



Pengujian aktivitas antimikroba ekstrak daun kersen (*Muntingia calabura* L.) menggunakan pelarut nades (*Natural Deep Eutectic Solvents*) dengan metode disc diffusion

Hesti Marliza¹, Rury Trisa Utami², Ayu Amelia^{*3}, Reri Pratiwi²

¹Program Studi Kimia Fakultas Kehutanan dan Sains Universitas Lancang Kuning, Pekanbaru

²Program Studi Sarjana Farmasi, Institut Kesehatan Mitra Bunda, Batam

³Program Studi Pendidikan Profesi Apoteker, Institut Kesehatan Mitra Bunda, Batam

E-mail: ayuameliaa2003@gmail.com *

ARTICLE INFO:

Revised: 2025-05-01

Accepted: 2025-05-29

Published: 2025-06-01

Kata kunci:

Muntingia calabura L.,
NADES, *S. aureus*,
E. coli.

Keywords:

Muntingia calabura L.,
NADES, *S. aureus*,
E. coli.

ABSTRAK

Resistensi antibiotik merupakan salah satu tantangan utama dalam dunia kesehatan global, yang mendorong perlunya penemuan senyawa antimikroba baru dari sumber alami. Salah satu tanaman yang berpotensi adalah daun kersen (*Muntingia calabura* L.), yang diketahui mengandung senyawa flavonoid dan komponen bioaktif lainnya dengan potensi sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas antimikroba ekstrak daun kersen yang diperoleh melalui metode Ultrasound Assisted Extraction (UAE) menggunakan pelarut Natural Deep Eutectic Solvents (NADES). NADES yang digunakan terdiri dari dua jenis, yaitu campuran choline chloride:asam sitrat (1:2) dan choline chloride:gliserin (1:2), yang memiliki keunggulan seperti toksisitas rendah, stabilitas tinggi, tidak mudah menguap, serta ramah lingkungan dibandingkan pelarut organik konvensional. Uji aktivitas antimikroba dilakukan dengan metode difusi cakram terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Hasil menunjukkan bahwa ekstrak dengan pelarut choline chloride:asam sitrat menghasilkan zona hambat sebesar 22,5 mm terhadap *E. coli* dan 16,05 mm terhadap *S. aureus*. Sebaliknya, ekstrak dengan choline chloride:gliserin menunjukkan aktivitas rendah terhadap *E. coli* (3,41 mm) dan tidak aktif terhadap *S. aureus*. Temuan ini menegaskan bahwa kombinasi UAE dan NADES berbasis asam sitrat merupakan pendekatan yang efektif dan berkelanjutan dalam ekstraksi senyawa bioaktif untuk pengembangan agen antibakteri dari bahan alam.

ABSTRACT

Antibiotic resistance is one of the significant global health challenges, prompting the search for new antimicrobial compounds from natural sources. One promising plant is cherry leaves (*Muntingia calabura* L.), which are known to contain flavonoids and other bioactive compounds with antibacterial potential. This study evaluated the antimicrobial activity of cherry leaf extract obtained through Ultrasound-Assisted Extraction (UAE) using Natural Deep Eutectic Solvents (NADES) as extraction solvents. Two types of NADES were used: a mixture of choline chloride: citric acid (1:2) and choline chloride: glycerol (1:2), which offer advantages such as low toxicity, high

stability, non-volatility, and environmental friendliness compared to conventional organic solvents. Antimicrobial activity was assessed using the disc diffusion method against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. The results showed that the extract using choline chloride: citric acid as solvent produced inhibition zones of 22.5 mm against *E. coli* and 16.05 mm against *S. aureus*. In contrast, the extract using choline chloride glycerol exhibited low activity against *E. coli* (3.41 mm) and was inactive against *S. aureus*. These findings indicate that combining UAE and citric acid-based NADES is an effective and sustainable approach for extracting bioactive compounds to develop natural antibacterial agents.

©2025 Arfak Chem: Chemistry Education Journal
This is an open access article distributed under the CC BY-ND 4.0 license
(<https://creativecommons.org/licenses/by-nd/4.0/>)

How to cite: Marliza, H., Utami, R. T., Amelia, A., & Pratiwi, R. (2025). Pengujian aktivitas antimikroba ekstrak daun kersen (*Muntingia calabura* L.) menggunakan pelarut nades (*Natural Deep Eutectic Solvents*) dengan metode disc diffusion. *Arfak Chem: Chemistry Education Journal*, 8(1), 737-747. <https://doi.org/10.30862/accej.v8i1.889>

1. INTRODUCTION

Baik negara maju maupun negara berkembang, termasuk Indonesia, sering menghadapi infeksi yang disebabkan oleh bakteri dan jamur. Antibiotik dapat digunakan untuk mengatasi penyakit infeksi ini. Namun, penggunaan antibiotik yang salah dapat menyebabkan resistensi terhadap mikroba (Santoso *et al.*, 2020). Enam jenis bakteri penyebab utama kematian akibat resistensi antibiotik yaitu *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, dan *Pseudomonas aeruginosa* bertanggung jawab atas 3,57 juta kematian terkait *Antimicrobial resistance* (AMR) pada tahun 2019 (Murray *et al.*, 2022).

Resistensi antibiotik mendorong perlunya pencarian senyawa antimikroba baru, salah satunya melalui pemanfaatan senyawa alami dari tumbuhan (Paat *et al.*, 2020). Daun kersen (*Muntingia calabura* L.) mengandung flavonoid, golongan terbesar fenol alam yang bersifat polar dan larut dalam pelarut seperti etanol dan metanol. Flavonoid memiliki sifat antioksidan, antibakteri, dan antiinflamasi, dan merupakan salah satu tanaman yang berpotensi berfungsi sebagai antibakteri dan antijamur. (Arum *et al.*, 2012). Hasil isolasi fitokimia terhadap daun kersen menunjukkan keberadaan senyawa flavonol, flavon, dan auron sebagai komponen utama.

Sejumlah penelitian sebelumnya telah melaporkan aktivitas antimikroba dari ekstrak daun kersen terhadap bakteri dan jamur patogen. Buhian *et al.* (2016) melaporkan ekstrak etanol daun kersen mampu menghambat *E. coli*, *S. aureus*, dan *Candida albicans*. Penelitian Chaudhari *et al.* (2020) dan Cheong *et al.* (2022) juga menunjukkan hasil serupa menggunakan pelarut etil asetat dan metanol. Namun, pelarut-pelarut organik tersebut memiliki sejumlah kekurangan, seperti toksisitas, volatilitas tinggi, dan dampak lingkungan yang kurang ramah. Oleh karena itu, dibutuhkan pelarut alternatif yang lebih aman dan berkelanjutan.

Natural Deep Eutectic Solvents (NADES) merupakan pelarut hijau yang terbentuk dari senyawa metabolit primer alami, seperti asam organik, gula, dan asam amino. NADES terdiri dari pasangan donor dan akseptor ikatan hydrogen *Hydrogen Bond Acceptors* (HBA) dan *Hydrogen Bond Donor*

(HBD), dan memiliki berbagai keunggulan seperti tidak toksik, stabil pada suhu tinggi, tidak mudah menguap, serta *food-grade* (Ahmad & Prabowo, 2020; Rahman *et al.*, 2023). Yang menjadikan NADES menarik dalam penelitian ekstraksi senyawa aktif adalah kemampuannya mengekstraksi senyawa polar dan nonpolar secara selektif, meningkatkan efisiensi ekstraksi, serta menstabilkan senyawa target yang mudah terdegradasi. Dalam konteks ini, NADES berpotensi sebagai pelarut yang unggul untuk mengekstraksi flavonoid dari daun kersen secara lebih efektif dibandingkan pelarut organik konvensional.

Meskipun potensi daun kersen sebagai agen antimikroba telah banyak diteliti, penelitian sebelumnya sebagian besar masih menggunakan pelarut organik. Belum banyak kajian yang mendalam mengenai penggunaan NADES sebagai pelarut ekstraksi senyawa antimikroba dari daun kersen. Selain itu, belum tersedia data yang cukup mengenai efektivitas metode *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE) dengan pelarut NADES dalam mengekstraksi senyawa bioaktif dari tanaman ini.

Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antimikroba dari ekstrak daun kersen yang diekstraksi menggunakan pelarut NADES dengan metode UAE terhadap pertumbuhan *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Candida albicans*. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi terhadap pengembangan metode ekstraksi yang lebih ramah lingkungan dan efisien, serta memperkaya data ilmiah mengenai potensi NADES sebagai pelarut alternatif dalam bidang farmasi, khususnya untuk pengembangan agen antimikroba dari bahan alam.

2. METHODS

A. Bahan

Bahan yang digunakan adalah isolat laboratorium bakteri *E.coli* dan bakteri *S.aureus* daun kersen (*Muntingia calabura L.*), Choline Chloride (ChCl), Asam Sitrat (Cac), Gliserin (C₃H₈O₃), *Nutrient Agar* (NA) (Oxoid), *Aquadest*, *Potato Dextrose Agar* (PDA) (Oxoid), Kloramfenikol *paper disc* (Oxoid), Ketokonazol *paper disc* (Oxoid), Alkohol 70%, Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, Jamur *Candida albicans*, NaCl 0,9%, Pereaksi Mayer, Pereaksi Dragendorff, Kloroform, Amoniak, FeCl₃ 1% (Besi klorida), H₂O (*Aquadest*), H₂SO₄ (Asam Sulfat), HCl 2N (Asam Klorida), Serbuk Mg Magnesium), BaCl₂ 1% (Barium klorida), CH₃COOH (Asam asetat), C₄H₈O₂ (Etil asetat), Masker, Handscoon, Tissue, dan Larutan Mc. Farland.

B. Alat

Alat yang digunakan adalah Autoklaf, *Hot Plate* (Maspion s.302), *Magnetic Heated Stirrer* (HMS-79), Erlenmeyer (Iwaki), Sentrifugasi, Sonikator (Bransov), Timbangan Digital (Kenko), LAF (*Laminar Air Flow*) (Maghnelic), Inkubator (Memmert), Gelas ukur (Iwaki), Tabung Reaksi (Iwaki), Cawan Petri (Pyrex), *Centrifuge* (Hettich EBA 20), Tabung *centrifuge*, Rak tabung reaksi, Oven, Jarum Ose, Korek api, Bunsen, *Magnetic stirrer*, *Vortex*, Kertas saring, Jangka sorong matic, Kertas cakram, Batang pengaduk, Pinset, Cotton swab, Pipet tetes, Pipet mikro, Kapas steril, Aluminium foil, Kain kasa, Blender, Lumpang, Alu.

C. Prosedur Kerja

a. Penyiapan sampel daun kersen

Daun kersen segar yang diperoleh dari Tanjung Uncang disortasi basah untuk memisahkan kotoran-kotoran yang menempel pada daun kersen. Daun yang sudah disortasi basah dicuci dengan air yang mengalir kemudian daun kersen dikeringkan dan diangin-anginkan 2-3 hari pada suhu ruang. Selanjutnya, sebanyak 600 gram daun kersen yang telah kering dihaluskan menggunakan blender hingga menjadi serbuk, kemudian ditimbang sebanyak 1 gram dan diekstraksi dengan pelarut NADES.

b. Preparasi NADES

NADES yang digunakan adalah campuran choline chloride:asam sitrat dengan rasio mol 1:2 dan choline chloride:gliserin dengan rasio mol 1:2. Kedua bahan tersebut dimasukkan ke dalam dua botol Erlenmeyer dan campuran tersebut diaduk dengan spatula panas pada suhu 50 °C dan 800 rpm hingga larutan menjadi homogen. Setelah larutan menjadi homogen, aquadest 30% ditambahkan. Larutan kemudian dimasukkan ke dalam wadah yang tertutup rapat. (Datu *et al.*, 2019). Metode ini merupakan modifikasi dari metode Datu *et al.* (2019), yang menggunakan suhu pemanasan sebesar 80 °C. Modifikasi dilakukan dengan menurunkan suhu menjadi 50 °C untuk menghindari degradasi termal senyawa aktif yang mungkin terdapat dalam bahan pelarut atau ekstrak. Pendekatan serupa telah diterapkan dalam studi oleh (Dai, 2013), yang menunjukkan bahwa suhu 50–60 °C masih efektif untuk menghasilkan NADES homogen, terutama pada sistem yang melibatkan choline chloride dan senyawa donor hidrogen sederhana seperti asam organik atau gliserol. Selain itu, pemilihan rasio molar 1:2 juga didasarkan pada studi sebelumnya yang menunjukkan kestabilan dan kelarutan optimal pada rasio tersebut (Paiva, 2014)

c. Pembuatan ekstrak daun kersen

Satu gram serbuk simplisia daun kersen ditimbang, kemudian dimasukkan ke dalam dua erlenmeyer dan ditambahkan 40 mililiter pelarut NADES. Pelarut NADES yang digunakan adalah campuran choline chloride:asam sitrat dengan rasio mol 1:2 dan choline chloride:gliserin dengan rasio mol 1:2. Setelah 30 menit, bath ultrasonic dengan frekuensi 40 kHz digunakan untuk mengekstraksi kemud. Setelah hasil sentrifus disaring menggunakan kertas saring untuk membedakan filtrat dan ampas, hasilnya dimasukkan ke dalam wadah yang tertutup rapat. (Andriani *et al.*, 2019).

d. Pembuatan media agar miring

Sebanyak 0,56 gram nutrisi untuk disuspensikan dalam 20 mL aquades steril dan kemudian dipanaskan hingga mendidih. Untuk memastikan bahwa media telah tersuspensi sepenuhnya, dilakukan pengadukan dengan mesin penggerak magnet. Autoklaf digunakan selama 15 menit untuk membersihkan media yang telah tersuspensi sempurna. Selanjutnya, media yang sudah steril dimasukkan sebanyak 5 mililiter ke dalam tabung reaksi steril. Media dipanaskan secara aseptis di dalam aliran udara laminar pada suhu 40–45°C (Putrajaya *et al.*, 2019). Tabung reaksi steril yang berisi media kemudian dimiringkan dengan kemiringan antara 30° sampai 45°. Bagian mulut tabung reaksi ditutup dengan aluminium foil dan kapas dibalut kain kasa steril. Selanjutnya, ditunggu sampai media memadat (Putrajaya *et al.*, 2019).

e. *Proses peremajaan bakteri*

Untuk menguji bakteri, jarum ose steril digunakan untuk mengambil bakteri uji dan kemudian ditanamkan pada media miring zig-zag. Selama 24 jam, bakteri yang digoreskan pada media ini diinkubasi untuk *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* pada suhu 45–37°C. (Alouw *et al.*, 2022).

f. *Pembuatan suspensi bakteri*

Jarum ose steril digunakan untuk mengambil bakteri uji yang telah diinokulasi. Kemudian, bakteri tersebut disuspensikan ke dalam tabung yang berisi 2 mL larutan natrium klorida 0,9% hingga kekeruhannya sebanding dengan tandar kekeruhan larutan *Mc. Farland*. Setiap jenis bakteri yang diuji diberlakukan prosedur yang sama. (Nurhamidin *et al.*, 2021).

g. *Pembuatan standar Mc. Farland*

Untuk membuat kekeruhan standar 0,5 *Mc. Farland*, campuran H₂SO₄ 1% sebanyak 9,95 mL dan larutan BaCl₂ 1% sebanyak 0,05 mL digunakan. Larutan kemudian dikocok sampai terbentuk larutan yang keruh. (Nurhamidin *et al.*, 2021).

h. *Uji Aktivitas antibakteri*

Untuk menguji aktivitas antibakteri, metode *disc diffusion* digunakan. Sebagai kontrol positif, kloramfenikol 30 g digunakan, dan pelarut NADES digunakan sebagai kontrol negatif. 20 mL media NA dimasukkan ke dalam cawan petri steril dan didiamkan sampai memadat. Kemudian, menggunakan mikropipet, suspensi bakteri 100 µL ditambahkan dan dioleskan pada permukaan media menggunakan cotton swab steril sampai memenuhi permukaannya. Dibiarkan selama 1-5 menit agar suspensi masuk ke dalam media agar. Kemudian, larutan dengan konsentrasi ekstrak kersen masing-masing dipipet sebanyak 20 µL menggunakan mikropipet pada kertas cakram. Setelah itu, letakkan kertas cakram di atas Nutrient agar. Lakukan ini tiga kali. Cawan petri kemudian disimpan dalam inkubator selama satu kali selama 24 jam pada suhu 37 °C. Selanjutnya, aktivitas antibakteri ditentukan dengan mengukur diameter area bening yang berbentuk dengan jangka sorong (Bakhtra, 2018).

i. *Pengamatan dan pengukuran zona hambat*

Pengamatan dilakukan pada media setelah 24 jam pada masa inkubasi. Zona hambat, juga dikenal sebagai zona bening, di sekitar kertas cakram menunjukkan kepekaan bakteri terhadap zat antibakteri yang diuji. Zona hambat ini diukur dengan jangka sorong matic dengan ukuran vertikal dan horizontal dalam milimeter.

Diameter zona hambat diukur dengan rumus :

$$\frac{(DV - DC) + (DH - DC)}{2}$$

Keterangan:

DV : Diameter vertikal

DH : Diameter horisontal

DC : Diameter cakram (Magvirah *et al.*, 2019)

j. Analisis data

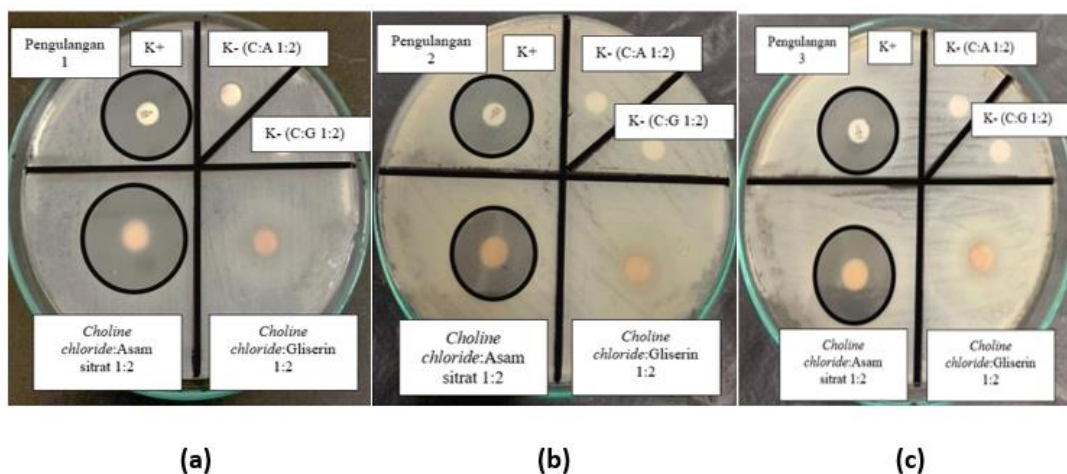
Analisis data uji antimikroba dilakukan secara deskriptif dengan mengukur diameter zona hambat (zona bening) pada masing-masing perlakuan, meliputi berbagai perbandingan NADES, kontrol positif, dan kontrol negatif. Seluruh hasil pengukuran disajikan dalam bentuk tabel untuk mempermudah interpretasi.

3. RESULTS AND DISCUSSIONS

Uji aktivitas antimikroba dilakukan untuk mengetahui efektivitas ekstrak daun kersen yang diformulasi menggunakan pelarut NADES terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Penilaian dilakukan dengan mengamati dan mengukur diameter zona hambat (zona bening) yang terbentuk di sekitar cakram kertas. Semakin besar diameter zona hambat, semakin kuat aktivitas antimikroba dari perlakuan tersebut. Hasil pengukuran disajikan pada Tabel 1 dan Diameter Zona Hambat ekstrak daun kersen dengan pelarut NADES terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* pengulangan 1x, pengulangan 2x, dan pengulangan 3x sesuai pada Gambar 1.

Tabel 1. Hasil pengukuran zona hambat ekstrak daun kersen dengan pelarut NADES terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Perlakuan	Diameter Zona Hambat Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> (mm)			
	Perlakuan 1	Perlakuan 2	Perlakuan 3	Rata-rata
Choline chloride:Asam sitrat 1:2	19,4 mm	13,8 mm	14,95 mm	16,05 mm
Choline chloride:Gliserin 1:2	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
Kontrol positif (Kloramfenikol)	23,7 mm	21,4 mm	23,5 mm	22,8 mm
Kontrol negatif (C:A 1:2)	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
Kontrol negatif (C:G 1:2)	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm



Gambar 1. Diameter zona hambat ekstrak daun kersen dengan pelarut NADES terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* pengulangan 1x, pengulangan 2x, dan pengulangan 3x

Setelah dilakukan pengujian terhadap *Staphylococcus aureus*, uji aktivitas antibakteri juga dilakukan terhadap bakteri *Escherichia coli* untuk mengetahui spektrum aktivitas dari ekstrak daun kersen yang diformulasi dengan pelarut NADES. Seperti sebelumnya, pengukuran dilakukan berdasarkan diameter zona hambat (zona bening) yang terbentuk di sekitar cakram kertas. Semakin besar diameter zona hambat, semakin kuat aktivitas antibakterinya. Hasil pengamatan dan pengukuran terhadap masing-masing perlakuan disajikan pada Tabel 2 dan Diameter Zona Hambat ekstrak daun kersen dengan pelarut NADES terhadap bakteri *Escherichia coli* pengulangan 1x, pengulangan 2x, dan pengulangan 3x sesuai Gambar 2.

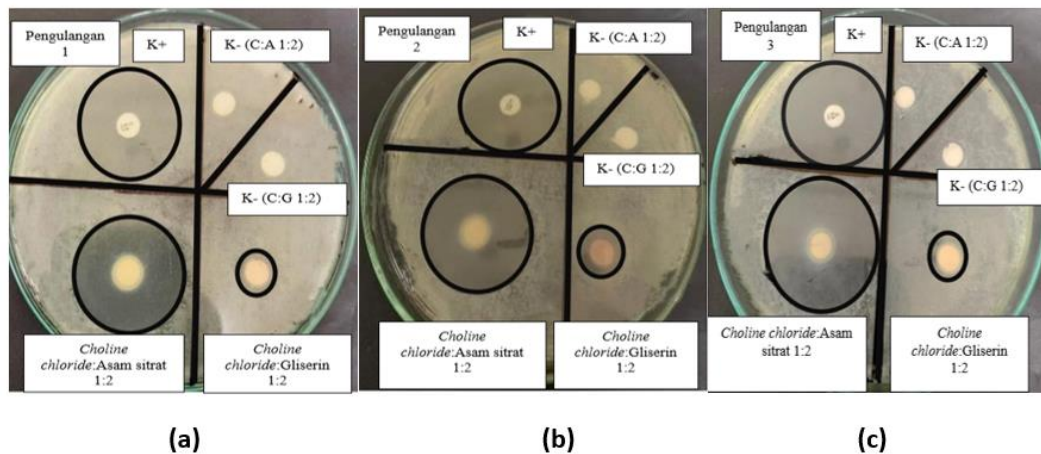
Tabel 2. Hasil pengukuran zona hambat ekstrak daun kersen dengan pelarut NADES terhadap bakteri *Escherichia coli*

Perlakuan	Diameter Zona Hambat Bakteri <i>Escherichia coli</i> (mm)			
	Perlakuan 1	Perlakuan 2	Perlakuan 3	Rata-rata
<i>Choline chloride</i> :Asam sitrat 1:2	21,6 mm	21,15 mm	24,75 mm	22,5 mm
<i>Choline chloride</i> :Gliserin 1:2	2,7 mm	4,3 mm	3,25 mm	3,41 mm
Kontrol positif (Kloramfenikol)	26,6 mm	26,4 mm	29,0 mm	27,3 mm
Kontrol negatif (C:A 1:2)	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
Kontrol negatif (C:G 1:2)	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm

Keterangan :

C:A 1:2 : *Choline chloride*: Asam sitrat 1:2

C:G 1:2 : *Choline chloride*: Gliserin 1:2



Gambar 2. Diameter zona hambat ekstrak daun kersen dengan pelarut NADES terhadap bakteri *Escherichia coli* pengulangan 1x, pengulangan 2x, dan pengulangan 3x

Berdasarkan Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun kersen (*Muntingia calabura L.*) dengan pelarut NADES *choline chloride*:asam sitrat rasio mol 1:2 pada konsentrasi 80% menunjukkan adanya zona hambat aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar 16,05 mm Sedangkan, ekstrak daun kersen dengan pelarut NADES *choline chloride*:gliserin dengan rasio mol 1:2 pada konsentrasi 80% tidak menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus*

aureus. Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun kersen (*Mutingia calabura* L.) dengan pelarut NADES *choline chloride*:asam sitrat rasio mol 1:2 pada konsentrasi 80% menunjukkan adanya zona hambat aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* sebesar 22,5 mm (Gambar 1). Sedangkan, ekstrak daun kersen dengan pelarut NADES *choline chloride*:gliserin rasio mol 1:2 pada konsentrasi 80% menunjukkan adanya zona hambat aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* sebesar 3,41 mm (Gambar 2).

Pada penelitian yang dilakukan oleh Buhian *et al.* (2016), ekstrak etanol daun kersen dengan konsentrasi 0,625 mg/ml menunjukkan daya hambat terhadap *Escherichia coli* (12,3 mm), *Staphylococcus aureus* (37,7 mm). Chaudhari *et al.* (2020), menemukan bahwa ekstrak etil asetat daun kersen dengan konsentrasi 25, 50, dan 100 mg/ml menciptakan zona hambat pada *Escherichia coli* dengan diameter 9 mm, 10 mm, dan 12 mm. Cheong *et al.* (2022), menemukan bahwa ekstrak daun kersen dengan metanol dengan konsentrasi 1000 mg/ml menciptakan zona hambat *Staphylococcus aureus* sebesar 14,33 mm. Dengan menggunakan pelarut NADES *choline chloride*:gliserin dengan rasio mol 1:2 pada konsentrasi 80%, pelarut ini tidak menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*. Ini karena densitas dan viskositas tinggi pelarut *choline chloride*:gliserin. Beberapa variabel, seperti konsentrasi ekstrak, kandungan senyawa metabolit sekunder, dan daya difusi ekstrak, dapat memengaruhi bagaimana zona hambat berbeda terhadap masing-masing bakteri (Lestari *et al.*, 2016).

Metode pengamatan ini menemukan apakah ada daerah bening di sekeliling kertas cakram, yang menunjukkan zona yang menghambat pertumbuhan bakteri (Nurhayati *et al.*, 2020). Untuk menguji aktivitas antimikroba, kloramfenikol dan ketokonazol digunakan sebagai kontrol positif. Ini dilakukan untuk mengontrol zat uji dengan membandingkan diameter daerah hambat yang terbentuk. Kloramfenikol memiliki aktivitas antibakteri berspektrum luas, membunuh baik bakteri gram positif maupun gram negative, yang menjadikannya kontrol positif (Dian *et al.*, 2015).

Kontrol negatif yang digunakan pada pengujian aktivitas antimikroba adalah NADES *choline chloride*:asam sitrat dengan rasio mol 1:2 dan *choline chloride*:gliserin dengan rasio mol 1:2. Penggunaan kontrol negatif digunakan sebagai pembanding untuk membuktikan bahwa aktivitas antimikroba yang dihasilkan sepenuhnya berasal dari senyawa bioaktif dalam ekstrak, bukan dari pelarut yang digunakan. Hasil uji menunjukkan bahwa pelarut NADES tidak menghasilkan zona hambat pada mikroba uji. Pelarut NADES yang digunakan sebagai kontrol negatif tidak memiliki efek penghambatan terhadap pertumbuhan mikroba (Ulfa *et al.*, 2024).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun kersen (*Mutingia calabura* L.) memiliki zona hambat aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar 16,05 mm. Sebaliknya, ekstrak daun kersen dengan pelarut NADES *choline chloride*:asam sitrat dengan rasio mol 1:2 pada konsentrasi 80% tidak menunjukkan aktivitas antibakteri.

Hasil pengujian aktifitas antibakteri ekstrak daun kersen (*Mutingia calabura* L.) dengan pelarut NADES *choline chloride*:asam sitrat rasio mol 1:2 pada konsentrasi 80% menunjukkan adanya zona hambat aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* sebesar 22,5 mm. Sebaliknya, hasil pengujian ekstrak daun kersen dengan pelarut NADES *choline chloride*:gliserin rasio mol 1:2 pada konsentrasi 80% menunjukkan adanya zona hambat aktivitas antibakteri terhadap bakteri. Dalam penelitian sebelumnya yang menggunakan pelarut etanol, metanol dan etil asetat memiliki densitas dan viskositas yang rendah serta kepolaran yang tinggi. Akibatnya, senyawa yang terekstrak lebih

banyak (Rahman *et al.*, 2023). Beberapa variabel, seperti konsentrasi ekstrak, kandungan senyawa metabolit sekunder, dan daya difusi ekstrak, dapat memengaruhi bagaimana zona hambat berbeda terhadap masing-masing bakteri (Lestari *et al.*, 2016).

Pada penelitian yang dilakukan oleh Buhian *et al.* (2016), ekstrak etanol daun kersen dengan konsentrasi 0,625 mg/ml menunjukkan daya hambat terhadap *Escherichia coli* (12,3 mm), *Staphylococcus aureus* (37,7 mm). Chaudhari *et al.* (2020), ekstrak etil asetat daun kersen dengan konsentrasi 25, 50, dan 100 mg/ml menghasilkan zona hambat pada *Escherichia coli* (9 mm, 10 mm, dan 12 mm). Cheong *et al.* (2022), ekstrak metanol daun kersen dengan konsentrasi 1000 mg/ml menghasilkan zona hambat pada *Staphylococcus aureus* sebesar 14,33 mm.

Karena nilai densitas dan viskositas pelarut NADES *choline chloride*:gliserin dengan rasio mol 1:2 pada konsentrasi 80%, ekstrak daun kersen tidak menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Dalam penelitian sebelumnya yang menggunakan pelarut etanol, metanol dan etil asetat memiliki densitas dan viskositas yang rendah serta kepolaran yang tinggi. Akibatnya, senyawa yang terekstrak lebih banyak (Rahman *et al.*, 2023). Beberapa variabel, seperti konsentrasi ekstrak, kandungan senyawa metabolit sekunder, dan daya difusi ekstrak, dapat memengaruhi bagaimana zona hambat berbeda terhadap masing-masing bakteri (Lestari *et al.*, 2016).

4. CONCLUSIONS

Ekstrak daun kersen dengan pelarut NADES *choline chloride*:asam sitrat dengan rasio mol 1:2 menunjukkan zona hambat aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar 16,05 mm dan *Escherichia coli* sebesar 22,5 mm. Sebaliknya, ekstrak daun kersen dengan pelarut NADES *choline chloride*:gliserin dengan rasio mol 1:2 menunjukkan hanya zona hambat aktivitas antibakteri sebesar 3,41 mm. Hasil ini menunjukkan bahwa komposisi NADES sangat memengaruhi efektivitas ekstraksi senyawa antibakteri dari daun kersen. NADES berbasis asam sitrat tampaknya lebih efektif dalam mengekstraksi senyawa aktif dengan potensi antibakteri, kemungkinan karena sifat asamnya yang dapat meningkatkan kelarutan metabolit sekunder seperti flavonoid dan tanin. Perbedaan aktivitas ini menunjukkan signifikansi potensial dalam pemilihan pelarut NADES untuk aplikasi pengembangan antimikroba alami. Temuan ini mendukung pemanfaatan NADES asam sitrat sebagai alternatif ramah lingkungan untuk ekstraksi senyawa bioaktif.

REFERENCES

- Ahmad, I., & Prabowo, W. C. (2020). Optimasi Metode Ekstraksi Berbantu Mikrowave Dengan Pelarut Hijau (Asam Sitrat-Glukosa) Terhadap Kadar Polifenol Total Dari Daun Kadamba (*Mitragyna Speciosa* Korth. Havil) Menggunakan Response Surface Methodology. *Majalah Farmasi Dan Farmakologi*, 24(1), 11–16. <https://doi.org/10.20956/Mff.V24i1.9456>
- Alouw, G., Fatimawali, F., & Lebang, J. S. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia Calabura* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Dan *Pseudomonas Aeruginosa* Dengan Metode Difusi Sumuran. *Jurnal Farmasi Medica/Pharmacy Medical Journal (Pmj)*, 5(1), 36. <https://doi.org/10.35799/Pmj.V5i1.41430>
- Andriani, M., Permana, G. D. M., & Widarta, I. W. R. (2019). The Effect Of Time And Temperature Extraction On Antioxidant Activity Of Starfruit Wuluh Leaf (*Averrhoa Bilimbi* L.) Using Ultrasonic Assisted Extraction (Uae) Method. *Ilmu Dan Teknologi Pangan*, 8(3), 330–340.
- Arum, Y., Supartono, & Sudarmin. (2012). Isolasi Dan Uji Antimikroba Ekstrak Daun Kersen. *Indonesian Journal Of Mathematics And Natural Sciences*, 35(2), 157–164.
- Bakhtera, D. D. J. (2018). Uji Aktivitas Fraksi Dari Ekstrak Daun Sambung Nyawa (*Gynura Procumbens* (Lour.) Merr.) Terhadap Bakteri *Shigella Dysenteriae*. *Jurnal Farmasi Higea*, 10(1), 10–18. <http://jurnalfarmasihigea.org/index.php/higea/article/view/175>
- Buhian, W. P. C., Rubio, R. O., Valle, D. L., & Martin-Puzon, J. J. (2016). Bioactive Metabolite Profiles And Antimicrobial Activity Of Ethanolic Extracts From *Muntingia Calabura* L. Leaves And Stems. *Asian Pacific Journal Of Tropical Biomedicine*, 6(8), 682–685. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2016.06.006>
- Chaudhari, R. N., Jain, A. K., & Chatap, V. K. (2020). Phytochemical Screening, Antioxidant And Antimicrobial Potential Of Leaves Extract Of *Muntingia Calabura*. *Journal Of Advanced Scientific Research*, 11(4), 218–224.
- Cheong, N. D. H., Amran, M. M., & Yusof, H. (2022). Phytochemical Investigation And Antimicrobial Activity Of *Muntingia Calabura* L. Against Selected Pathogens. *Malaysian Journal Of Medicine And Health Sciences*, 18, 301–307. <https://doi.org/10.47836/Mjmh18.515.42>
- Dai, Y. W.-J. (2013). Natural deep eutectic solvents as new potential media for green technology. *Analytica Chimica Acta*, 766, 61–68., 766, 61–68.
- Datu, K. A. T., Fitriani, N., & Ahmad, I. (2019). Pengaruh Penggunaan Metode Lactic Acid-Sucrose Dengan *Microwave Assisted Extraction* (MAE) Terhadap Polifenol Total Dari Herba Suruhan (*Peperomia Pellucida* (L.) Kunth). *Proceeding Of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*, 10(October 2019), 114–117. <https://doi.org/10.25026/Mpc.V10i1.373>
- Dian, R., . F., & Budiarmo, F. (2015). Uji Resistensi Bakteri *Escherichia Coli* Yang Diisolasi Dari Plak Gigi Terhadap Merkuri Dan Antibiotik Kloramfenikol. *Jurnal E-Biomedik*, 3(1). <https://doi.org/10.35790/Ebm.3.1.2015.6607>
- Lestari, Y., Ardiningsih, P., & Nurlina. (2016). Aktivitas Antibakteri Gram Positif Dan Negatif Dari Ekstrak Dan Fraksi Daun Nipah (*Nypa Fruticans* Wurmb.) Asal Pesisir Sungai Kakap Kalimantan Barat. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 5(4), 1–8.
- Magvirah, T., Marwati, & Ardhani, F. (2019). Uji Daya Hambat Bakteri *Staphylococcus Aureus* Menggunakan Ekstrak Daun Tahongai (*Kleinhovia Hospita* L.). *Jurnal Peternakan Lingkungan Tropis*, 2(2), 41–50.
- Murray, C. J., Ikuta, K. S., Sharara, F., Swetschinski, L., Robles Aguilar, G., Gray, A., Han, C., Bisignano, C., Rao, P., Wool, E., Johnson, S. C., Browne, A. J., Chipeta, M. G., Fell, F., Hackett, S., Haines-Woodhouse, G., Kashef Hamadani, B. H., Kumaran, E. A. P., Mcmanigal, B., ... Naghavi, M. (2022). Global Burden Of Bacterial Antimicrobial Resistance In 2019: A Systematic Analysis. *The Lancet*, 399(10325), 629–655. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)02724-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02724-0)

Pengujian aktivitas antimikroba ekstrak daun kersen (*Muntingia calabura L.*) menggunakan pelarut nades (Natural Deep Eutectic Solvents) dengan metode disc diffusion

Hesti Marliza, Rury Trisa Utami, Ayu Amelia, Reri Pratiwi

- Nurhamidin, A. P. R., Fatimawali, F., & Antasionasti, I. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak N-Heksan Biji Buah Langsung (*Lansium Domesticum* Corr) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Dan *Klebsiella Pneumoniae*. *Pharmakon*, 10(1), 748. <https://doi.org/10.35799/Pha.10.2021.32772>
- Nurhayati, L. S., Yahdiyani, N., & Hidayatulloh, A. (2020). Perbandingan Pengujian Aktivitas Antibakteri Starter Yogurt dengan Metode Difusi Sumuran Dan Metode Difusi Cakram. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*, 1(2), 41. <https://doi.org/10.24198/Jthp.V1i2.27537>
- Paat, E. M., Wewengkang, D. S., & Rotinsulu, H. (2020). Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etil Asetat Jamur Laut Yang Diisolasi Dari Karang Lunak *Sarcophyton* Sp. Dari Perairan Desa Tumbak Kecamatan Pusomaen. *Pharmakon*, 9(1), 142. <https://doi.org/10.35799/Pha.9.2020.27421>
- Paiva, A. C. (2014). Natural deep eutectic solvents – Solvents for the 21st century. . *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 2(5), 1063–1071.
- Putrajaya, F., Hasanah, N., & Kurlya, A. (2019). Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Suruhan (*Peperomia Pellucida* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Penyebab Jerawat (*Propionibacterium Acnes*) Dengan Metode Sumuran Agar. *Edu Masda Journal*, 3(2), 123. <https://doi.org/10.52118/Edumasda.V3i2.34>
- Rahman, M. K., Fachriyah, E., & Kusrini, D. (2023). Ekstraksi Daun Salam Berbasis Natural Deep Eutectic Solvent Dan Pemanfaatannya Sebagai Antioksidan. *Greensphere: Journal Of Environmental Chemistry*, 2(2), 7–12. <https://doi.org/10.14710/Gjec.2022.16569>
- Santoso, U., Utari, M., & Marpaung, M. P. (2020). Aktivitas Antibakteri Dan Antijamur Ekstrak Batang Akar Kuning (*Fibraurea Chloroleuca* Miers) Terhadap *Escherichia Coli*, *Staphylococcus Aureus* dan *Candida Albicans*. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada: Jurnal Ilmu-Ilmu Keperawatan, Analisis Kesehatan Dan Farmasi*, 20(2), 194. <https://doi.org/10.36465/Jkbth.V20i2.611>
- Ulfa, E. U., P, M. R. A. P., & Dianasari, D. (2024). Skrining Fitokimia Dan Evaluasi Antibakteri Ekstrak Nades (Natural Deep Eutectic Solvents) Daun Iler (*Coleus Atropurpureus* L . Benth) Terhadap Bakteri Penyebab Folikulitis. *Journal Of Agropharmacy*, 1(1), 1–5.
-