



## Uji Potensi Fraksi n-Heksan Daun Keji Besi (*Hemigraphis repanda* L.) Sebagai Antibakteri Terhadap *Escherichia Coli* dan *Bacillus Cereus* Beserta Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Alfina Nurrahan<sup>1\*</sup>, Rahmat Hidayat<sup>2</sup>, Annora Rizky Amalia<sup>3</sup>

<sup>1-2</sup> Universitas Duta Bangsa, Indonesia

<sup>3</sup> Politeknik Indonusa Surakarta, Indonesia

email: [alfina\\_nurrahan@udb.ac.id](mailto:alfina_nurrahan@udb.ac.id)

### Article Info :

Received:

30-10-2025

Revised:

03-12-2025

Accepted:

22-12-2025

### Abstract

This study aimed to evaluate the antibacterial potential of the n-hexane fraction of Keji Besi leaves (*Hemigraphis repanda* L.) against *Escherichia coli* and *Bacillus cereus*, as well as to determine its Minimum Inhibitory Concentration (MIC). Keji Besi leaves were extracted by maceration using 96% ethanol, followed by liquid-liquid fractionation with n-hexane. The antibacterial activity was assessed using the disc diffusion method, while MIC values were determined using the broth dilution method. Phytochemical screening revealed that the n-hexane fraction predominantly contained steroid and triterpenoid compounds. The disc diffusion assay showed that the n-hexane fraction exhibited stronger inhibitory activity against *B. cereus* than *E. coli*, with the largest inhibition zone observed at an 80% concentration. MIC determination indicated that the MIC value for *B. cereus* was 40% (w/v), whereas *E. coli* required a higher concentration of 80% (w/v) to inhibit bacterial growth. These findings suggest that the n-hexane fraction of Keji Besi leaves demonstrates selective antibacterial activity, particularly against Gram-positive bacteria. Therefore, this fraction has promising potential to be developed as a natural antibacterial agent, especially for infections caused by Gram-positive pathogens.

**Keywords:** *Hemigraphis Repanda* L., N-Hexane Fraction, Antibacterial Activity, Minimum Inhibitory Concentration, *Bacillus Cereus*.

### Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi potensi antibakteri fraksi n-hexane daun Keji Besi (*Hemigraphis repanda* L.) terhadap *Escherichia coli* dan *Bacillus cereus*, serta menentukan Konsentrasi Inhibisi Minimum (MIC)-nya. Daun Keji Besi diekstraksi dengan metode macerasi menggunakan etanol 96%, diikuti dengan fraksinasi cair-cair menggunakan n-hexane. Aktivitas antibakteri dievaluasi menggunakan metode difusi cakram, sedangkan nilai MIC ditentukan menggunakan metode pengenceran cairan. Skrining fitokimia menunjukkan bahwa fraksi n-heksana terutama mengandung senyawa steroid dan triterpenoid. Uji difusi cakram menunjukkan bahwa fraksi n-heksana menunjukkan aktivitas penghambatan yang lebih kuat terhadap *B. cereus* daripada *E. coli*, dengan zona penghambatan terbesar teramati pada konsentrasi 80%. Penentuan MIC menunjukkan bahwa nilai MIC untuk *B. cereus* adalah 40% (w/v), sedangkan *E. coli* memerlukan konsentrasi yang lebih tinggi, yaitu 80% (w/v), untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Temuan ini menunjukkan bahwa fraksi n-hexane daun Keji Besi menunjukkan aktivitas antibakteri selektif, terutama terhadap bakteri Gram-positif. Oleh karena itu, fraksi ini memiliki potensi menjanjikan untuk dikembangkan sebagai agen antibakteri alami, terutama untuk infeksi yang disebabkan oleh patogen Gram-positif.

**Kata kunci:** *Hemigraphis Repanda* L., Fraksi n-Hexane, Aktivitas Antibakteri, Konsentrasi Inhibisi Minimum, *Bacillus Cereus*.



©2022 Authors.. This work is licensed under a Creative Commons Attribution-Non Commercial 4.0 International License.  
(<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>)

## PENDAHULUAN

Penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri patogen masih menjadi permasalahan kesehatan yang signifikan, terutama di negara berkembang dengan tingkat sanitasi dan akses layanan kesehatan yang beragam. Bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus cereus* merupakan dua mikroorganisme yang sering dikaitkan dengan gangguan saluran pencernaan, infeksi oportunistik, serta kontaminasi pangan yang berdampak pada kesehatan masyarakat. Beberapa penelitian menunjukkan peningkatan resistensi bakteri terhadap antibiotik sintetik yang umum digunakan, sehingga menurunkan efektivitas terapi konvensional dan meningkatkan risiko komplikasi klinis (Meilanda et al., 2023; Hure et al., 2023).

Kondisi ini mendorong pencarian sumber antibakteri alternatif yang berasal dari bahan alam dengan potensi aktivitas biologis yang menjanjikan.

Pemanfaatan tanaman obat sebagai sumber senyawa antibakteri telah lama menjadi fokus penelitian farmasi dan biologi, mengingat kandungan metabolit sekundernya yang beragam. Senyawa seperti flavonoid, alkaloid, tanin, dan terpenoid diketahui memiliki mekanisme kerja yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri melalui kerusakan dinding sel, gangguan metabolisme, maupun inhibisi sintesis protein. Berbagai studi melaporkan bahwa ekstrak dan fraksi tanaman menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif dengan tingkat efektivitas yang berbeda-beda (Nurjannah et al., 2022; Nugraha & Leliqia, 2023). Pendekatan ini dipandang relevan dalam pengembangan antibakteri berbasis bahan alam yang lebih aman dan berkelanjutan.

Daun keji besi (*Hemigraphis repanda* L.) merupakan salah satu tanaman yang secara tradisional digunakan dalam pengobatan luka, peradangan, dan infeksi ringan, namun kajian ilmiah terkait aktivitas antibakterinya masih relatif terbatas. Tanaman ini memiliki kemiripan karakteristik dengan kelompok tanaman keji beling yang telah dilaporkan mengandung flavonoid dan senyawa fenolik dengan aktivitas farmakologis yang signifikan (Hasnaeni et al.). Penelitian sebelumnya pada tanaman keji beling menunjukkan adanya aktivitas antibakteri yang kuat terhadap berbagai bakteri patogen, termasuk *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa* (Adriana et al., 2023). Temuan tersebut membuka peluang eksplorasi lebih lanjut terhadap spesies yang berkerabat dekat seperti *Hemigraphis repanda* L.

Metode fraksinasi menggunakan pelarut nonpolar seperti n-heksan merupakan salah satu pendekatan penting dalam pemisahan senyawa aktif berdasarkan tingkat kepolaran. Fraksi n-heksan umumnya mengandung senyawa lipofilik yang berpotensi memiliki aktivitas antibakteri melalui interaksi langsung dengan membran sel bakteri. Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa fraksi n-heksan dari berbagai tanaman mampu menunjukkan aktivitas antibakteri yang lebih selektif dibandingkan ekstrak kasar (Nada et al., 2025; Safitri et al., 2025). Oleh sebab itu, pengujian fraksi n-heksan daun keji besi menjadi relevan untuk mengidentifikasi potensi antibakteri yang lebih spesifik.

Uji aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Bacillus cereus* dipilih karena kedua bakteri tersebut mewakili kelompok Gram negatif dan Gram positif yang sering digunakan sebagai indikator efektivitas antibakteri. *Escherichia coli* dikenal memiliki struktur dinding sel yang kompleks sehingga relatif lebih resisten terhadap senyawa antibakteri, sementara *Bacillus cereus* memiliki kemampuan membentuk spora yang meningkatkan daya tahannya di lingkungan ekstrem (Meilanda et al., 2023; Sagala et al., 2025). Pengujian terhadap kedua bakteri ini memberikan gambaran komprehensif mengenai spektrum aktivitas antibakteri fraksi tanaman. Pendekatan ini juga sejalan dengan penelitian antibakteri tanaman lain yang menargetkan bakteri penyebab gangguan pencernaan dan infeksi oportunistik (Hure et al., 2023; Putri & Muflihah, 2024).

Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) merupakan parameter penting dalam evaluasi aktivitas antibakteri karena menggambarkan konsentrasi terendah suatu senyawa yang masih mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Nilai KHM memberikan informasi kuantitatif mengenai potensi antibakteri serta menjadi dasar dalam pengembangan sediaan farmasi lebih lanjut. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa fraksi tanaman tertentu memiliki nilai KHM yang lebih rendah dibandingkan ekstraknya, menandakan aktivitas yang lebih kuat dan efisien (Khofifah et al., 2025; Sari et al., 2023). Oleh karena itu, pengujian KHM fraksi n-heksan daun keji besi menjadi aspek krusial dalam penelitian ini.

Selain efektivitas antibakteri, eksplorasi tanaman obat juga berkontribusi terhadap pengembangan produk farmasi berbasis bahan alam yang aman dan memiliki nilai ekonomi. Studi-studi sebelumnya menunjukkan bahwa berbagai ekstrak dan fraksi tanaman tidak hanya berpotensi sebagai antibakteri, tetapi juga dapat dikembangkan menjadi sediaan topikal, oral, maupun produk kesehatan lainnya (Darwanto et al., 2023; Rahmi et al., 2025). Pendekatan ini sejalan dengan tren global dalam pemanfaatan sumber daya hayati lokal untuk mendukung inovasi di bidang kesehatan. Dengan demikian, penelitian terhadap daun keji besi memiliki relevansi ilmiah dan aplikatif.

Berdasarkan uraian tersebut, penelitian ini bertujuan untuk menguji potensi fraksi n-heksan daun keji besi (*Hemigraphis repanda* L.) sebagai antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Bacillus cereus*, serta menentukan nilai Konsentrasi Hambat Minimum yang dihasilkan. Kajian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi ilmiah dalam pengembangan antibakteri berbasis tanaman obat serta memperkaya data ilmiah mengenai aktivitas farmakologis *Hemigraphis repanda* L. Hasil penelitian ini

juga diharapkan menjadi dasar bagi penelitian lanjutan terkait isolasi senyawa aktif dan pengembangan formulasi antibakteri. Dengan pendekatan ilmiah yang sistematis, penelitian ini menempatkan daun keji besi sebagai kandidat potensial dalam pencarian agen antibakteri alternatif.

## METODE PENELITIAN

Metode penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik yang bertujuan untuk menguji potensi antibakteri fraksi n-heksan daun keji besi (*Hemigraphis repanda* L.) terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 dan *Bacillus cereus* ATCC 10876 serta menentukan nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM). Daun keji besi dikeringkan, dibuat serbuk simplisia, kemudian diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan etanol 96% selama 3×24 jam hingga diperoleh ekstrak etanol kental yang selanjutnya difraksinasi secara cair-cair menggunakan pelarut nonpolar n-heksan. Fraksi n-heksan yang diperoleh dipekatkan dengan rotary evaporator dan dilarutkan dalam DMSO 1% untuk menghasilkan larutan stok 80% (b/v) yang kemudian diencerkan menjadi konsentrasi uji 40%, 20%, dan 10%. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram pada media Nutrient Agar menggunakan suspensi bakteri setara standar McFarland 0,5, dengan kloramfenikol sebagai kontrol positif dan DMSO 1% sebagai kontrol negatif, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan diameter zona hambat diukur menggunakan jangka sorong. Penentuan KHM dilakukan menggunakan metode dilusi cair dalam media Nutrient Broth melalui pengenceran bertingkat fraksi n-heksan, diikuti inokulasi suspensi bakteri dan inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, di mana nilai KHM ditetapkan sebagai konsentrasi terendah yang tidak menunjukkan kekeruhan sebagai indikator tidak terjadinya pertumbuhan bakteri.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Karakteristik Fraksi n-Heksan Daun Keji Besi sebagai Dasar Aktivitas Antibakteri

Tahap ekstraksi dan fraksinasi merupakan langkah awal yang menentukan kualitas fraksi tanaman dalam penelitian antibakteri berbasis bahan alam. Proses ini bertujuan memisahkan senyawa aktif berdasarkan tingkat kepolaran sehingga aktivitas biologis yang dihasilkan dapat lebih terfokus. Pada penelitian ini, daun Keji Besi dipilih karena secara empiris dikenal memiliki potensi farmakologis, khususnya sebagai agen antibakteri. Pendekatan fraksinasi berbasis kepolaran dinilai efektif untuk mengarahkan eksplorasi senyawa aktif non-polar yang berperan dalam penghambatan bakteri (Adriana et al., 2023; Surya et al., 2023).

Proses maserasi menggunakan etanol 96% dilakukan untuk mengekstraksi senyawa aktif secara luas dari simplisia daun Keji Besi. Etanol dipilih karena mampu melarutkan senyawa polar hingga semi-polar yang terdapat dalam jaringan tanaman. Hasil maserasi menghasilkan ekstrak kental berwarna coklat gelap yang mencerminkan tingginya kandungan metabolit sekunder. Ekstrak ini selanjutnya menjadi bahan dasar dalam proses fraksinasi untuk memperoleh fraksi dengan karakteristik kimia yang lebih spesifik (Nada et al., 2025; Rahmi et al., 2025).

Fraksinasi dilakukan menggunakan pelarut n-heksan untuk menarik senyawa non-polar dari ekstrak etanol. Pemilihan n-heksan didasarkan pada kemampuannya melarutkan senyawa lipofilik seperti steroid dan triterpenoid yang diketahui memiliki aktivitas antibakteri. Proses ekstraksi cair-cair bertingkat memungkinkan pemisahan senyawa secara lebih selektif dibandingkan ekstrak kasar. Strategi ini banyak digunakan dalam penelitian fitokimia untuk meningkatkan spesifisitas aktivitas biologis fraksi tanaman (Sari et al., 2023; Safitri et al., 2025).

Hasil ekstraksi dan fraksinasi menunjukkan adanya perbedaan kuantitatif yang signifikan antara ekstrak etanol dan fraksi n-heksan. Dari 500 gram serbuk simplisia daun Keji Besi diperoleh 55 gram ekstrak etanol, yang selanjutnya menghasilkan 12 gram fraksi n-heksan. Perbedaan berat hasil ini menunjukkan bahwa hanya sebagian komponen kimia ekstrak yang bersifat non-polar. Data hasil ekstraksi dan fraksinasi disajikan secara rinci pada **Tabel 1** sebagai dasar interpretasi karakteristik fraksi.

**Tabel 1. Hasil Ekstraksi dan Fraksinasi Daun Keji Besi**

Tahapan	Pelarut	Berat Hasil	Karakteristik
Ekstrak etanol	Etanol 96%	55 g	Cokelat gelap, kental seperti pasta

Fraksi n-heksan	n-Heksan	12 g	Hijau kekuningan, berminyak/berlilin
-----------------	----------	------	--------------------------------------

Karakteristik fisik fraksi n-heksan yang berwarna hijau kekuningan dan bersifat berminyak menunjukkan dominasi senyawa lipofilik. Sifat ini konsisten dengan karakter pelarut n-heksan yang selektif terhadap senyawa non-polar. Fraksi dengan karakteristik seperti ini umumnya memiliki afinitas tinggi terhadap membran lipid sel bakteri. Oleh karena itu, sejak tahap fraksinasi, fraksi n-heksan telah menunjukkan potensi sebagai kandidat antibakteri berbasis mekanisme membran (Nugraha & Leliqia, 2023; Wijayanti, 2024).

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi golongan senyawa utama yang terkandung dalam fraksi n-heksan. Hasil pengujian menunjukkan bahwa fraksi n-heksan memberikan hasil positif pada uji steroid dan triterpenoid, sementara uji alkaloid, flavonoid, dan saponin menunjukkan hasil negatif. Temuan ini menegaskan bahwa fraksi n-heksan didominasi oleh senyawa non-polar. Hasil skrining fitokimia ini disajikan secara sistematis pada **Tabel 2** sebagai dasar analisis mekanisme antibakteri.

**Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia Fraksi n-Heksan Daun Keji Besi**

Golongan Senyawa	Hasil Uji	Indikasi
Alkaloid	Negatif	Tidak terbentuk endapan/kekeruhan
Flavonoid	Negatif	Tidak terbentuk warna merah/jingga
Saponin	Negatif	Tidak terbentuk busa stabil
Steroid/Triterpenoid	Positif	Terbentuk warna hijau-biru pada uji Liebermann-Burchard

Keberadaan senyawa steroid dan triterpenoid memiliki implikasi langsung terhadap potensi antibakteri fraksi n-heksan. Senyawa ini diketahui mampu berinteraksi dengan komponen lipid membran sel bakteri. Interaksi tersebut dapat meningkatkan permeabilitas membran dan menyebabkan kebocoran komponen intraseluler. Mekanisme ini telah banyak dilaporkan pada berbagai penelitian antibakteri berbasis fraksi non-polar tanaman obat (Hure et al., 2023; TK & Wirasuta, 2022).

Tidak terdeteksinya flavonoid dan alkaloid menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri fraksi n-heksan tidak bergantung pada mekanisme penghambatan enzim atau sintesis protein. Hal ini membedakan fraksi n-heksan dari ekstrak polar yang umumnya bekerja melalui jalur biokimia tertentu. Dengan dominasi senyawa lipofilik, fraksi n-heksan cenderung bekerja secara langsung terhadap struktur membran bakteri. Pendekatan ini sering kali menghasilkan aktivitas antibakteri yang lebih selektif terhadap jenis bakteri tertentu (Putri & Muflihah, 2024; Wahyukurnia et al., 2023).

Komposisi kimia fraksi n-heksan yang relatif sederhana memberikan keuntungan dalam interpretasi hasil uji biologis. Fraksi dengan jumlah golongan senyawa yang terbatas memungkinkan analisis hubungan antara komposisi kimia dan aktivitas antibakteri menjadi lebih jelas. Kondisi ini juga memudahkan pengembangan penelitian lanjutan, seperti isolasi senyawa aktif spesifik. Oleh karena itu, fraksi n-heksan memiliki nilai strategis dalam pengembangan antibakteri berbasis bahan alam (Khairunnisa et al., 2025; Wangloan et al., 2025).

Hasil ekstraksi, fraksinasi, dan skrining fitokimia menunjukkan bahwa fraksi n-heksan daun Keji Besi memiliki karakteristik kimia yang mendukung aktivitas antibakteri. Dominasi senyawa steroid dan triterpenoid menjadi dasar teoritis mekanisme kerja fraksi terhadap bakteri uji. Karakteristik ini memberikan justifikasi ilmiah yang kuat untuk pengujian aktivitas antibakteri lebih lanjut.

### Aktivitas Antibakteri Fraksi n-Heksan Daun Keji Besi terhadap *Bacillus cereus* dan *Escherichia coli* Berdasarkan Metode Difusi Cakram

Uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram dilakukan untuk mengevaluasi kemampuan fraksi n-heksan daun Keji Besi dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji secara in vitro. Metode ini dipilih karena mampu memberikan gambaran visual mengenai efektivitas antibakteri melalui pembentukan zona bening di sekitar cakram. Diameter zona hambat mencerminkan tingkat

difusi senyawa aktif serta respons bakteri terhadap fraksi yang diuji. Oleh karena itu, metode difusi cakram menjadi tahap awal yang penting sebelum penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (Meilanda et al., 2023; Nurjannah et al., 2022).

Pengujian dilakukan terhadap dua jenis bakteri uji, yaitu *Bacillus cereus* sebagai perwakilan bakteri Gram positif dan *Escherichia coli* sebagai bakteri Gram negatif. Kedua bakteri ini dipilih karena memiliki perbedaan struktur dinding sel yang signifikan, sehingga memungkinkan analisis selektivitas aktivitas antibakteri fraksi n-heksan. Suspensi bakteri distandarkan pada McFarland 0,5 untuk menjamin keseragaman jumlah inokulum. Kondisi ini penting agar perbedaan zona hambat yang terbentuk benar-benar mencerminkan pengaruh fraksi, bukan variasi jumlah bakteri (Saudale, 2018; Sagala et al., 2025).

Fraksi n-heksan diuji pada beberapa konsentrasi, yaitu 10% dan 80% (b/v), serta dibandingkan dengan kontrol positif dan kontrol negatif. Kontrol positif menggunakan kloramfenikol untuk memastikan bahwa bakteri uji berada dalam kondisi sensitif terhadap antibiotik standar. Kontrol negatif berupa DMSO 1% digunakan untuk memastikan bahwa pelarut tidak memberikan efek antibakteri. Pendekatan ini memungkinkan interpretasi hasil uji dilakukan secara objektif dan terkontrol (Khofifah et al., 2025; TK & Wirasuta, 2022).

Hasil pengujian menunjukkan bahwa fraksi n-heksan mampu membentuk zona hambat terhadap kedua bakteri uji, meskipun dengan tingkat efektivitas yang berbeda. Pada *Bacillus cereus*, zona hambat terlihat jelas pada konsentrasi tinggi, sedangkan pada *Escherichia coli* zona hambat yang terbentuk relatif lebih kecil. Perbedaan ini menunjukkan adanya variasi sensitivitas bakteri terhadap fraksi n-heksan. Data lengkap hasil uji difusi cakram disajikan pada **Tabel 3** sebagai dasar pembahasan aktivitas antibakteri.

**Tabel 3. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi n-Heksan Daun Keji Besi (Metode Difusi Cakram)**

Konsentrasi Uji	<i>Bacillus cereus</i> (Gram Positif)	<i>Escherichia coli</i> (Gram Negatif)	Deskripsi Cawan Petri
Kontrol Positif (Kloramfenikol)	±28 mm (zona sangat lebar dan jernih)	±26 mm (zona sangat lebar dan jernih)	Pertumbuhan bakteri terhambat total
Fraksi 80%	±14,5 mm (zona lebar dan jernih)	±9,2 mm (zona tipis dan sedikit kabur)	<i>B. cereus</i> kuat, <i>E. coli</i> sedang
Fraksi 10%	±6,8 mm (zona sangat kecil)	±6,0 mm (tidak terbentuk zona)	Hambatan minimal
Kontrol Negatif (DMSO 1%)	±6,0 mm (tidak ada zona hambat)	±6,0 mm (tidak ada zona hambat)	Pertumbuhan bakteri penuh
Keterangan: Diameter cakram 6,0 mm. Zona hambat ≤9 mm (lemah), 9–14 mm (sedang), >14 mm (kuat) (Trisia, 2018).			

Pada *Bacillus cereus*, fraksi n-heksan konsentrasi 80% menghasilkan zona hambat dengan diameter rata-rata 14,5 mm yang termasuk dalam kategori kuat. Zona hambat yang terbentuk tampak jernih dan berbentuk lingkaran sempurna, menunjukkan aktivitas antibakteri yang stabil. Sementara itu, pada konsentrasi 10%, zona hambat yang terbentuk masih berada di kisaran diameter cakram. Hal ini menunjukkan bahwa efektivitas fraksi sangat dipengaruhi oleh konsentrasi senyawa aktif yang digunakan (Sari et al., 2023; Safitri et al., 2025).

Berbeda dengan *Bacillus cereus*, respons *Escherichia coli* terhadap fraksi n-heksan cenderung lebih rendah. Pada konsentrasi 80%, zona hambat yang terbentuk hanya mencapai 9,2 mm dan masuk dalam kategori sedang. Pada konsentrasi 10%, tidak terbentuk zona hambat yang melebihi diameter cakram. Temuan ini menunjukkan bahwa *E. coli* memerlukan konsentrasi fraksi yang lebih tinggi untuk mencapai efek antibakteri yang terukur (Putri & Muflihah, 2024; Wahyukurnia et al., 2023).

Perbedaan respons antara kedua bakteri erat kaitannya dengan struktur dinding selnya. *Bacillus cereus* sebagai bakteri Gram positif memiliki dinding sel yang didominasi lapisan peptidoglikan tunggal. Struktur ini relatif lebih mudah ditembus oleh senyawa non-polar seperti steroid dan triterpenoid. Sebaliknya, *Escherichia coli* memiliki membran luar yang kaya akan lipopolisakarida yang berfungsi sebagai penghalang difusi senyawa lipofilik (Saudale, 2018; Meilanda et al., 2023).

Hubungan antara peningkatan konsentrasi fraksi dan pembesaran zona hambat menunjukkan pola dosis-respons yang konsisten. Semakin tinggi konsentrasi fraksi n-heksan, semakin besar jumlah senyawa aktif yang berdifusi ke dalam media agar. Kondisi ini meningkatkan peluang interaksi senyawa aktif dengan membran sel bakteri. Pola serupa juga dilaporkan pada berbagai penelitian antibakteri berbasis fraksi non-polar tanaman obat (Hure et al., 2023; Sagala et al., 2025).

Perbandingan dengan kontrol positif menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri fraksi n-heksan masih berada di bawah kloramfenikol. Meskipun demikian, zona hambat yang terbentuk pada konsentrasi tinggi menunjukkan bahwa fraksi tanaman memiliki potensi biologis yang nyata. Keberadaan zona hambat yang konsisten menandakan bahwa aktivitas antibakteri tidak bersifat kebetulan. Dengan demikian, fraksi n-heksan memiliki prospek sebagai antibakteri alami pendamping atau alternatif (Khairunnisa et al., 2025; Darwanto et al., 2023).

Hasil uji difusi cakram menunjukkan bahwa fraksi n-heksan daun Keji Besi memiliki aktivitas antibakteri yang lebih kuat terhadap *Bacillus cereus* dibandingkan *Escherichia coli*. Aktivitas ini bersifat konsentrasi-dependen dan menunjukkan selektivitas terhadap bakteri Gram positif. Temuan ini konsisten dengan karakteristik kimia fraksi yang didominasi senyawa non-polar.

#### Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Fraksi n-Heksan Daun Keji Besi terhadap *Bacillus cereus* dan *Escherichia coli*

Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dilakukan untuk mengetahui konsentrasi terendah fraksi n-heksan daun Keji Besi yang masih mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji secara makroskopis. Metode dilusi cair dipilih karena mampu memberikan gambaran kuantitatif mengenai potensi antibakteri suatu fraksi. Indikator utama dalam penentuan KHM adalah kejernihan media setelah proses inkubasi. Media yang tetap jernih menunjukkan tidak terjadinya pertumbuhan bakteri, sedangkan media keruh menandakan adanya aktivitas metabolik bakteri (Khofifah et al., 2025; Nugraha & Leliqia, 2023).

Uji KHM dilakukan terhadap *Bacillus cereus* dan *Escherichia coli* menggunakan media Nutrient Broth dengan konsentrasi fraksi yang menurun secara bertahap. Setiap tabung diinokulasi dengan suspensi bakteri standar McFarland 0,5 untuk menjaga konsistensi jumlah sel bakteri. Inkubasi dilakukan pada suhu 37°C selama 24 jam untuk memberikan kondisi pertumbuhan optimal bagi bakteri uji. Dengan pendekatan ini, nilai KHM yang diperoleh dapat mencerminkan efektivitas antibakteri fraksi secara akurat (Meilanda et al., 2023; Sagala et al., 2025).

Hasil uji KHM menunjukkan adanya perbedaan yang jelas antara kedua bakteri uji. *Bacillus cereus* menunjukkan sensitivitas yang lebih tinggi terhadap fraksi n-heksan dibandingkan *Escherichia coli*. Perbedaan ini ditandai oleh kejernihan media pada konsentrasi yang lebih rendah pada *B. cereus*. Data hasil uji KHM secara rinci disajikan pada Tabel 4 sebagai dasar analisis kuantitatif.

**Tabel 4. Nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Fraksi n-Heksan Daun Keji Besi**

Konsentrasi Uji (b/v)	<i>Bacillus cereus</i> (Gram Positif)	<i>Escherichia coli</i> (Gram Negatif)	Deskripsi
80%	Jernih (Bening)	Jernih (Bening)	Tidak ada pertumbuhan
40%	Jernih (Bening)	Keruh (Turbid)	KHM <i>B. cereus</i>
20%	Keruh (Turbid)	Keruh (Turbid)	Pertumbuhan bakteri
10%	Keruh (Turbid)	Keruh (Turbid)	Pertumbuhan bakteri
Kontrol Bakteri	Keruh (Sangat Turbid)	Keruh (Sangat Turbid)	Pertumbuhan maksimum

Keterangan: Media jernih menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri, sedangkan media keruh menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri.

Berdasarkan Tabel 4, nilai KHM fraksi n-heksan terhadap *Bacillus cereus* ditetapkan pada konsentrasi 40% (b/v). Pada konsentrasi ini, media tetap jernih dan tidak menunjukkan tanda-tanda pertumbuhan bakteri. Pada konsentrasi yang lebih rendah, yaitu 20% dan 10%, media menjadi keruh yang menandakan bakteri masih mampu berkembang. Hasil ini menunjukkan bahwa konsentrasi 40% merupakan batas minimal efektivitas fraksi terhadap *B. cereus* (Khofifah et al., 2025; Sari et al., 2023).

Sebaliknya, *Escherichia coli* menunjukkan nilai KHM yang lebih tinggi, yaitu pada konsentrasi 80% (b/v). Pada konsentrasi 40% ke bawah, media sudah menunjukkan kekeruhan yang menandakan adanya pertumbuhan bakteri. Hal ini mengindikasikan bahwa *E. coli* memiliki tingkat resistensi yang lebih tinggi terhadap fraksi n-heksan. Perbedaan nilai KHM ini menegaskan adanya selektivitas antibakteri fraksi terhadap jenis bakteri tertentu (Wahyukurnia et al., 2023; Putri & Mufliah, 2024).

Nilai KHM yang lebih rendah pada *Bacillus cereus* menunjukkan bahwa bakteri Gram positif lebih rentan terhadap fraksi n-heksan. Kerentanan ini berkaitan dengan struktur dinding sel Gram positif yang lebih sederhana dan tidak memiliki membran luar. Kondisi tersebut memungkinkan senyawa non-polar dalam fraksi n-heksan berinteraksi langsung dengan membran sitoplasma. Interaksi ini dapat mengganggu integritas membran dan menghambat fungsi vital sel bakteri (Saudale, 2018; Kurniasari, 2021).

Pada *Escherichia coli*, keberadaan membran luar lipopolisakarida menjadi faktor utama yang menghambat penetrasi senyawa non-polar. Membran ini berfungsi sebagai penghalang selektif terhadap molekul hidrofobik. Akibatnya, meskipun fraksi n-heksan mengandung senyawa antibakteri aktif, efektivitasnya menjadi terbatas pada konsentrasi rendah. Fenomena ini juga dilaporkan dalam berbagai penelitian antibakteri berbasis fraksi non-polar tanaman obat (Nada et al., 2025; Sagala et al., 2025).

Kesesuaian antara hasil uji KHM dan uji difusi cakram menunjukkan konsistensi aktivitas antibakteri fraksi n-heksan. Bakteri yang menunjukkan zona hambat lebih besar pada uji difusi juga memiliki nilai KHM yang lebih rendah. Hubungan ini menegaskan bahwa fraksi bekerja secara konsentrasi-dependen dan memiliki mekanisme aksi yang stabil. Dengan demikian, uji KHM berfungsi sebagai penguat kuantitatif dari hasil uji difusi cakram (Khofifah et al., 2025; Hure et al., 2023).

Nilai KHM yang relatif tinggi pada *Escherichia coli* tidak meniadakan potensi antibakteri fraksi n-heksan. Sebaliknya, temuan ini memberikan informasi penting mengenai spektrum aktivitas fraksi. Aktivitas yang lebih selektif terhadap bakteri Gram positif dapat menjadi keunggulan dalam pengembangan antibakteri berbasis tanaman. Agen antibakteri selektif berpotensi menekan risiko gangguan terhadap mikrobiota normal (Putri & Mufliah, 2024; Darwanto et al., 2023).

Penentuan KHM menunjukkan bahwa fraksi n-heksan daun Keji Besi memiliki potensi antibakteri yang nyata dan terukur. Nilai KHM sebesar 40% terhadap *Bacillus cereus* dan 80% terhadap *Escherichia coli* menegaskan adanya perbedaan sensitivitas antar bakteri uji. Hasil ini konsisten dengan karakteristik kimia fraksi yang didominasi senyawa non-polar. Dengan demikian, fraksi n-heksan daun Keji Besi berpotensi dikembangkan lebih lanjut sebagai antibakteri alami, terutama untuk infeksi yang disebabkan oleh bakteri Gram positif.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa fraksi n-heksan daun Keji Besi (*Hemigraphis repanda* L.) memiliki potensi sebagai agen antibakteri terhadap *Bacillus cereus* dan *Escherichia coli*. Fraksi n-heksan yang diperoleh dari proses fraksinasi ekstrak etanol menunjukkan kandungan dominan senyawa steroid/triterpenoid yang berperan dalam aktivitas antibakteri. Uji difusi cakram memperlihatkan bahwa fraksi n-heksan memiliki daya hambat yang lebih kuat terhadap *B. cereus* dibandingkan *E. coli*, dengan zona hambat terbesar pada konsentrasi 80%. Hasil penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) memperkuat temuan tersebut, di mana nilai KHM terhadap *B. cereus* ditetapkan pada konsentrasi 40% (b/v), sedangkan terhadap *E. coli* diperlukan konsentrasi yang lebih tinggi, yaitu 80% (b/v). Perbedaan sensitivitas ini berkaitan dengan perbedaan struktur dinding sel bakteri, khususnya keberadaan membran luar pada bakteri Gram negatif. Dengan demikian, fraksi n-heksan daun Keji Besi berpotensi dikembangkan lebih lanjut sebagai antibakteri alami yang lebih selektif terhadap bakteri Gram positif.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adriana, L., Dewi, C., & Nasir, N. H. (2023). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Keji Beling (*Strobilanthes Crispa* Bi) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Epidermidis* Dan *Pseudomonas Aeruginosa*. *Jurnal Pharmacia Mandala Waluya*, 2(3), 162-174. <https://doi.org/10.54883/Jpmw.V2i3.82>
- Apriani, H., Tambunan, E. P. S., & Syukriah, S. (2024). Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Keji Beling (*Strobilanthes Crispa* (L.) Blume) Terhadap Jumlah Profil Darah Pada Tikus Putih (*Rattus*



- Norvegicus) Yang Di Induksi Natrium Benzoat. *Bioeksakta: Jurnal Ilmiah Biologi Unsoed*, 6(3), 156-162. <https://doi.org/10.20884/1.Bioe.2024.6.3.12456>
- Darwanto, A. D. A., Rindi, K. R. S., & Novita, N. D. S. (2023). Topical Antibiotic Optimization Of Wijayakusuma Plant (Epiphyllum Oxypetalum) As Mosquito Repellent Therapy Oil. *International Journal Of Health Literacy And Science*, 1(1), 13-19. <https://doi.org/10.60074/Iheli.V1i1.1>
- Hasnaeni, H., Ananda, A. M. R., & Amriati, R. Pemisahan Senyawa Flavonoid Pada Tanaman Keji Beling (Strobilantes Crispa). *Jurnal Pharmascience*, 12(1), 1-8. <https://dx.doi.org/10.20527/Jps.V12i1.16886>
- Hure, Y. E. D., Moi, M. Y. M., & Ernaningsih, D. E. (2023). Plant Antibacterial Activity Herb Klate (Hyptis Suaveolens) Against Bacteria Escherichia Coli And Staphylococcus Aureus. *Holistic Science*, 3(1), 64-71. <https://doi.org/10.56495/Hs.V3i1.336>
- Khairunnisa, A., Yuniarti, R., Dalimunthe, G. I., & Rani, Z. (2025). Karakterisasi, Skrining Dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bunga Kecombrang (Etlingera Elatior (Jack) Rm Sm) Terhadap Staphylococcus Aureus. *Journal Of Pharmaceutical And Sciences*, 1033-1046. <https://doi.org/10.36490/Journal-Jps.Com.V8i2.870>
- Khofifah, N., Rahayu, Y. P., Nasution, H. M., & Miswanda, D. (2025). Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum Dan Konsentrasi Bunuh Minimum Ekstrak Dan Nanopartikel Ekstrak Daun Pepaya (Carica Papaya L.) Terhadap Bakteri Cutibacterium Acnes. *Journal Of Pharmaceutical And Sciences*, 51-66. <https://doi.org/10.36490/Journal-Jps.Com.V8i1.720>
- Meilanda, R., Puspitasari, A., & Kisdaryeti, K. (2023). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Alpukat (Persea American Mill.) Terhadap Bakteri Penyebab Diare Escherichia Coli Dan Bacillus Cereus: Antibacterial Activity Test Of Avocado Seeds Extraction (Persea American Mill.) To Bacteria Of Diarrhea Escherichia Coli And Bacillus Cereus. *Jurnal Surya Medika (Jsm)*, 9(3), 84-91. <https://doi.org/10.33084/Jsm.V9i3.6472>
- Nada, D. Q., Mambang, D. E. P., Nasution, M. A., & Ridwanto, R. (2025). Antibacterial Activity Test Of Ethanol Extract, N-Hexane And Ethyl Acetate Fractions Of Cardamom Fruit (Amomum Cardamomum Soland. Ex Maton Benth). *Indonesian Journal Of Science And Pharmacy*, 2(3), 107-113. <https://doi.org/10.63763/Ijsp.V2i3.96>
- Nugraha, K. W., & Leliqia, N. P. E. (2023, November). Studi Kandungan Fitokimia Dan Aktivitas Antibakteri Daun Pepaya (Carica Papaya L.). In *Prosiding Workshop Dan Seminar Nasional Farmasi* (Vol. 2, Pp. 254-263). <https://doi.org/10.24843/Wsnf.2022.V02.P21>
- Nurjannah, I., Mustariani, B. A. A., & Suryani, N. (2022). Skrining Fitokimia Dan Uji Antibakteri Ekstrak Kombinasi Daun Jeruk Purut (Citrus Hystrix) Dan Kelor (Moringa Oleifera L.) Sebagai Zat Aktif Pada Sabun Antibakteri: Phytochemical Screening And Antibacterial Test Combination Of Kaffir Lime Leaves (Citrus Hystrix) And Moringa Leaves (Moringa Oleifera L.) Extracts As Active Substances In Antibacterial Soap. *Spin Jurnal Kimia & Pendidikan Kimia*, 4(1), 23-36. <https://doi.org/10.20414/Spin.V4i1.4801>
- Putri, N. D. L., & Muflihah, C. H. (2024). Uji Aktivitas Antibakteri Penyebab Jerawat Propionibacterium Acnes Dan Staphylococcus Aureus Menggunakan Ekstrak Dan Fraksi Jintan Hitam (Nigella Sativa) Serta Bioautografinya. *Usadha Journal Of Pharmacy*, 272-287. <https://doi.org/10.23917/Ujp.V3i3.404>
- Rahmi, U., Dalimunthe, G. I., Yuniarti, R., & Rani, Z. (2025). Formulasi Sediaan Patch Dari Ekstrak Etanol Daun Laban (Vitex Pinnata L.) Sebagai Antiinflamasi. *Journal Of Pharmaceutical And Sciences*, 87-104. <https://doi.org/10.36490/Journal-Jps.Com.V8i1.749>
- Safitri, D., Apriyanto, D. R., & Brajawikalpa, R. S. (2025). Uji Efektivitas Fraksi N-Heksan, Etil Asetat, Butanol Kulit Mangga Gedong Gincu Terhadap Pertumbuhan Jamur Candida Albicans Atcc 10231. *Jambura Journal Of Health Sciences And Research*, 7(1), 146-156. <https://doi.org/10.35971/Jjhsr.V7i1.27451>
- Sagala, V. Z., Ridwanto, R., Daulay, A. S., & Pulungan, A. F. (2025). Uji Toksisitas Menggunakan Metode Bslt Dan Uji Antibakteri Staphylococcus Aureus Dan Escherichia Coli Ekstrak Dan Fraksi Daun Karamunting (Rhodomyrtus Tomentosa (Aiton) Hassk.). *Journal Of Pharmaceutical And Sciences*, 603-625. <https://doi.org/10.36490/Journal-Jps.Com.V8i1.823>
- Sari, D. P., Kusumastuti, M. Y., & Safriana, S. (2023). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Dan Berbagai Fraksi Daun Rimbang (Solanum Torvum Swartz) Terhadap Bakteri Staphylococcus



- Aureus. *Journal Of Pharmaceutical And Sciences*, 440-449. <https://doi.org/10.36490/Journal-Jps.Com.V6i5-Si.281>
- Satria, R., Hakim, A. R., & Darsono, P. V. (2022). Determination Of Total Flavonoid Content Of The N-Hexane Fraction Of Gelinggang Leaf Extract By Uv-Vis Spectrophotometric Method. *Journal Of Engineering, Technology, And Applied Science (Jetas)*, 4(1), 33-46. <https://doi.org/10.36079/Lamintang.Jetas-0401.353>
- Surya, A., Maharani, Y. I., Romaito, R. B., Pranasti, E. A., & Rosa, D. (2023). Review Studi Etnofarmasi Penggunaan Tanaman Obat Antidiare Oleh Masyarakat Indonesia. *Media Farmasi Indonesia*, 18(1), 27-44. <https://doi.org/10.53359/Mfi.V18i1.215>
- Tk, A. C. M., & Wirasuta, I. M. A. G. (2022). Aktivitas Antimikroba Ekstrak Buah Mahkota Dewa (*Phaleria Macrocarpa*) Sebagai Hand Sanitizer Alami. In *Prosiding Workshop Dan Seminar Nasional Farmasi* (Vol. 1, Pp. 325-338). <https://doi.org/10.24843/Wsnf.2022.V01.I01.P26>
- Wahyukurnia, P. T., Yuhara, N. A., & Atmaja, S. P. (2023). Aktivitas Antibakteri Fraksi N-Heksan, Etil Asetat, N-Butanol Daun Jambu Mete (*Annacardium Occidentale*) Terhadap Bakteri Penyebab Ulkus Diabetik (*Staphylococcus Aureus* Dan *Escherichia Coli*). *Jurnal Kesehatan Perintis*, 10(2), 114-123. <https://doi.org/10.33653/Jkp.V10i2.1039>
- Wangloan, M. S., Yuliasri, W. O., & Ridwan, B. A. (2025). Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi N-Heksan, Etil Asetat Dan Air Pada Daun Keji Beling (*Strobilanthes Crispa*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Epidermidis* Dan *Pseudomonas Aeruginosa*. *Jurnal Pharmacia Mandala Waluya*, 4(2), 82-93. <https://doi.org/10.54883/Jpmw.V4i2.232>
- Wijayanti, R. (2024). *Potensi Daun Pandan Wangi (Pandanus Amaryllifolius Roxb.) Sebagai Antioksidan Beserta Identifikasi Struktur Senyawa Aktifnya*. Penerbit Nem.