendroff, reagen Sitroborat serta plat KLT silika gel GF254.

Jalannya penelitian

Pembuatan ekstrak etanol daun seledri (*Apium graveolens* L.)

Daun seledri dicuci bersih dengan air yang mengalir untuk berikutnya dikeringkan dengan cara dianginkan. Sesudah kering, daun seledri dikeringkan menggunakan almari pengering bersuhu 50 °C dalam waktu sehari. Daun seledri kering dihancurkan sampai didapat serbuk menggunakan blender. Ditimbang daun seledri kering sebanyak 400 gram. Maserasi dilakukan dengan perbandingan 1:10 yaitu 400 gram serbuk daun seledri kering direndam dalam 4 L etanol 96% dalam waktu 4 hari serta dilakukan remaserasi dalam waktu dua hari dengan 4 L etanol 96%. Filtrat disaring menggunakan corong buchner dan dikentalkan dengan rotary evaporator menggunakan suhu 50 °C 155 rpm, pengentalan dilakukan sampai pelarut yang menetes di labu alas bulat tidak ada. Ekstrak dikentalkan kembali di atas waterbath dengan suhu 60 °C, kemudian dihitung nilai rendemen.

Sterilisasi alat dan bahan

Alat gelas yang akan dipergunakan seperti tabung reaksi serta cawan petri dicuci bersih lalu dikeringkan. Alat yang tahan terhadap panas disterilkan menggunakan oven sementara alat yang tidak tahan panas menggunakan autoklaf. Cawan petri dan tabung reaksi dibungkus terlebih dahulu menggunakan kertas. Sterilisasi dilakukan dalam oven menggunakan suhu 170 °C selama 2 jam. Proses sterilisasi alat yang tidak tahan panas dan bahan seperti media menggunakan autoklaf 121 °C selama 15 menit.

Pembuatan media

Media Mac Conkey sejumlah 50 gram dilarutkan dalam 25 mL aquadest. Sebanyak 14,25 gram media Mueller Hinton Agar dilarutkan dalam 375 mL aquadest. Media nutrient agar dilarutkan dalam 8 mL aquadest. Media Brain Heart Infusion ditimbang sejumlah 0,74 gram dilarutkan dalam 20 mL aquadest. Masing-masing media dipanaskan di atas *hot plate* agar tercampur. Mulut Erlenmeyer ditutup menggunakan aluminium foil dan dikeratkan menggunakan karet. Sterilisasi bahan dilakukan bersuhu 121 °C selama 15 menit (Yanti & Rosmania, 2020). Penuangan media dilakukan dalam Laminar Air Flow (LAF), media yang telah memadat, ditutup dan disimpan.

Peremajaan kultur murni bakteri

Koloni kultur murni bakteri *Acinetobacter baumannii* dan *Staphylococcus epidermidis* diambil menggunakan jarum ose bulat steril. Penggoresan pada media dilakukan secara zigzag, *Staphylococcus epidermidis* pada media Nutrient Agar dan *Acinetobacter baumannii* pada media Mac Conkey. Kemudian dilakukan inkubasi bersuhu 37 °C dalam waktu sehari (Kursia *et al.*, 2016).

Pembuatan suspensi bakteri

Pembuatan suspensi bakteri dilakukan dengan mengambil 3-5 koloni tunggal bakteri *Acinetobacter baumannii* dan *Staphylococcus epidermidis* untuk dimasukkan ke 5 mL media BHI cair pada masing-masing bakteri. Suspensi bakteri diinkubasi dalam inkubator suhu 37 °C dalam waktu sehari. Suspensi hasil diambil 100 µL untuk dihomogenkan dengan Natrium klorida 0,9%. Kekeruhan dibandingkan larutan standar McFarland 0,5 (setara 10⁸ CFU/mL bakteri) (Munfaati, *et al.*, 2015).

Uji sensitivitas antibiotik

Uji sensitivitas antibiotik dilakukan dengan metode sumuran, yakni melubangi masing-masing media sebanyak 2 lubang. Media yang digunakan pada uji sensitivitas antibiotik adalah Mueller Hinton Agar (MHA). Sebelum dilubangi, pada setiap media dituang suspensi bakteri 200 μ L. Kemudian, media dilubangi dengan cork borer. Setiap lubang diisi dengan 20 μ L larutan stok antibiotik (Sumampouw, 2018). *Acinetobacter baumannii* diuji dengan antibiotik amikasin dan kotrimoksazol. *Staphylococcus epidermidis* diuji dengan tetrasiklin dan ciprofloksasin.

Uji aktivitas antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode dilusi cair untuk menetapkan kadar hambat minimum (KHM) dan hasil KHM digoreskan ke media padat guna mengetahui kadar bunuh minimum (KBM). Konsentrasi yang diuji yakni 1000 mg/mL (100%), 250 mg/mL (25%), 500 mg/mL (50%), dan 125 mg/mL (12,5%). Uji KHM dilakukan dengan pembuatan larutan stok dengan konsentrasi 200%, ekstrak sejumlah 2 gram dilarutkan dalam 1 mL DMSO 0,5%. Tabung reaksi steril sebanyak 8 tabung disiapkan untuk tiap bakteri, masing-masing tabung diberi label 1, 2, 3, 4, K+, K-, kontrol media (KM), dan kontrol bakteri (KB). Tabung 2, 3, 4, K+, dan K-, dimasukkan media BHI cair sejumlah 0,5 mL. Tabung KM diisi dengan 1 mL media. Ekstrak dari konsentrasi 200% diambil sejumlah 0,5 mL untuk dimasukkan ke tabung 1 dan tabung 2. Larutan uji pada tabung 2 dihomogenkan, diambil 0,5 mL larutan uji untuk dimasukkan ke tabung 3. Sebanyak 0,5 mL pada tabung 3 ditambahkan ke tabung 4, sebanyak 0,5 mL larutan dibuang. Kontrol positif dimasukkan 0,5 mL antibiotik amikasin dan ciprofloksasin, dihomogenkan kemudian sejumlah 0,5 mL larutan K+ dibuang. Tabung kontrol negatif dimasukkan 0,5 mL DMSO 0,5% kemudian dibuang dengan jumlah yang sama. Suspensi bakteri yang telah disamakan dengan standar McFarland 0,5 diencerkan kembali dengan perbandingan 1:100 menggunakan natrium klorida 0,9%. Semua tabung diberi suspensi bakteri sebanyak 0,5 mL kecuali kontrol bakteri. Tabung kontrol bakteri diisi dengan 1 mL suspensi. Semua tabung ditutup menggunakan aluminium foil steril dan diinkubasikan dalam waktu sehari 37 °C (Fitriana *et al.*, 2020). Hasil inkubasi digoreskan sebanyak 50 μ L pada media MHA padat, dilanjutkan dengan inkubasi selama 1 hari dengan suhu 37 °C untuk melihat kadar bunuh minimum. Penentuan KBM dilihat dengan mengamati jumlah pertumbuhan bakteri. Ekstrak dengan konsentrasi terendah yang ditumbuhi <25 koloni dianggap sebagai KBM.

Uji KLT

Plat silika gel GF254 dipotong berukuran 1,5 cm x 6,5 cm. Garis batas bawah untuk penotolan diberi jarak 1 cm, sementara batas atas diberi jarak 0,5 cm. Aktivasi plat dilakukan dengan pemanasan pada oven dengan suhu 105 °C selama 15 menit (Deri *et al.*, 2015). Fase gerak untuk pengujian ekstrak daun seledri menggunakan toluene:etil asetat:asam format (7:2,5:0,5) sesuai dengan Farmakope Herbal Indonesia (Depkes RI, 2017). Fase gerak sebanyak 2 mL yang telah ditentukan dijenuhkan dalam chamber. Konsentrasi ekstrak yang digunakan untuk penotolan adalah 5% sebanyak 5 μ L. Fase diam dimasukkan ke dalam fase gerak yang sebelumnya telah dijenuhkan untuk pengelusan. Plat KLT dikeluarkan untuk melihat fluoresensinya dengan UV 254 nm dan UV 366 nm serta dilakukan perhitungan nilai Retention factor (Maulidiyah *et al.*, 2020). Hasil elusi disemprot menggunakan reagen

Liebermann-Burchard untuk mengidentifikasi senyawa terpenoid, $FeCl_3$ untuk mengidentifikasi senyawa fenolik, reagen Sitroborat untuk identifikasi senyawa flavonoid, dan reagen Dragendroff untuk identifikasi senyawa alkaloid.

Uji bioautografi

Plat KLT dielusi menggunakan fase gerak yang telah ditentukan. Konsentrasi ekstrak untuk penotolan adalah 100% dengan jumlah 1 μ L. Setiap media MHA diberi suspensi bakteri *Acinetobacter baumannii* dan *Staphylococcus epidermidis* sebanyak 200 μ L. Plat KLT yang telah dielusi, ditunggu sampai kering, kemudian ditempelkan pada permukaan media kurang lebih 30 menit. Selanjutnya plat KLT diangkat dan media diinkubasi dalam 18-24 jam pada suhu 37 °C, kemudian dilihat zona bening yang muncul (Abdullah *et al.*, 2021).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil ekstrak etanol daun seledri (*Apium graveolens* L.)

Ekstraksi daun seledri dilakukan dengan metode maserasi menggunakan etanol 96% sebagai pelarut. Maserasi adalah teknik ekstraksi yang paling mudah, tidak rumit, dan tanpa adanya peralatan pemanas yang umumnya dapat mengurai zat aktif pada sampel uji (Sa'adah and Nurhasnawati, 2017). Etanol 96% digunakan sebagai pelarut karena kemampuan dalam menyari berbagai senyawa, baik polar, non-polar, dan semi-polar (Wenderstey *et al.*, 2021). Serbuk kering daun seledri diperoleh sebanyak 400 gram. Ekstrak kental didapatkan berwarna hijau kehitaman sebanyak 49,80 gram dengan rendemen sebesar 12,45%.

Hasil uji sensitivitas antibiotik

Uji sensitivitas antibiotik dilakukan untuk mengetahui kepekaan suatu antibiotik pada bakteri. Kasus resistensi bakteri terhadap antibiotik kerap terjadi karena penggunaan yang luas dan tidak semestinya, sehingga kegagalan terapi sering terjadi (Marsudi, 2022). Seperti halnya kasus resistensi *A. baumannii*. Amikasin dan kombinasi trimethoprim-sulfametoksazol diketahui masih sensitif terhadap bakteri tersebut (Tahun *et al.*, 2023). Sementara itu, *S. epidermidis* masih sensitif terhadap siprofloksasin dan tetrasiklin (Purnamasari *et al.*, 2023). Antibiotik yang zona hambatnya paling luas sebagai kontrol positif. Penelitian ini menggunakan siprofloksasin 5 μ g, tetrasiklin 30 μ g, amikasin 30 μ g, dan kotrimoksazol 23,75 μ g.

Tabel 1. Hasil uji sensitivitas antibiotik terhadap *Acinetobacter baumannii* dan *Staphylococcus epidermidis*

Bakteri	Antibiotik	Standar kepekaan			Hasil Zona hambat (mm)	Keterangan
		Sensitif	Intermediet	Resisten		
<i>A. baumannii</i>	Amikasin	≥ 17	15-16	≤ 16	43,5	Sensitif
	Kotrimoksazol	≥ 16	11-15	≤ 10	19	Sensitif
<i>S. epidermidis</i>	Siprofloksasin	≥ 21	16-20	≤ 15	30,5	Sensitif
	Tetrasiklin	≥ 15	12-14	≤ 11	23	Sensitif

Keterangan : Diameter zona hambat termasuk lubang sumuran 6 mm

Berdasarkan Tabel 1, zona hambat amikasin dan kotrimoksazol berturut-turut 43,5 mm dan 19 mm. Amikasin memiliki sensitivitas terhadap *Acinetobacter baumannii* lebih besar

daripada kombinasi trimetoprim-sulfametoksazole (Ezeddin *et al.*, 2022). Zona hambat pada siprofloksasin dan tetrasiklin diketahui berturut-turut 36,5 mm dan 29 mm. Ciprofloksasin adalah antibiotik dengan spektrum luas yang sifatnya membunuh bakteri aerob dan anaerob baik Gram negatif maupun Gram positif (Najiya, 2022). Antibiotik yang digunakan sebagai kontrol positif ialah amikasin untuk *Acinetobacter baumannii* dan siprofloksasin untuk *S. epidermidis*.

Hasil uji antibakteri

Konsentrasi yang diujikan pada penelitian ini yaitu 1000 mg/mL, 500 mg/mL, 250 mg/mL, dan 125 mg/mL dengan replikasi 3 kali. Metode yang digunakan adalah dilusi cair untuk mengetahui KHM dan dilanjutkan dengan penggoresan untuk mengetahui KBM. Kelebihan metode dilusi adalah memiliki sensitivitas lebih tinggi dibanding metode difusi, karena dapat membedakan efek antibakteri dari suatu antibiotik yang sifatnya menghambat dan membunuh. Metode ini juga digunakan pada jumlah senyawa perolehan yang terbatas (Astutiningsih *et al.*, 2014). Kadar hambat minimum diketahui dengan melihat kekeruhan dan kejernihan pada larutan uji. Mengacu pada penelitian yang telah dilakukan, hasil uji kadar hambat minimum (KHM) dari ekstrak etanol daun seledri yang didapatkan pada setiap tabung perlakuan adalah keruh kecuali kontrol media dan kontrol positif yang berisi antibiotik. Sifat ekstrak yang keruh membuat tidak dapat dibedakannya kekeruhan antara ekstrak dan bakteri (Alim *et al.*, 2022). Kontrol negatif yang dipakai yaitu DMSO 0,5% sebab dapat melarutkan senyawa non polar ataupun polar dan tidak memiliki efektivitas antibakteri sehingga tidak mempengaruhi hasil uji (Noor *et al.*, 2020).

Penentuan KHM pada ekstrak etanol daun seledri tidak dapat dilakukan dengan pengamatan sehingga dilakukan uji untuk menentukan KBM yang dilihat dari pertumbuhan bakteri pada media agar setelah penggoresan dari hasil uji KHM. Hasil diperoleh pertumbuhan koloni pada setiap media uji dengan bakteri yang berbeda.

Tabel 2. Hasil KHM ekstrak etanol daun seledri terhadap bakteri *Acinetobacter baumannii* dan *Staphylococcus epidermidis*

Perlakuan	Hasil Pengamatan	
	<i>A. baumannii</i>	<i>S. epidermidis</i>
Konsentrasi 1000 mg/mL	+	+
Konsentrasi 500 mg/mL	+	+
Konsentrasi 250 mg/mL	+	+
Konsentrasi 125 mg/mL	+	+
Kontrol positif (+)	-	-
Kontrol negatif (-)	+	+
Kontrol media (KM)	-	-
Kontrol bakteri (KB)	+	+

Keterangan :

(+): Keruh, menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri

(-): Jernih, menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri

Tabel 3. Hasil KBM ekstrak etanol daun seledri terhadap bakteri *Acinetobacter baumannii* dan *Staphylococcus epidermidis*

Perlakuan	Jumlah koloni bakteri					
	<i>Acinetobacter baumannii</i>			<i>Staphylococcus epidermidis</i>		
Konsentrasi 1000 mg/mL	4	2	3	0	0	0
Konsentrasi 500 mg/mL	4	5	5	0	0	0
Konsentrasi 250 mg/mL	TBD	TBD	TBD	TBD	TBD	TBD
Konsentrasi 125 mg/mL	TBD	TBD	TBD	TBD	TBD	TBD
Kontrol Positif	0	0	0	0	0	0
Kontrol Negatif	TBD	TBD	TBD	TBD	TBD	TBD
Kontrol Bakteri	TBD	TBD	TBD	TBD	TBD	TBD

Keterangan :

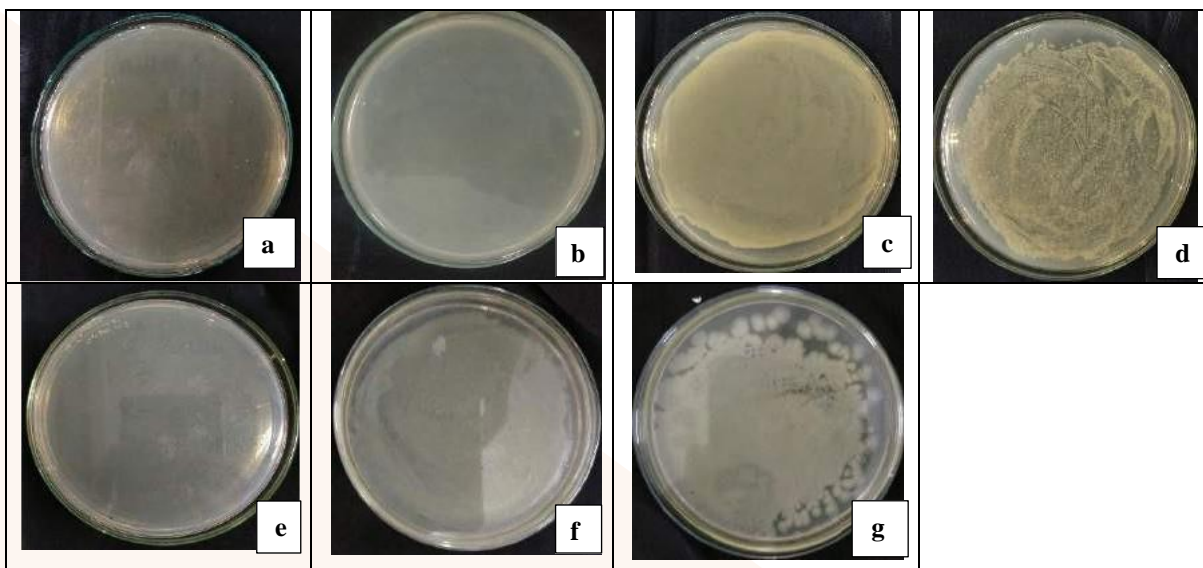
TBD : Tidak Bisa Dihitung



a

b

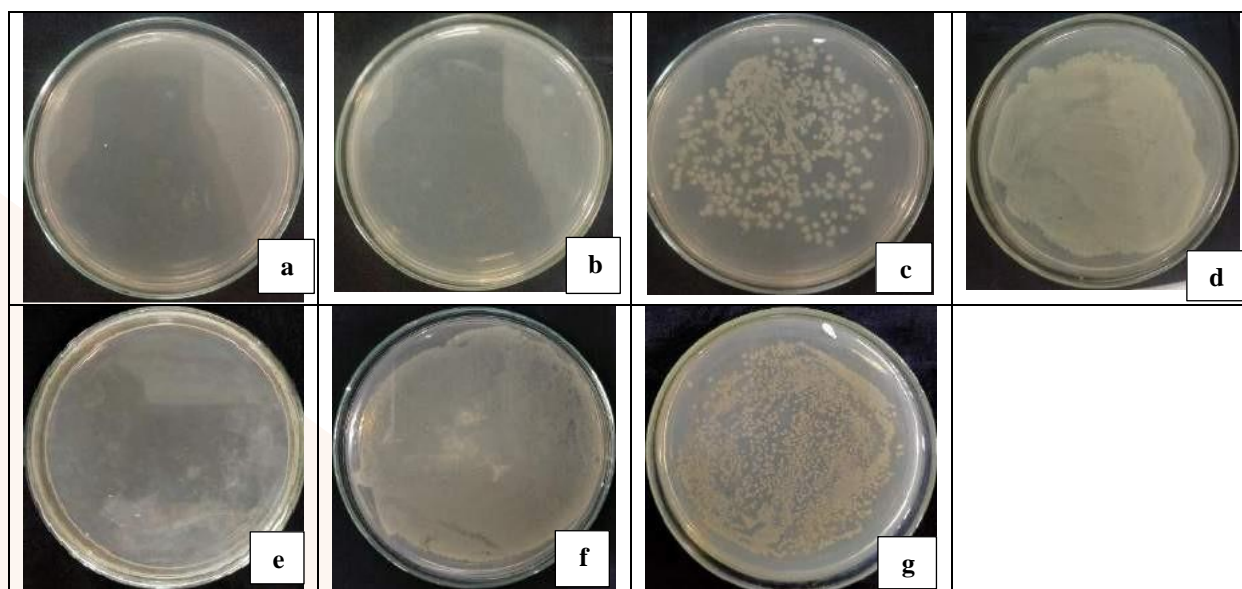
Gambar 1. Hasil KBM pada ekstrak etanol daun seledri terhadap (a) *Acinetobacter baumannii* (b) *Staphylococcus epidermidis*



Gambar 2. Hasil uji KBM pada ekstrak etanol daun seledri terhadap bakteri *Acinetobacter baumannii* (a) konsentrasi 1000 mg/mL, (b) konsentrasi 500 mg/mL, (c) konsentrasi 250 mg/mL, (d) konsentrasi 125 mg/mL, (e) kontrol positif, (f) kontrol negatif, (g) kontrol bakteri

Hasil penelitian pada Gambar 2. menunjukkan bahwa ekstrak konsentrasi 1000 mg/mL dan 500 mg/mL masih terdapat pertumbuhan bakteri pada media. Walaupun jumlah pertumbuhan koloni bakteri pada 3 kali replikasi < 25 koloni. Sementara jumlah koloni bakteri konsentrasi 250 mg/mL dan 125 mg/mL pada tiap replikasi tidak dapat dihitung karena bakteri yang tumbuh terlalu banyak. Sehingga pada penelitian ini, KBM ekstrak daun seledri terhadap bakteri *Acinetobacter baumannii* ada pada konsentrasi 500 mg/mL. Berlandaskan penelitian yang telah dilakukan, efektivitas antibakteri pada ekstrak daun seledri kemungkinan lemah karena pada 1000 mg/mL dan 500 mg/mL masih ditumbuhi dengan beberapa koloni bakteri.

Gambar 3. Menunjukkan bahwa kadar bunuh minimum (KBM) ekstrak daun seledri terhadap *Staphylococcus epidermidis* ada pada konsentrasi 500 mg/mL. Pertumbuhan bakteri tidak didapati pada konsentrasi tersebut. Ekstrak seledri hanya dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus epidermidis* karena beberapa koloni bakteri masih tumbuh pada konsentrasi tertinggi. Penelitian lain oleh Suwito dkk. (2017) menyebutkan bahwa ekstrak seledri bisa mencegah tumbuhnya bakteri *Streptococcus mutans* pada konsentrasi 3,125% tetapi tidak dapat membunuh karena pada penelitian tersebut KBM tidak dapat ditentukan. Menurut Sukmawati (2018) semakin tinggi konsentrasi ekstrak, sifat antibakteri dari ekstrak juga semakin kuat. Kondisi ekstrak dapat menentukan seberapa besar sifat antibakteri yang dihasilkan. Kemungkinan terjadinya penguraian zat aktif sampel disebabkan karena adanya panas, terpapar sinar matahari, dan pH. Sifat fitokimia dari ekstrak daun seledri yang menjadi agen antibakteri adalah flavonoid, saponin, dan tanin.



Gambar 3. Hasil uji KBM pada ekstrak etanol daun seledri terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* (a) konsentrasi 1000 mg/mL, (b) konsentrasi 500 mg/mL, (c) konsentrasi 250 mg/mL, (d) konsentrasi 125 mg/mL, (e) kontrol positif, (f) kontrol negatif, (g) kontrol bakteri

Hasil Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Pada penelitian ini, analisis KLT dilakukan menggunakan fase gerak toluene:etil asetat:asam format (7:2,5:0,5 v/v/v) dan fase diam silika gel GF254. Hasil KLT menunjukkan bahwa daun seledri positif mengandung fenolik, alkaloid, terpenoid, dan flavonoid.

Tabel 4. Hasil uji KLT ekstrak etanol daun seledri

Rf	Deteksi sebelum disemprot			Pereaksi	Deteksi sesudah disemprot		Keterangan
	Vis	UV 254	UV 366		Vis	UV 366	
	0,28	H	P		B	Liebermann Burchard	
0,3	H	P	B	Dragendroff	C	-	(+) Alkaloid
0,32	H	P	B	FeCl ₃	H-G	-	(+) Fenolik
0,36	H	P	B	Sitroborat	K	H-K	(+) Flavonoid
0,74	H	P	B	Sitroborat	K	H-K	(+) Flavonoid

Keterangan :

B = Biru

H = Hijau

H-K = Hijau Kuning

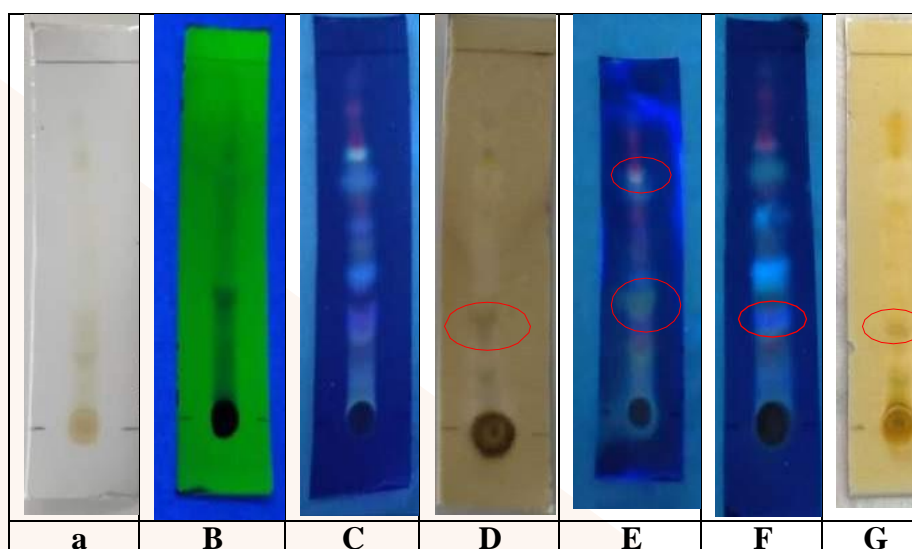
U = Ungu

C = Coklat

H-G = Hijau gelap

K = Kuning

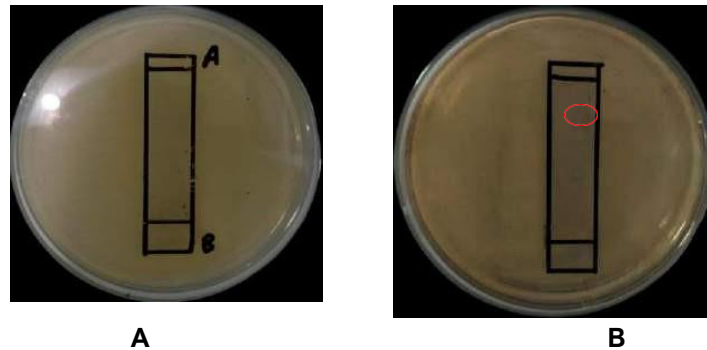
Terpenoid, alkaloid, fenolik, dan flavonoid adalah beberapa senyawa yang terkandung dalam daun seledri. Hasil uji KLT pada Tabel 4 menunjukkan bahwa plat menghasilkan noda ungu setelah disemprot menggunakan reagen Liebermann-Burchard, hal ini menunjukkan bahwa daun seledri mengandung terpenoid. Noda terpenoid muncul pada Rf 0,28. Noda coklat terbentuk setelah disemprot menggunakan Dragendroff, hal ini menunjukkan adanya alkaloid. Noda alkaloid terbentuk pada Rf 0,3. Noda hijau gelap muncul setelah disemprot menggunakan FeCl₃, hal ini menunjukkan adanya fenolik. Noda fenolik terbentuk pada Rf 0,32. Kandungan flavonoid dalam daun seledri diketahui pada Rf 0,36 dan 0,74, karena setelah disemprot menggunakan reagen Sitroborat terbentuk noda berwarna hijau kuning. Hal ini menunjukkan bahwa hasil uji KLT selaras dengan penelitian Jung (2011) dan Li *et al.* (2020) bahwa daun seledri (*Apium graveolens* L.) mengandung terpenoid, fenolik, flavonoid, dan alkaloid.



Gambar 4. Hasil uji KLT ekstrak daun seledri menggunakan (a) sinar tampak, (b) sinar UV 254 nm, (c) sinar UV 366 nm, (d) FeCl₃ sinar tampak, (e) Liebermann-Burchard UV 366, (f) Sitroborat UV 366, (g) Dragendroff sinar tampak.

Hasil Uji Bioautografi

Bioautografi yaitu metode untuk mengetahui suatu senyawa yang bersifat antibakteri dengan melibatkan kromatografi lapis tipis (KLT). Kromatogram hasil elusi ditempelkan di atas media, agar senyawa antibakteri mengalami perpindahan dari plat ke media berbakteri. Zona bening akan terbentuk setelah dilakukan inkubasi semalaman. Kekurangan metode ini adalah proses penyerapan kromatogram ke dalam media sedikit sulit sehingga membuat hasil yang didapatkan tidak terlihat karena terdapat senyawa yang tetap berikatan dengan matriks kromatogram sehingga tidak dapat mengalami perpindahan (Papatungon *et al.*, 2019).



**Gambar 5. Hasil bioautografi ekstrak daun seledri terhadap bakteri
a) *Acinetobacter baumannii* b) *Staphylococcus epidermidis***

Hasil uji bioautografi yang dilakukan pada Gambar 5 didapatkan bahwa bioautografi ekstrak daun seledri terhadap *Acinetobacter baumannii* tidak ada zona bening yang terdapat pada media. Hal ini mungkin dikarenakan sifat antibakteri ekstrak daun seledri pada bakteri tersebut tergolong lemah sehingga senyawa yang bertanggungjawab sebagai antibakteri tidak terlihat. Zona bening terdapat pada bioautografi ekstrak daun seledri terhadap *Staphylococcus epidermidis* dengan Rf 0,70. Hasil elusi menunjukkan bahwa Rf uji bioautografi berkisaran pada flavonoid yang terletak pada Rf 0,74 sehingga dapat disimpulkan bahwa senyawa yang diduga bertanggungjawab sebagai antibakteri ialah flavonoid. Flavonoid memiliki struktur kuersetin dan apigenin, keduanya diketahui sebagai antibakteri (Panche *et al.*, 2016). Cara kerja flavonoid sebagai agen antibakteri adalah dengan membentuk ikatan kompleks dengan protein ekstraseluler, maka membran sel bakteri akan hancur yang disertai dengan terlepasnya senyawa intraseluler (Amalia *et al.*, 2017).

KESIMPULAN

Pada penelitian ini KHM tidak dapat ditentukan, KBM ekstrak etanol daun seledri terhadap *Acinetobacter baumannii* dan *Staphylococcus epidermidis* ada pada konsentrasi 500 mg/mL. Daun seledri positif mengandung flavonoid, terpenoid, fenolik, dan alkaloid. Senyawa yang bertanggungjawab sebagai agen antibakteri ekstrak daun seledri terhadap *Staphylococcus epidermidis* adalah flavonoid, sedangkan terhadap *Acinetobacter baumannii* belum diketahui.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, S.S., Djide, N. and Natsir, S. 2021. KLT Bioautografi Hasil Partisi Ekstrak Etanol Herba Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) Terhadap *Shigella dysenteriae*. *Chemistry Progress*. Available at: <https://doi.org/10.35799/cp.14.1.2021.34076>.
- Alim, M.K.A., Purwanta, M. and Setiawati, Y. 2022. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Lamtoro (*Leucaena leucocephala*) Terhadap *Staphylococcus aureus* dengan Metode Dilusi, *Cerdika: Jurnal Ilmiah Indonesia*. 2(2). pp. 281–288. Available at: <https://doi.org/10.36418/cerdika.v2i2.345>.
- Amalia, A., Sari, I. and Nursanty, R. 2017. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Sembung (*Blumea balsamifera* (L.) DC.) terhadap Pertumbuhan Bakteri Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Jurnal UIN Ar-Raniry*. 5(1). pp. 387–391.
- Astutiningsih, C., Setyani, W. and Hindratna, H. 2014. Uji Daya Antibakteri Dan Identifikasi Isolat Senyawa Katekin Dari Daun Teh (*Camellia sinensis* L. var *Assamica*). *Jurnal Farmasi Sains Dan Komunitas*. 11(2). pp. 50–57.
- Byrd, A.L., Belkaid, Y. and Segre, J.A. 2018. The Human Skin Microbiome. *Nature Reviews Microbiology*. 16(3). pp. 143–155. Available at: <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.157>.
- Chiller, K., Selkin, B.A. and Murakawa, G.J. 2001. Skin Microflora and Bacterial Infections of the skin. *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings*. 6(3). pp. 170–174. Available at: <https://doi.org/10.1046/j.0022-202x.2001.00043.x>.
- Depkes RI. 2017. Farmakope Herbal. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Deri, I.R., Yuliawati, K.M. and Sadiyah, E.R. 2015. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Alkaloid dari Cacing Tanah (*Lumbricus rubellus* Hoffmeister. *Prosiding Penelitian Sivitas Akademika Unisba (Kesehatan dan Farmasi)*.
- Ezeddin, M.O., Nasrul, E. and Alia, E. 2022. Prevalensi dan Pola Sensitivitas Antibiotik *Acinetobacter baumannii* di RSUP. Dr. M. Djamil Padang. *Majalah Kedokteran Andalas*.
- Fitriana, Y.A.N., Fatimah, V.A.N. and Fitri, A.S. 2020. Aktivitas Anti Bakteri Daun Sirih: Uji Ekstrak KHM (Kadar Hambat Minimum) dan KBM (Kadar Bakterisidal Minimum). *Sainteks*. Available at: <https://doi.org/10.30595/st.v16i2.7126>.
- Jung, W.S. 2011. In Vitro Antioxidant Activity, Total Phenolics and Flavonoids from Celery (*Apium graveolens*) leaves. *Journal of Medicinal Plants Research*. 5(32). pp. 7022–7030. Available at: <https://doi.org/10.5897/jmpr11.1129>.
- Kursia, S. Lebang, J.S., Nursamsiar, S. 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil asetat Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*.

- Li, M.Y., Feng, K., Hou, X.L., 1, Jiang, Q., Xu, Z.S., Wang, G.L., Liu, J.X., Wang, F., Xiong, A.S., 2020. The Genome Sequence of Celery (*Apium graveolens* L.), an Important Leaf Vegetable Crop Rich in Apigenin in The Apiaceae Family. *Horticulture Research*. 7(1). Available at: <https://doi.org/10.1038/s41438-019-0235-2>.
- Marsudi, A. 2022. Tingkat Pengetahuan dan Perilaku Masyarakat Terhadap Penggunaan Antibiotik di Beberapa Apotek di Kota Ternate. *Jurnal Farmasi Medica/Pharmacy Medical Journal* (PMJ). 4(2). p. 54. Available at: <https://doi.org/10.35799/pmj.v4i2.34766>.
- Maulidiyah, Z., Seniwati, S., Rusli, R., Naid, T., 2020. Isolasi Bakteri Rhizosfer Tanaman Nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) yang Berpotensi sebagai Penghasil Senyawa Antibakteri terhadap Bakteri Penyebab Infeksi Saluran Pencernaan. *Window of Health : Jurnal Kesehatan*. 3(2). pp. 132–139. Available at: <https://doi.org/10.33368/woh.v0i0.295>.
- Munfaati, P.N., Ratnasari, E. and Trimulyono, G. 2015. Aktivitas Senyawa Antibakteri Ekstrak Herba Meniran (*Phyllanthus niruri*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Shigella dysenteriae* Secara In Vitro. *Lentera Bio*. Vol 4(1). P 64-71.
- Najiya, U.L. 2022. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Akar Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* Dengan Metode Dilusi. *Jurnal Kajian Ilmiah Kesehatan dan Teknologi*. 4(2). pp. 43–53. Available at: <https://doi.org/10.52674/jkikt.v4i2.68>.
- Noor, A.S., Triatmoko, B. and Nuri, N. 2020. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol dan Fraksi Daun Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth) terhadap *Salmonella typhi*. *Pustaka Kesehatan*. 8(3). p. 177. Available at: <https://doi.org/10.19184/pk.v8i3.13008>.
- Panche, A.N., Diwan, A.D. and Chandra, S.R. 2016. Flavonoids: An overview. *Journal of Nutritional Science*. 5. Available at: <https://doi.org/10.1017/jns.2016.41>.
- Paputungan, W.A., Lolo, W.A. and Siampa, J.P. 2019. Aktivitas Antibakteri dan Analisis KLT- Bioautografi dari Fraksi Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner). *Pharmacon*. 8(3). p. 516. Available at: <https://doi.org/10.35799/pha.8.2019.29325>.
- Prakoso, Y.A., Rini, C.S., Rahayu, A., Sigit, M., Widhowati, D. 2020. Celery (*Apium graveolens*) as a Potential Antibacterial Agent and its Effect on Cytokeratin-17 and Other Healing Promoters in Skin Wounds Infected with Methicillin- Resistant *Staphylococcus aureus*. *Veterinary World*. 13(5). pp. 865–871. Available at: <https://doi.org/10.14202/vetworld.2020.865-871>.
- Purnamasari, I., Suwarno and Tyasningsih, W. 2023. Identification of *Staphylococcus* sp. and Antibiotic Resistance in Tukur District, Pasuruan. *Jurnal Medik Veteriner*. 6(1). pp. 93–104. Available at: <https://doi.org/10.20473/jmv.vol6.iss1.2023.93-104>.
- Radji, M., Sumiati, A., Rachmayani, R., Elya, B. 2011. Isolation of Fungal Endophytes From *Garcinia mangostana* and their Antibacterial Activity. *African Journal of Biotechnology*. 10(1), pp. 103–107.
- Sa'adah, H. and Nurhasnawati, H. 2017. Perbandingan Pelarut Etanol dan Air pada Pembuatan Ekstrak Umbi Bawang Tiwai (*Eleutherine americana* Merr) Menggunakan Metode Maserasi. *Jurnal Ilmiah Manuntung*. 1(2). pp. 149–153. Available at: <https://doi.org/10.51352/jim.v1i2.27>.

- Shanmugapriya, R. and Ushadevi, T. 2014. In Vitro Antibacterial and Antioxidant Activities of *Apium graveolens* L. seed extracts. *International Journal of Drug Development and Research*. 6(3). pp. 165–170.
- Sukmawati, S. 2018. Total Microbial Plates on Beef and Beef Offal. *Bioscience*. 2(1). p. 22. Available at: <https://doi.org/10.24036/02018219825-0-00>.
- Sumampouw, O.J. 2018. Uji Sensitivitas Antibiotik Terhadap Bakteri *Escherichia coli* Penyebab Diare Balita Di Kota Manado. *Journal of Current Pharmaceutical Sciences*. Vol 2(1), p. 104-110.
- Suwito, M.B., Wahyunitisari, M.R. and Umijati, S. 2017. Efektivitas Ekstrak Seledri (*Apium graveolens* L. var. secalinum Alef.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans* Sebagai Alternatif Obat Kumur. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala*. 17(3). pp. 159–163. Available at: <https://doi.org/10.24815/jks.v17i3.9150>.
- Yapson, G.Y.A., 2023. Pola Kepekaan Bakteri *Acinetobacter baumannii* terhadap Beberapa Antibiotik pada Pasien Rawat Inap di RSUP Prof . DR . I . G . N . G Ngoerah Denpasar Tahun 2021. 12(7).
- Wendersteyt, N.V., Wewengkang, D.S. and Abdullah, S.S. 2021. Uji Aktivitas Antimikroba dari Ekstrak dan Fraksi *Ascidian herdmania* momus dari Perairan Pulau Bangka Likupang terhadap Pertumbuhan Mikroba *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, dan *Candida albicans*. *Pharmacon*, 10(1), p. 706. Available at: <https://doi.org/10.35799/pha.10.2021.32758>.
- Yanti, F. and Rosmania. 2020. Perhitungan Jumlah Bakteri di Laboratorium Mikrobiologi Menggunakan Pengembangan Metode Spektrofotometri. *Jurnal penelitian sains*. 22(2). pp. 76–86. Available at: <http://ejournal.mipa.unsri.ac.id/index.php/jps/index>.