

BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Ekstraksi Daun Kardia (*Bellucia pentamera* Naudin)

Ekstraksi daun kardia dilakukan dengan metode maserasi dimana simplisia sebanyak 250 gram menghasilkan ekstrak dengan berat 83,3 gram dengan persentase berat 33,32%. Setiap tumbuhan memiliki kadar ekstrak yang berbeda-beda. Menurut Singh (2011), ekstrak tumbuhan yang didapat dari simplisia berbeda-beda dalam komposisi, kualitas, dan aktivitasnya meskipun berasal dari spesies yang sama, sehingga diperlukan standarisasi ekstrak untuk mengetahui konsistensi senyawa yang terkandung dalam ekstrak tersebut yang nantinya berguna untuk keperluan pembuatan obat tradisional.

Rendemen merupakan perbandingan antara ekstrak yang didapat dengan simplisia yang digunakan. Rendemen yang didapatkan nantinya akan digunakan sebagai acuan dalam standarisasi tumbuhan obat. Jumlah rendemen yang didapatkan yaitu sebesar 33,32%. Jumlah rendemen ini tidak jauh berbeda dengan penelitian Purwanto (2015) tentang daun senggani (*Melastoma malabathricum* L.) dimana rendemen yang didapatkan sebesar 30,2%, berbeda dengan penelitian menggunakan tumbuhan lain, seperti pada penelitian Rivai *et al* (2013) yaitu rendemen daun sirsak (*Annona muricata* L.) yang didapatkan sebesar 19,3046% dan penelitian Tarman *et al* (2013) tentang daun bakau hitam (*Rhizophora mucronata*) dimana rendemen yang didapatkan sebesar 21,47%.

Jumlah ekstrak yang didapatkan dapat dipengaruhi oleh beberapa hal seperti banyaknya simplisia yang digunakan, pelarut yang digunakan, dan kehalusan dari simplisia. Kehalusan simplisia berhubungan dengan luas permukaan simplisia yang bersentuhan dengan pelarut yang digunakan selama proses ekstraksi. Menurut Sapri *et al.* (2014), semakin halus bahan yang digunakan maka semakin luas bidang kontak antara bahan dengan pelarut sehingga semakin banyak

rendemen yang dihasilkan pada proses ekstraksi. Ukuran bahan yang sesuai akan menjadikan proses ekstraksi berlangsung dengan baik dan tidak memakan waktu yang lama karena kecepatan mencapai kesetimbangan sistem juga semakin cepat.

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi dengan pelarut metanol. Metode maserasi digunakan dilakukan dengan cara merendam simplisia dalam pelarut pada suhu kamar sehingga kerusakan atau degradasi metabolit dapat diminimalisasi. Metanol digunakan sebagai pelarut dalam maserasi karena dianggap sebagai pelarut universal. Menurut Harborne (2006), alkohol adalah pelarut serbaguna yang baik untuk ekstraksi pendahuluan karena dianggap dapat menarik hampir semua komponen, baik yang bersifat polar, semi-polar, dan non-polar. Menurut Hanani (2016), proses keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar dan di dalam sel terjadi selama maserasi sehingga diperlukan penggantian pelarut secara berulang.

Senyawa-senyawa yang terdapat dalam simplisia akan larut dalam pelarut selama proses maserasi karena aktivitas dari pelarut tersebut. Menurut Purwanto (2015), pelarut yang digunakan selama ekstraksi akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif sehingga zat aktif akan larut, karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan pelarut sehingga larutan yang terpekat akan didesak keluar.

4.2. Fraksinasi Ekstrak Daun Kardia (*Bellucia pentamera* Naudin)

Fraksinasi dilakukan dengan menggunakan pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda-beda. Fraksinasi bertujuan untuk menarik semua senyawa-senyawa kimia dalam tumbuhan berdasarkan kepolaran dari setiap senyawa. Fraksinasi dilakukan karena ekstrak yang didapatkan masih berupa senyawa campuran. Selain itu, tidak semua senyawa yang didapatkan memiliki aktivitas antibakteri. Pelarut yang digunakan yaitu n-heksana (non-polar), etil asetat (semi polar), dan metanol (polar). Hasil dari ekstraksi daun kardia berupa ekstrak cair digunakan sebesar 150 ml untuk fraksinasi. Fraksinasi dilakukan dengan metode fraksinasi cair-cair (FCC). Hasil fraksinasi setiap fraksi dapat dilihat pada Tabel 4.1 berikut.

Tabel 4.1 Hasil Fraksinasi Ekstrak Daun Kardia (*Bellucia pentamera* Naudin)

No.	Pelarut	Berat Fraksi (gram)	Persentase Berat Fraksi (%)
1.	N-heksana	32,4	38,90
2.	Etil asetat	27,6	33,13
3.	Metanol air	23,3	27,97
Total		83,3	100

Keterangan: % Berat Fraksi = $\frac{\text{Berat fraksi (gram)}}{\text{Berat total (gram)}}$

Tabel 4.1. menunjukkan berat dari masing-masing fraksi yang diperoleh berdasarkan dengan pelarut yang digunakan. Berat fraksi yang diperoleh sangat dipengaruhi oleh pelarut yang digunakan. Pelarut yang digunakan dalam proses fraksinasi berdasarkan urutan kepolarannya, dimulai dari pelarut n-heksana, dilanjutkan dengan pelarut etil asetat dan metanol air. Fraksi n-heksana memiliki nilai yang paling tinggi dari hasil fraksinasi daun kardia, yaitu sebesar 38,90%, diikuti dengan fraksi etil asetat sebesar 33,13%, dan metanol air sebesar 27,97%. Menurut Purwanto (2015), hasil fraksinasi yang diperoleh menunjukkan nilai yang berbeda-beda dikarenakan perbedaan nilai kepolaran masing-masing golongan senyawa kimia.

Senyawa yang berasal dari tumbuhan memiliki kepolaran yang berbeda-beda yang disebabkan oleh perbedaan struktur dan ikatan kimia yang dimilikinya. Senyawa yang polar dapat diikat oleh pelarut polar dan semipolar seperti metanol dan etil asetat, sedangkan senyawa nonpolar dapat diikat oleh pelarut seperti n-heksana. Menurut Harborne (2006), senyawa fenol seperti flavonoid, tanin, lignin, dan melanin mempunyai cincin aromatik yang mengandung satu atau dua penyulih hidrosil sehingga bersifat polar, sedangkan senyawa terpenoid umumnya mempunyai struktur siklik dan mempunyai satu gugus fungsi atau lebih (hidrosil, karbonil, dll) sehingga bersifat non-polar dan dapat larut dalam lemak atau senyawa non-polar seperti n-heksana dan kloroform.

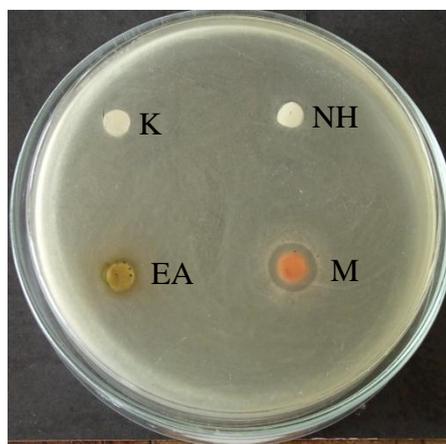
4.3. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun (*Bellucia pentamera* Naudin) Terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Pengujian aktivitas antibakteri fraksi metanol air, etil asetat, dan n-heksana terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dilakukan dengan konsentrasi 4000 µg/ml. Pengujian aktivitas antibakteri dari fraksi ini dilakukan untuk menentukan fraksi mana yang aktif dan dapat menghambat pertumbuhan kedua bakteri uji. Untuk menentukan fraksi mana yang paling aktif maka dilakukan pengujian aktivitas antibakteri dari setiap fraksi yang dapat dilihat pada Tabel 4.2.

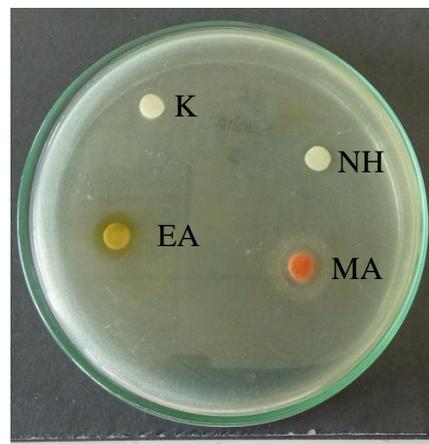
Tabel 4.2 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi-Fraksi Daun Kardia Terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

No.	Fraksi	Konsentrasi (%)	\bar{x} Diameter zona hambat \pm sd (mm)	
			<i>E.coli</i>	<i>S. aureus</i>
1.	N-heksana	4	-	-
2.	Etil Asetat	4	-	-
3.	Metanol Air	4	12,73 \pm 1,92	8,82 \pm 0,72
4.	Kontrol	0	-	-

Keterangan: *Paper disc* yang digunakan berdiameter 6 mm



Escherichia coli



Staphylococcus aureus

Gambar 4.1 Perbedaan zona hambat dari fraksi daun kardia terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Keterangan: (NH) N-heksana, (EA) Etil Asetat, (MA) Metanol Air, (K) Kontrol

Berdasarkan hasil Tabel 4.2. dapat diketahui bahwa fraksi yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* adalah fraksi metanol air. Zona hambat yang dihasilkan fraksi metanol air terhadap

Escherichia coli dan *Staphylococcus aureus* berturut-turut adalah $12,73 \pm 1,92$ dan $8,82 \pm 0,72$. Semakin besar diameter zona hambat maka aktivitas antibakteri semakin kuat. Menurut Nazri *et al.* (2011), bahwa kriteria kekuatan antibakteri berdasarkan diameter zona hambat yaitu tidak ada (0 mm), lemah (0-9 mm), sedang (10-14 mm), kuat (15-20 mm). Kekuatan antibakteri fraksi metanol air terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* berturut-turut adalah sedang dan lemah.

Beberapa tumbuhan dari famili Melastomataceae juga telah diteliti dan memiliki aktivitas antibakteri, seperti fraksi metilen klorida *Miconia ligustroides* yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Bacillus cereus* dan *Staphylococcus pneumoniae* (Cunha *et al.*, 2010), fraksi metanol air dari *Miconia cabucu* dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus epidermidis*, *Candida albicans*, dan *Staphylococcus aureus* (Rodrigues *et al.*, 2008). Selain itu, fraksi petroleum eter *Memecylon umbellatum* mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, sedangkan fraksi eternya mampu menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*, dan fraksi kloroformnya mampu menghambat *Bacillus subtilis* (Killedar *et al.*, 2008).

Fraksi aktif yang didapat dari kardia termasuk dalam fraksi metanol air. Beberapa penelitian menunjukkan fraksi aktif dari tumbuhan famili Melastomataceae tidak hanya berupa fraksi metanol air. Berdasarkan beberapa penelitian seperti Purwanto (2015), fraksi aktif *Melastoma malabathricum* L. terhadap *Escherichia coli* adalah fraksi Etil Asetat dan fraksi Metanol air dengan konsentrasi 8000 $\mu\text{g/ml}$ dan diameter zona hambat masing-masing 21,00 mm dan 13,75 mm dimana fraksi Etil Asetat lebih baik dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Menurut Nono *et al.* (2014), ekstrak Etil Asetat *Dissotis thollonii* Cogn. dengan konsentrasi 0,02 mg/ μl memiliki aktivitas menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan diameter $10 \pm 1,00$ mm.

Fraksi metanol air memiliki jumlah yang paling sedikit diantara fraksi lainnya namun justru fraksi metanol air yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, sedangkan untuk fraksi n-heksana dan fraksi etil asetat tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri yang diujikan. Hal ini menunjukkan bahwa jumlah fraksi yang didapatkan dari

proses fraksinasi tidak berkaitan dengan kemampuan suatu fraksi sebagai antibakteri. Senyawa aktif yang dimiliki oleh tiap tumbuhan berbeda-beda jenisnya dan untuk tumbuhan kardia termasuk dalam senyawa yang polar sehingga terdapat di fraksi metanol air.

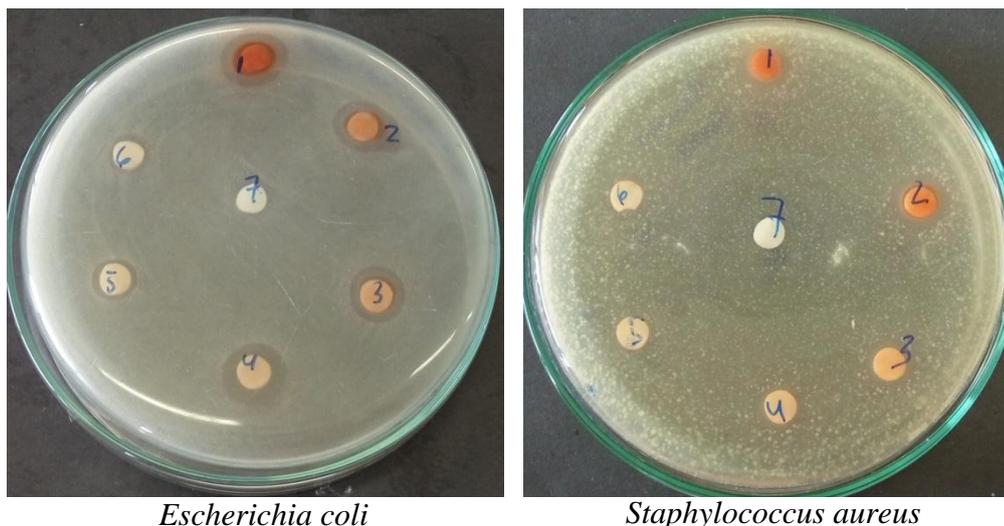
4.4. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Fraksi Metanol-Air Terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Fraksi metanol air mempunyai daya hambat terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* berdasarkan pengujian aktivitas antibakteri sehingga pengujian penentuan nilai KHM fraksi digunakan fraksi metanol air. Penentuan KHM dilakukan untuk mengetahui sensitivitas dari bakteri terhadap senyawa antibakteri dalam konsentrasi yang paling rendah agar tidak terjadi resistensi bakteri terhadap senyawa antibakteri. Selain itu, konsentrasi yang paling rendah juga lebih efektif dan ekonomis karena hanya memerlukan bahan senyawa aktif dalam jumlah yang sedikit. Hasil dari pengujian penentuan nilai KHM fraksi metanol air dapat dilihat pada Tabel 4.4. sebagai berikut:

Tabel 4.3 Hasil Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Fraksi Metanol-Air Terhadap *E.coli* dan *S.aureus*

No.	Konsentrasi Fraksi ($\mu\text{g/ml}$)	\bar{x} Diameter Zona Hambat \pm sd (mm)	
		<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
1.	4000	11,37 \pm 1,41	10,34 \pm 0,76
2.	2000	11,21 \pm 0,85	9,43 \pm 1,30
3.	1000	10,32 \pm 0,67	8,13 \pm 0,90
4.	500	8,64 \pm 2,22	7,98 \pm 0,73
5.	250	8,35 \pm 0,58	-
6.	125	7,68 \pm 0,89	-
7.	62,5	-	-

Keterangan: *Paper disc* yang digunakan berdiameter 6 mm



Escherichia coli *Staphylococcus aureus*
 Gambar 4.2 Perbedaan zona hambat dari konsentrasi fraksi metanol air terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

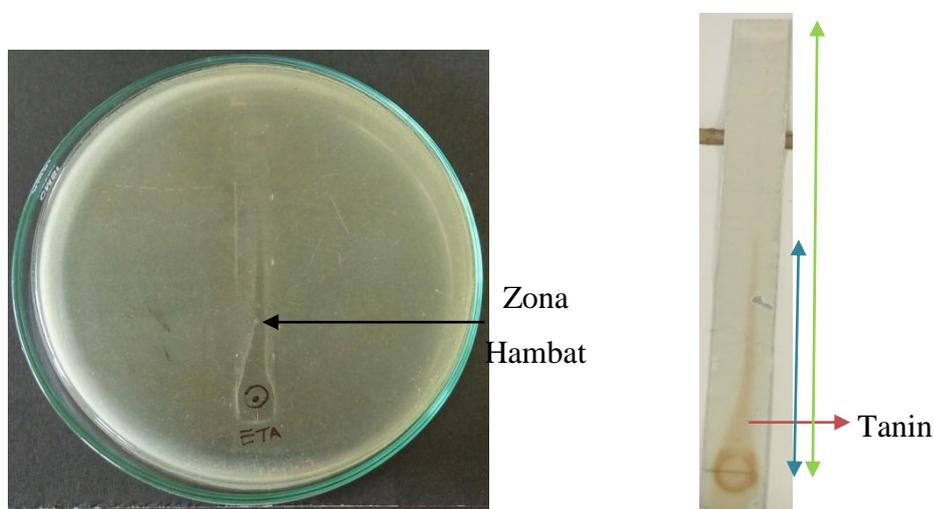
Keterangan : (1) 4000 µg/ml, (2) 2000 µg/ml, (3) 1000 µg/ml, (4) 500 µg/ml, (5) 250 µg/ml, (6) 125 µg/ml, (7) 0 µg/ml

Berdasarkan Tabel 4.4. dapat dilihat bahwa pada fraksi metanol air dari ekstrak daun kardia dengan konsentrasi 4000 µg/ml mempunyai nilai diameter zona hambat yang paling besar terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, sedangkan diameter zona hambat terkecil pada konsentrasi 125 µg/ml untuk *Escherichia coli* dan konsentrasi 500 µg/ml untuk *Staphylococcus aureus*. Konsentrasi fraksi yang digunakan berbanding lurus dengan aktivitas dari senyawa antibakteri. Menurut Tille (2014), terdapat beberapa faktor yang dapat mempengaruhi diameter zona hambat, yaitu konsentrasi zat antibakteri, jenis mikroorganismenya, jumlah mikroorganismenya, suhu, komposisi media, pH, dan waktu inkubasi.

Hasil dari Tabel 4.4, konsentrasi 125 µg/ml merupakan nilai KHM terhadap *Escherichia coli* dan konsentrasi 500 µg/ml merupakan nilai KHM terhadap *Staphylococcus aureus*. Nilai KHM fraksi metanol air dari ekstrak daun kardia terhadap bakteri *Escherichia coli* mempunyai aktivitas antibakteri kuat dan terhadap *Staphylococcus aureus* mempunyai aktivitas antibakteri lemah. Menurut Holetz *et al.* (2002), nilai KHM senyawa antibakteri <100 µg/ml termasuk senyawa antibakteri sangat kuat, nilai KHM 100-500 µg/ml termasuk senyawa antibakteri kuat, nilai KHM 500-1000 µg/ml termasuk senyawa antibakteri lemah dan nilai KHM >1000 µg/ml dianggap tidak memiliki senyawa antibakteri.

Escherichia coli termasuk dalam bakteri Gram negatif sedangkan *Staphylococcus aureus* termasuk dalam bakteri Gram positif. Salah satu perbedaan dari kedua bakteri ini yang dapat mempengaruhi nilai dari KHM yaitu susunan dinding selnya. Menurut Harti (2012), dinding sel bakteri Gram negatif lebih kompleks dibandingkan dengan bakteri Gram positif karena terdiri dari 2 lapisan. Komposisi dinding sel bakteri Gram positif yaitu peptidoglikan (40-50%), protein (10%), lipid (2%), dan asam teikoat; sedangkan komposisi dinding sel bakteri Gram negatif adalah peptidoglikan (5-20%), protein (60%), lipid (20%), dan lipopolisakarida.

4.5. Uji Bioautografi dan Penentuan Senyawa Aktif



Gambar 4.3. Hasil uji bioautografi fraksi metanol air

Keterangan : (—→) menunjukkan jarak yang ditempuh senyawa
(—→) menunjukkan jarak yang ditempuh pelarut

Gambar 4.3 menunjukkan hasil uji bioautografi dari fraksi metanol air dan penentuan senyawa antibakteri yang terkandung dalam daun kardia. Hasil uji bioautografi menunjukkan adanya zona hambat yang terbentuk pada kultur bakteri. Terbentuknya zona hambat ini menjadi bukti bahwa fraksi metanol air mengandung senyawa yang berpotensi sebagai antibakteri. Besarnya zona hambat ini kemudian akan diukur untuk diketahui nilai R_f dari senyawa aktif dari fraksi metanol air daun kardia. Golongan senyawa yang dikandung oleh daun kardia ini dapat diketahui dengan menyemprotkan plat KLT dengan H_2SO_4 2% kemudian

dipanaskan. Senyawa yang ditemukan berwarna coklat kekuningan yang menunjukkan senyawa tersebut termasuk golongan tanin dengan R_f 0,125.

Penyemprotan plat KLT menggunakan H_2SO_4 2% dilakukan untuk mempertahankan warna senyawa yang terbentuk pada plat KLT dikarenakan warna bercak mudah hilang. Penyemprotan dan dilanjutkan dengan pemanasan plat ini dapat memutuskan ikatan dari senyawa yang terdapat pada KLT sehingga tidak terjadi perubahan warna lagi. Bercak yang didapatkan berwarna coklat kekuningan. Menurut Harmita (2015), cara umum pengamatan atau deteksi bercak dapat dilakukan dengan penyemprotan menggunakan asam sulfat pekat kemudian dilanjutkan dengan pemanasan. Pemanasan akan membuat bercak menjadi hitam (destruktif).

Senyawa tanin yang didapatkan dari fraksi metanol air daun kardia merupakan senyawa yang bersifat polar yang umumnya memiliki sifat sebagai antioksidan. Selain itu, senyawa tanin pada tumbuhan digunakan oleh tumbuhan sebagai pertahanan diri dari hewan herbivora karena memiliki rasa yang sepat. Menurut Singh (2011), terdapat senyawa tanin terhidrolisis yang tidak biasa dan terdapat pada tumbuhan dari famili Melastomataceae, yaitu Nobotanin B yang dikembangkan sebagai anti-HIV, Proisianidin B-2 dan Kastalagin yang digunakan sebagai penurun tekanan darah pada penderita hipertensi.

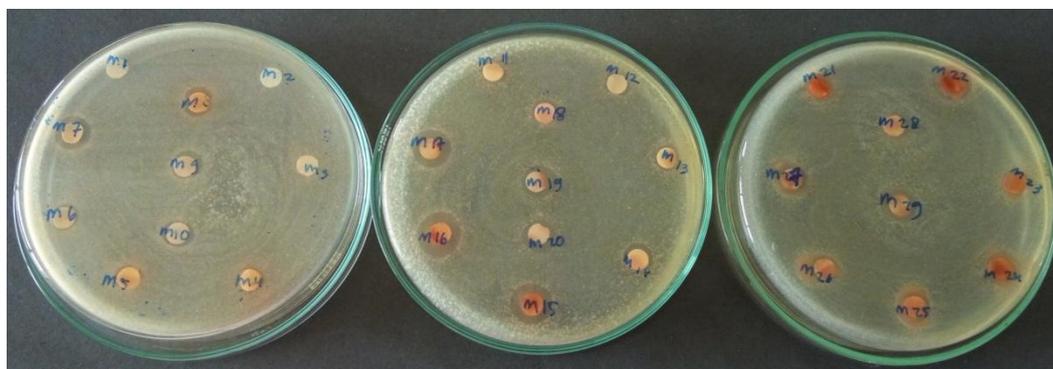
4.6. Isolasi dan Uji Aktivitas Senyawa Aktif

Isolasi senyawa aktif dari fraksi metanol air daun kardia dilakukan dengan kromatografi kolom gravitasi yang menggunakan *silica gel* sebagai adsorben. Eluen yang digunakan adalah etil asetat:metanol (9:1) bertahap hingga perbandingan (0:10). Fraksi metanol air kemudian dimasukkan di atas *silica gel* pada kolom. Eluen diteteskan dengan laju elusi 30-40 tetes per menit. Eluat ditampung dengan botol vial masing-masing dalam botol 15 ml dan diperoleh 29 botol. Uji aktivitas dilakukan untuk mengetahui dimana senyawa aktif berada. Hasil uji aktivitas dari eluat fraksi metanol air dapat dilihat pada Tabel 4.4.

Tabel 4.4. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Eluat Hasil Kromatografi Kolom Terhadap *Escherichia coli*

No. Botol	\bar{x} Diameter Zona Hambat (mm)
1-14	-
15	11
16	13
17	10,85
18	6,65
19	9,8
20	9,275
21-29	-

Keterangan: *Paper disc* yang digunakan berdiameter 6 mm



Gambar 4.4 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Eluat Hasil Kromatografi Kolom terhadap *Escherichia coli*

Berdasarkan Tabel 4.4., eluat pada botol dengan nomor 15, 16, 17, 18, 19, dan 20 masing-masing menunjukkan adanya zona hambat. Dikarenakan keenam botol tersebut memiliki warna yang sama, maka dapat digabungkan dan diuji aktivitas antibakterinya. Hasil penggabungan keempat botol disebut sebagai isolat M₁₅. Isolat M₁₅ sebanyak 0,02 gram dilarutkan dengan pelarut metanol. Kromatografi dilakukan kembali dengan menggunakan Isolat M₁₅ yaitu ditetaskan pada kromatografi lapis tipis dan disemprot dengan H₂SO₄, hasilnya kembali menunjukkan warna coklat kekuningan sehingga dapat diindikasikan golongan senyawa tanin.

Hasil dari pengujian aktivitas antibakteri eluat pada botol dengan nomor 15, 16, 17 memiliki diameter zona hambat lebih dari 10 mm namun lebih kecil 20 mm sehingga dapat dikategorikan sebagai antibakteri dengan kriteria sedang, sedangkan eluat pada botol nomor 18, 19, dan 20 memiliki diameter zona hambat

kurang dari 10 mm namun lebih dari 5 mm dan dapat dikategorikan sebagai antibakteri dengan kriteria lemah. Hal ini sesuai dengan pernyataan Nazri *et al.* (2011), bahwa kriteria kekuatan antibakteri berdasarkan diameter zona hambat yaitu tidak ada (0 mm), lemah (0-9 mm), sedang (10-14 mm), kuat (15-20 mm).

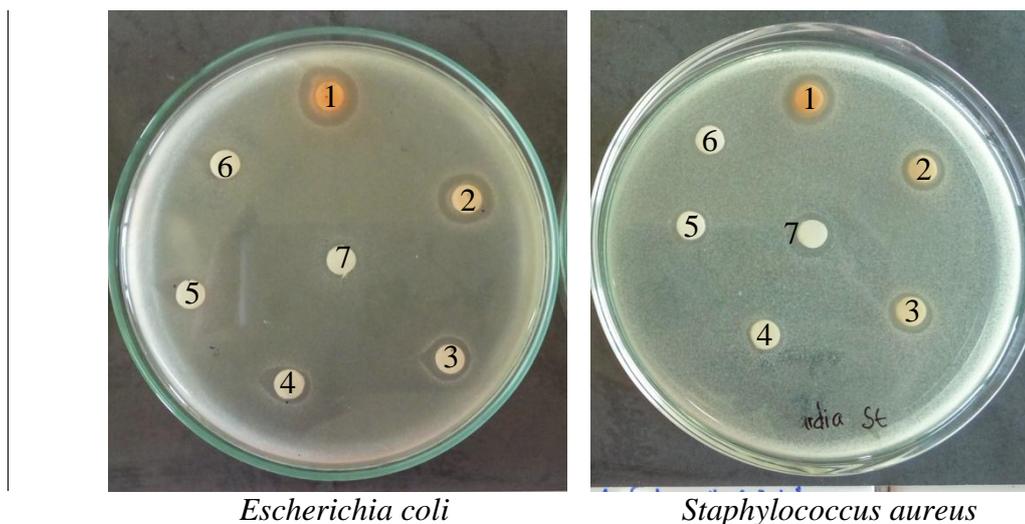
4.7. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Senyawa Aktif

Penentuan konsentrasi hambat minimum (KHM) dari isolat M₁₅ dilakukan dengan metode difusi agar. Tabel 4.5. menunjukkan hasil uji aktivitas antibakteri senyawa aktif dari isolat M₁₅ terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

Tabel 4.5. Hasil Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum dari Senyawa Aktif Terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

No.	Konsentrasi Isolat M ₁₅ (µg/ml)	\bar{x} Diameter Zona Hambat \pm sd (mm)	
		<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
1.	2000	10,93 \pm 1,39	9,85 \pm 1,13
2.	1000	9,46 \pm 1,94	8,25 \pm 1,05
3.	500	8,34 \pm 1,82	7,55 \pm 1,32
4.	250	7,51 \pm 1,05	7,33 \pm 1,63
5.	125	6,88 \pm 1,53	6,68 \pm 1,64
6.	62,5	6,40 \pm 1,72	6,12 \pm 1,98
7.	31,25	-	-

Keterangan: *Paper disc* yang digunakan berdiameter 6 mm



Gambar 4.5 Perbedaan zona hambat yang terbentuk dari konsentrasi senyawa aktif (isolat M₁₅) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*
 Keterangan : (1) 2000 µg/ml, (2) 1000 µg/ml, (3) 500 µg/ml, (4) 250 µg/ml, (5) 125 µg/ml, (6) 62,5 µg/ml, (7) 31,25 µg/ml

Tabel 4.5, menunjukkan isolat M₁₅ dari daun kardia memiliki aktivitas terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan nilai konsentrasi hambat minimum yang sama, yakni terdapat pada konsentrasi 62,5 µg/ml, sedangkan konsentrasi 31,25 µg/ml tidak menunjukkan zona bening. Diameter zona hambat yang terbentuk pada *Escherichia coli* lebih besar dibandingkan dengan diameter zona hambat pada konsentrasi yang sama pada *Staphylococcus aureus*. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa antibakteri yang terdapat pada daun kardia lebih efektif terhadap bakteri Gram negatif dibandingkan dengan bakteri Gram positif.

Senyawa antibakteri yang didapatkan dari daun kardia berasal dari fraksi metanol air yang bersifat polar. Senyawa yang bersifat nonpolar umumnya lebih efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif, sebaliknya senyawa yang bersifat polar cenderung lebih efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri Gram negatif. Hal ini dikarenakan perbedaan penyusun dari dinding sel antara bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif. Menurut Brenen dan Davidson (2005), aktivitas antimikroba yang lebih hidrofobik (nonpolar) memiliki efektivitas yang terbatas untuk menghambat pertumbuhan

bakteri Gram negatif dikarenakan membran terluar bakteri Gram negatif terdiri dari lipopolisakarida.

Dinding sel bakteri merupakan bagian terluar dari bakteri sehingga umumnya suatu senyawa antibiotik menyerang bagian dinding selnya terlebih dahulu. Mekanisme kerja senyawa antibiotik yang menyerang dinding sel bakteri yaitu dengan menghambat sintesa dinding sel. Menurut Harti (2012), penghambatan sintesa dinding sel oleh antibiotik dapat terjadi yaitu dengan hambatan aktivitas enzim transpeptidase (inhibisi kompetitif), atau dengan adanya kesamaan bentuk (rumus bangun dengan D-alanin yang mengakibatkan sel kehilangan D-alanin dalam pentapeptida dari peptida), atau dengan hambatan tahap awal sintesa peptidoglikan sehingga dinding sel lemah dan lisis.

Senyawa aktif yang didapat dari kardia berasal dari fraksi metanol air dan termasuk dalam senyawa tanin berdasarkan uji KLT. Beberapa penelitian menunjukkan senyawa aktif dari tumbuhan famili Melastomataceae tidak hanya berupa senyawa tanin. Berdasarkan beberapa penelitian seperti Suryaningsih *et al.* (2010), senyawa aktif *Melastoma candidum* D. Don. terhadap *Bacillus licheniformis* adalah senyawa flavonoid dengan konsentrasi 0,2 g/ml dan diameter zona hambat 15,40 mm. Menurut Alnaja *et al.* (2012), senyawa flavonoid dari tumbuhan *Melastoma malabathricum* memiliki aktivitas yang tinggi dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus* dan *S. agalactiae* dengan diameter hambat masing-masing $11 \pm 0,3$ mm dan $12 \pm 0,6$ mm.

Senyawa tanin dikenal sebagai senyawa yang dapat mengendapkan protein dan terdapat hubungan dalam mekanisme penghambatan pertumbuhan bakteri. Menurut Scalbert (1991), aktivitas tanin terhadap bakteri terjadi dengan merusak dinding sel bakteri sehingga dapat menembus membran sel bakteri. Target tanin adalah polipeptida pada dinding sel sehingga dapat menghambat sintesis dinding sel dan sintesis protein. Aktivitas tanin sebagai antimikroba terjadi melalui mekanisme yaitu menghambat enzim antimikroba dan menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara menginvasi enzim-enzim esensial atau materi genetik. Selanjutnya, senyawa tanin dapat membentuk kompleks dengan protein melalui interaksi hidrofobik sehingga terjadi denaturasi dan metabolisme sel terganggu.