

Antibacterial Activity of Lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) Leaf Ethanol Extract against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Seroja (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Khairani Fitri ^{a*}, Tetty Noverita Khairani ^a, Ruth Mayana Rumanti ^a, Sri Handayani ^a, Mintaria Halawa ^a

^a Fakultas Farmasi, Institut Kesehatan Helvetia, Medan, Indonesia.

*Corresponding Authors: khairanifitri@gmail.com

Abstract

Introduction: The increasing occurrence of bacterial infections and antimicrobial resistance has encouraged the investigation of medicinal plants as potential sources of antibacterial compounds. Lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) leaves contain several classes of secondary metabolites that may contribute to antibacterial activity. **Objective:** This study evaluated the antibacterial activity of lotus leaf ethanol extract against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* and identified the major classes of secondary metabolites present in the extract. **Methods:** This laboratory experimental study used lotus leaf extract prepared by maceration with 96% ethanol. The simplicia was characterized and subjected to phytochemical screening. Antibacterial activity was evaluated using the paper-disc diffusion method on Mueller–Hinton agar at extract concentrations of 10%, 15%, and 20%, with clindamycin as the positive control and dimethyl sulfoxide as the negative control. Each treatment was tested in triplicate. Inhibition-zone diameters were analyzed using one-way analysis of variance followed by Tukey's HSD test. **Results:** The lotus leaf material contained alkaloids, flavonoids, saponins, tannins, steroids, and triterpenoids. Against *E. coli*, the mean inhibition-zone diameters at concentrations of 10%, 15%, and 20% were 13.60, 15.40, and 16.60 mm, respectively; the corresponding values against *S. aureus* were 14.56, 15.21, and 18.13 mm. Differences among treatments were statistically significant for both test bacteria ($p < 0.001$). **Conclusion:** Lotus leaf ethanol extract exhibited concentration-dependent antibacterial activity against *E. coli* and *S. aureus*, with the strongest inhibition observed at 20%. Further studies should determine the minimum inhibitory and bactericidal concentrations and characterize the active antibacterial constituents.

Keywords: antibacterial activity; *Escherichia coli*; lotus leaf; *Nelumbo nucifera*; *Staphylococcus aureus*.

Abstrak

Pendahuluan: Meningkatnya kejadian infeksi bakteri dan resistensi antimikroba mendorong eksplorasi tumbuhan obat sebagai sumber senyawa antibakteri. Daun seroja (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) mengandung berbagai golongan metabolit sekunder yang berpotensi berkontribusi terhadap aktivitas antibakteri. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan mengevaluasi aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun seroja terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* serta mengidentifikasi golongan metabolit sekundernya. **Metode:** Penelitian eksperimental laboratorium ini menggunakan ekstrak daun seroja yang dibuat melalui maserasi dengan etanol 96%. Siplisia dikarakterisasi dan diskriminasi secara fitokimia. Aktivitas antibakteri diuji menggunakan metode difusi cakram pada Mueller–Hinton agar dengan konsentrasi ekstrak 10%, 15%, dan 20%; klindamisin digunakan sebagai kontrol positif dan dimetil sulfoksida sebagai kontrol negatif. Setiap perlakuan diuji sebanyak tiga kali. Diameter zona hambat dianalisis menggunakan ANOVA satu arah dan dilanjutkan dengan uji Tukey HSD. **Hasil:** Bahan uji daun seroja mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, steroid, dan triterpenoid. Rerata diameter zona hambat terhadap *E. coli* pada konsentrasi 10%, 15%, dan 20% berturut-turut sebesar 13,60; 15,40; dan 16,60 mm, sedangkan terhadap *S. aureus* sebesar 14,56; 15,21; dan 18,13 mm. Terdapat perbedaan bermakna antarperlakuan pada kedua bakteri uji ($p < 0,001$). **Kesimpulan:** Ekstrak etanol daun seroja menunjukkan aktivitas antibakteri yang meningkat seiring kenaikan konsentrasi terhadap *E. coli* dan *S. aureus*, dengan penghambatan terbesar pada konsentrasi 20%. Penelitian lanjutan diperlukan untuk menetapkan konsentrasi hambat dan bunuh minimum serta mengidentifikasi senyawa aktif antibakterinya.

Kata kunci: aktivitas antibakteri; daun seroja; *Escherichia coli*; *Nelumbo nucifera*; *Staphylococcus aureus*.



Copyright © 2020 The author(s). You are free to : **Share** (copy and redistribute the material in any medium or format) and **Adapt** (remix, transform, and build upon the material) under the following terms: **Attribution** — You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made. You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggests the licensor endorses you or your use; **NonCommercial** — You may not use the material for commercial purposes; **ShareAlike** — If you remix, transform, or build upon the material, you must distribute your contributions under the same license as the original. Content from this work may be used under the terms of the [a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International \(CC BY-NC-SA 4.0\) License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Article History:

Received: 01/05/2026,
Revised: 05/08/2026,
Accepted: 06/08/2026,
Available Online: 06/08/2026.

QR access this Article



<https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v9i3.1809>

Pendahuluan

Resistensi antimikroba merupakan ancaman kesehatan global yang mengurangi efektivitas terapi infeksi bakteri dan meningkatkan kebutuhan terhadap sumber antimikroba baru. Analisis global terbaru menunjukkan bahwa beban resistensi tidak hanya berkaitan dengan kematian, tetapi juga dengan keterbatasan pilihan terapi terhadap patogen penting, termasuk *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* [1]. *E. coli* merupakan bakteri Gram-negatif yang dapat menyebabkan infeksi intestinal dan ekstraintestinal, sedangkan *S. aureus* merupakan bakteri Gram-positif oportunistik yang berperan pada infeksi kulit, jaringan lunak, aliran darah, dan berbagai infeksi terkait pelayanan kesehatan.

Tumbuhan obat menyediakan keragaman metabolit sekunder yang berpotensi menghambat pertumbuhan atau virulensi bakteri. Seroja (*Nelumbo nucifera* Gaertn.; Nelumbonaceae) merupakan tumbuhan akuatik yang bagian daun, bunga, biji, dan rimpangnya digunakan sebagai pangan maupun bahan pengobatan tradisional. Kajian mutakhir melaporkan bahwa seroja mengandung flavonoid, alkaloid, fenolat, tanin, terpenoid, dan senyawa bioaktif lain; komposisinya dipengaruhi bagian tumbuhan, asal bahan, tingkat kematangan, dan metode ekstraksi [2,3]. Daun seroja terutama diketahui mengandung turunan kuersetin, rutin, hiperosida, katekin, asam fenolat, serta alkaloid aporfin seperti nukiferin yang dapat berkontribusi terhadap aktivitas biologisnya [2,3].

Bukti eksperimental terkini mendukung potensi antimikroba *N. nucifera*. Assad et al. melaporkan respons penghambatan yang bergantung pada konsentrasi dari ekstrak metanol *N. nucifera* terhadap beberapa bakteri, termasuk *E. coli* dan *S. aureus* [4]. Penelitian Yucharoen et al. juga menunjukkan bahwa ekstrak etanol dan etil asetat bagian bunga seroja mampu menghambat beragam bakteri bawaan pangan, meskipun besar aktivitas berbeda menurut bagian tumbuhan dan pelarut [5]. Lebih lanjut, analisis berbasis UPLC-QTOF-MS menunjukkan bahwa ekstrak daun seroja yang mengandung kuersetin, rutin, dan asam klorogenat dapat mengganggu quorum sensing dan menekan aktivitas proteolitik bakteri pembusuk [6]. Temuan tersebut mengindikasikan bahwa aktivitas ekstrak seroja kemungkinan merupakan hasil interaksi beberapa komponen, bukan satu senyawa tunggal.

Meskipun demikian, aktivitas antibakteri ekstrak tumbuhan sangat dipengaruhi oleh konsentrasi, pelarut, kelarutan komponen, jumlah ekstrak pada cakram, karakter media, kepadatan inokulum, dan kemampuan senyawa berdifusi dalam agar. Oleh karena itu, hasil uji difusi perlu dilaporkan secara kuantitatif bersama kontrol dan pengulangan, serta tidak ditafsirkan menggunakan breakpoint klinis antibiotik yang tidak dikembangkan untuk ekstrak tumbuhan [7]. Data mengenai aktivitas ekstrak etanol daun seroja yang diperoleh dari Sumatera Utara terhadap *E. coli* dan *S. aureus* juga masih terbatas.

Penelitian ini bertujuan mengarakterisasi simplisia dan golongan metabolit sekunder daun seroja serta mengevaluasi aktivitas antibakteri ekstrak etanol 96% pada konsentrasi 10%, 15%, dan 20% terhadap *E. coli* dan *S. aureus* menggunakan metode difusi cakram. Hubungan antara peningkatan konsentrasi ekstrak dan diameter zona hambat dianalisis untuk memperoleh bukti awal mengenai potensi antibakteri in vitro daun seroja.

Metode Penelitian

Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium untuk menilai aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun seroja (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

Variabel perlakuan adalah konsentrasi ekstrak 10%, 15%, dan 20%, sedangkan respons yang diamati adalah diameter zona hambat pertumbuhan bakteri (mm).

Alat dan Bahan

Peralatan utama yang digunakan meliputi autoklaf, inkubator, oven, rotary evaporator, neraca analitik, hot plate, blender, colony counter, jangka sorong, cawan Petri, tabung reaksi, pipet volumetrik, ose steril, serta peralatan gelas laboratorium. Bahan penelitian meliputi daun seroja, etanol 96%, akuades, dimetil sulfoksida (DMSO), larutan NaCl fisiologis, standar McFarland, Mueller–Hinton agar (MHA), Eosin Methylene Blue agar (EMBA), Mannitol Salt Agar (MSA), biakan *E. coli* dan *S. aureus*, cakram kertas steril, serta klindamisin sebagai kontrol positif.

Pengumpulan dan Determinasi Tumbuhan

Daun seroja dikumpulkan dari Marelan, Kota Medan. Identitas botani sampel dikonfirmasi di Herbarium Medanense (MEDA), Universitas Sumatera Utara, sebagai *Nelumbo nucifera* Gaertn. Daun disortasi basah, dicuci, dikeringkan, disortasi kembali, kemudian dihaluskan menjadi serbuk simplisia dan disimpan dalam wadah tertutup sampai digunakan.

Karakterisasi Simplisia

Karakterisasi simplisia meliputi pemeriksaan makroskopik serta penetapan kadar air, kadar sari larut air, kadar sari larut etanol, kadar abu total, dan kadar abu tidak larut dalam asam. Pengujian dilakukan mengikuti prinsip dan prosedur Farmakope Herbal Indonesia, dan setiap hasil dinyatakan sebagai persentase terhadap bobot bahan uji [8].

Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Seroja

Serbuk simplisia daun seroja diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan etanol 96%. Selama maserasi, campuran diaduk secara berkala, kemudian disaring. Ampas dimaserasi kembali untuk mengoptimalkan penyarian. Seluruh maserat digabungkan dan diuapkan pada tekanan rendah menggunakan rotary evaporator hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak disimpan dalam wadah tertutup dan terlindung dari cahaya sebelum pengujian.

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi golongan alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, steroid, dan triterpenoid. Alkaloid diuji menggunakan pereaksi Mayer, Wagner, dan Dragendorff; flavonoid menggunakan serbuk magnesium dan asam klorida pekat; saponin menggunakan uji pembentukan buih; tanin menggunakan FeCl₃; serta steroid dan triterpenoid menggunakan pereaksi Liebermann–Burchard. Hasil dinyatakan positif apabila terbentuk perubahan warna, endapan, atau buih khas sesuai dengan reaksi masing-masing golongan senyawa.

Penyiapan Suspensi Bakteri Uji

Biakan *E. coli* dan *S. aureus* diremajakan pada media selektif yang sesuai, yaitu Eosin Methylene Blue agar untuk *E. coli* dan Mannitol Salt Agar untuk *S. aureus*. Koloni terisolasi disuspensikan dalam NaCl fisiologis steril dan kekeruhannya disesuaikan dengan standar 0,5 McFarland sebelum digunakan sebagai inokulum. Standardisasi inokulum dan penggunaan Mueller–Hinton agar mengikuti prinsip uji difusi cakram CLSI [7].

Pembuatan Larutan Uji dan Kontrol

Ekstrak dilarutkan dalam DMSO untuk memperoleh konsentrasi 10%, 15%, dan 20%. Klindamisin digunakan sebagai kontrol positif, sedangkan DMSO digunakan sebagai kontrol negatif. Larutan uji dan kontrol disiapkan secara aseptis sebelum diaplikasikan pada cakram kertas steril.

Uji Aktivitas Antibakteri

Aktivitas antibakteri ditentukan menggunakan metode difusi cakram. Suspensi bakteri diinokulasikan secara merata pada permukaan Mueller–Hinton agar. Cakram kertas steril yang telah diberi larutan ekstrak 10%, 15%, atau 20%, klindamisin sebagai kontrol positif, dan DMSO sebagai kontrol negatif diletakkan pada permukaan media, kemudian diinkubasi. Setiap perlakuan dilakukan dalam tiga kali pengulangan. Diameter

keseluruhan zona bening, termasuk diameter cakram, diukur dalam dua arah yang saling tegak lurus menggunakan jangka sorong dan dinyatakan dalam milimeter. Nilai akhir disajikan sebagai rerata dan simpangan baku. Karena belum tersedia breakpoint CLSI untuk ekstrak daun seroja, diameter zona hambat digunakan untuk perbandingan aktivitas in vitro antarperlakuan dan tidak dikonversi menjadi kategori sensitif, intermediat, atau resisten [7].

Analisis Data

Data diameter zona hambat diringkas sebagai rerata dan simpangan baku dari tiga pengulangan. Untuk masing-masing bakteri, perbedaan rerata antarperlakuan dianalisis menggunakan ANOVA satu arah pada taraf kemaknaan 5%, setelah asumsi normalitas residual dan homogenitas varians diperiksa. Jika ANOVA menunjukkan perbedaan bermakna, analisis dilanjutkan dengan uji Tukey HSD. Nilai $p < 0,05$ dianggap bermakna; nilai keluaran perangkat lunak sebesar 0,000 dilaporkan sebagai $p < 0,001$.

Hasil Dan Pembahasan

Hasil identifikasi botani oleh Herbarium Medanense (MEDA), Universitas Sumatera Utara, menetapkan sampel penelitian sebagai *Nelumbo nucifera* Gaertn. dari famili Nelumbonaceae, dengan nama lokal daun seroja. Klasifikasi yang dicantumkan meliputi Kingdom Plantae, Divisi Spermatophyta, Kelas Dicotyledoneae, Ordo Proteales, Famili Nelumbonaceae, Genus Nelumbo, dan Spesies *Nelumbo nucifera* Gaertn. Dokumentasi bahan tumbuhan dan proses penyiapan simplisia disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Dokumentasi bahan tumbuhan dan penyiapan simplisia: (a) habitat *N. nucifera*; (b) morfologi daun segar; (c) proses pengeringan; (d) proses penyerbukan; dan (e) serbuk simplisia daun seroja. Foto berasal dari dokumentasi penelitian.

Tabel 1. Hasil Uji Makroskopik

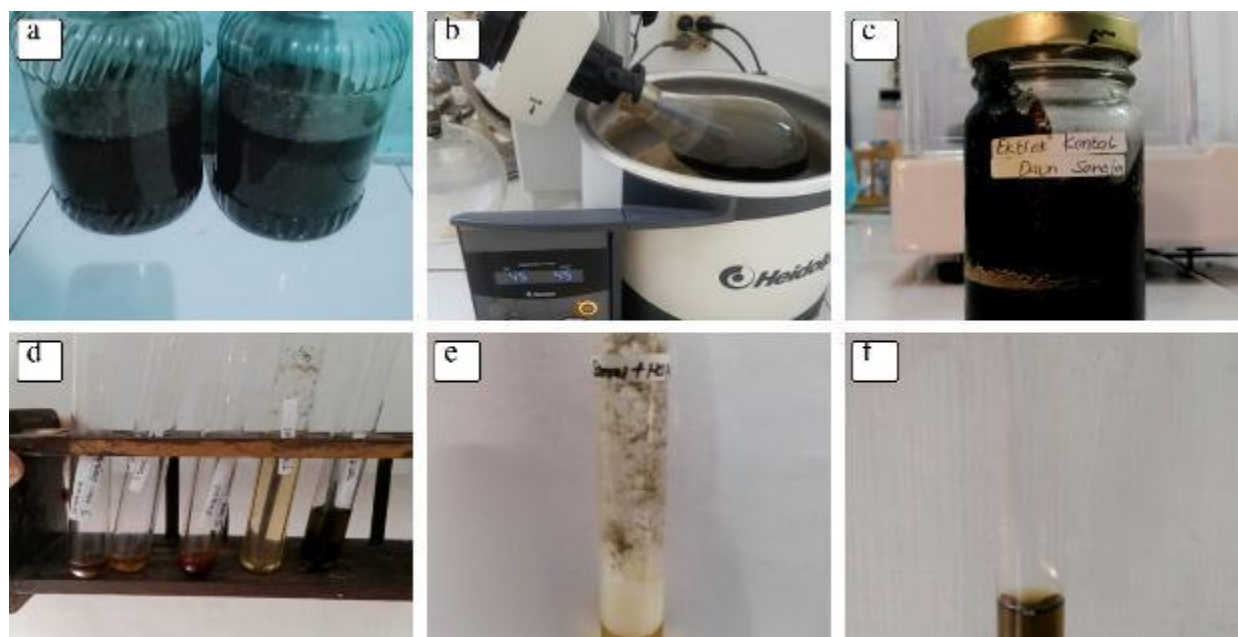
Pemeriksaan	Daun Seroja
Rupa dan Bentuk	Berbentuk lingkaran, bergelombang tepi dengan urat daun berkumpul di tengah daun, memiliki lapisan lilin.
Ukuran	Berdiameter 50 cm
Warna	
Bagian atas	Hijau tua
Bagian bawah	Hijau muda
Bau	Tidak berbau
Uraian serbuk simplisia	Serbuk simplisia daun seroja berbentuk hablur halus, berwarna hijau tua.

Tabel 2. Hasil Penetapan Kadar Air, Kadar Sari Larut dalam Air, Kadar Sari Larut dalam Etanol, Kadar Abu Tidak Larut Dalam Asam dan Kadar Abu Total Simplisia Daun Seroja (*Nelumbo nucifera* Gaertn.)

Parameter	Hasil
Kadar air	9,2%
Kadar sari larut dalam air	3,6 %
Kadar sari larut dalam etanol	10,3 %
Kadar Abu Tidak Larut Dalam Asam	4,1 %
Kadar abu total	18,1 %

Hasil Ekstraksi

Pada penelitian ini digunakan pelarut etanol 96% untuk membuat ekstrak daun seroja (*Nelumbo nufura* Gaertn.) dan untuk ekstraksi menggunakan metode maserasi. Berat simplisia basah 5 kg simplisia daun seroja kering dihasilkan 1200 gram.

**Gambar 2.** Dokumentasi ekstraksi dan skrining fitokimia: (a) maserasi serbuk simplisia dengan etanol 96%; (b) pemekatan menggunakan rotary evaporator; (c) ekstrak kental; dan (d-f) reaksi kualitatif representatif pada skrining metabolit sekunder. Foto berasal dari dokumentasi penelitian.

Hasil Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia terhadap daun seroja dilakukan untuk mendapatkan informasi golongan senyawa metabolit sekunder yang terdapat didalamnya. Adapun pemeriksaan yang dilakukan terhadap serbuk daun seroja adalah golongan senyawa alkaloid, flavonoid, tannin, saponin, steroid dan triterpenoid.

Tabel 3 Skrining Fitokimia Daun Seroja (*Nelumbo nucifera* Gaertn.)

Senyawa Metabolit Sekunder	Pereaksi	Hasil
Alkaloid	Wagner	+
	Meyer	+
	Dragendroff	+
Flavonoida	Serbuk Mg +	+
	HCl Pekat	+
Steroid dan Triterpenoid	Libermann-Burchard	+
Tanin	FeCl ₃ 5%	+
Saponin	Aquadest+Hcl	+

Keterangan: + : ada
- : tidak ada

Hasil skrining fitokimia pada tabel diatas, diketahui bahwa serbuk daun seroja positif mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, steroid dan Triterpenoid. Hasil pemeriksaan golongan senyawa kandungan metabolit sekunder daun seroja.

Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Daun Seroja

Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol Daun Seroja (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Perhitungan uji aktivitas antibakteri daun seroja (*Nelumbo nucifera* Gaertn.).

Tabel 4. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri daun (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) seroja terhadap bakteri *Escherichia coli*

No	Konsentrasi	Pengujian			Rata-rata (mm)
		PI (mm)	P2(mm)	P3 (mm)	
1	10%	15,65	12,9	12,25	13,6
2	15%	16,6	13,8	15,8	15,4
3	20%	16,4	14,95	18,55	16,6
4	Kontrol (+)	25,75	25,15	24,25	25,05
5	Kontrol (-)	-	-	-	-

Tabel 5. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri daun (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) seroja terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

No	Konsentrasi	Diameter rata-rata zona hambat (mm)		Keterangan
		<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	
1	10%	13,6	14,56	Zona hambat terukur
2	15%	15,4	15,21	Zona hambat terukur
3	20%	16,6	18,13	Zona hambat terbesar di antara konsentrasi ekstrak
4	K+	25,05	22,68	Kontrol positif
5	K-	-	-	Tidak terbentuk zona hambat

Keterangan :

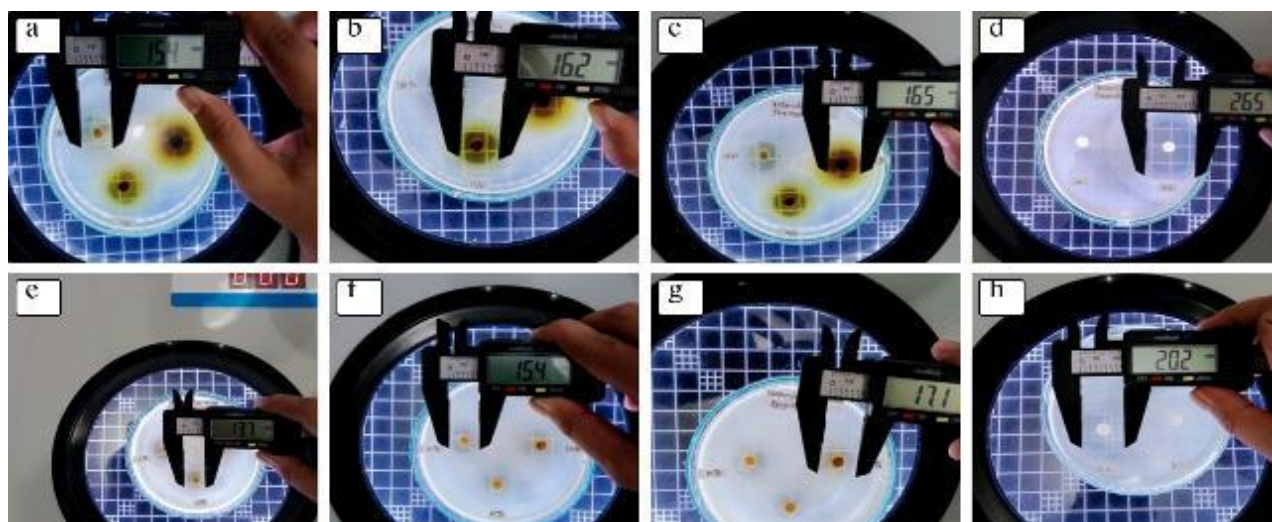
P1 : Pemberian ekstrak etanol daun seroja konsentrasi 10% untuk *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

P2 : Pemberian ekstrak etanol daun seroja konsentrasi 15% untuk *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

P3 : Pemberian ekstrak etanol daun seroja konsentrasi 20% untuk *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

K+ : Pemberian kontrol positif (+) klindamisin

K- : Pemberian kontrol negatif (-) DMSO

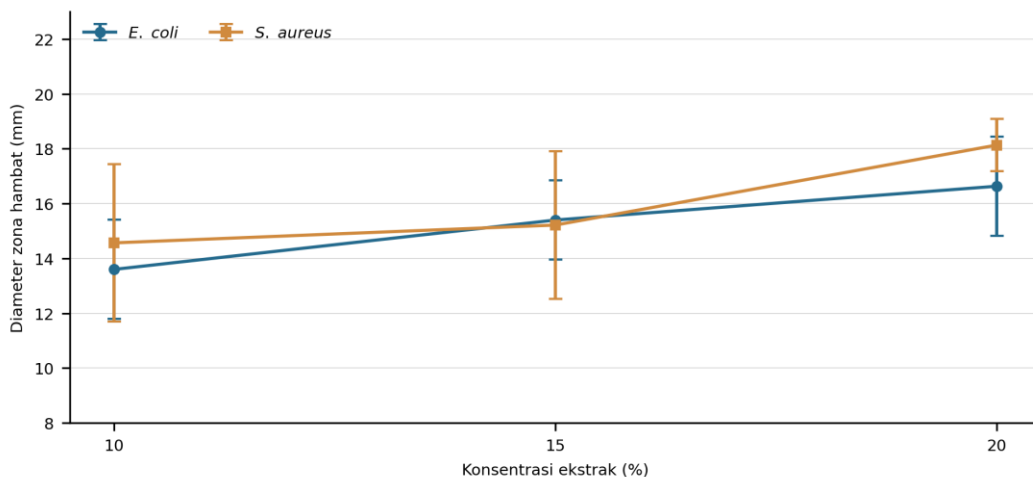


Gambar 3. Dokumentasi representatif zona hambat: *E. coli* pada ekstrak 10% (a), 15% (b), 20% (c), dan kontrol positif (d); *S. aureus* pada ekstrak 10% (e), 15% (f), 20% (g), dan kontrol positif (h). Foto memperlihatkan proses pengukuran menggunakan jangka sorong; hasil kuantitatif dilaporkan sebagai rerata±SD dari tiga pengulangan.

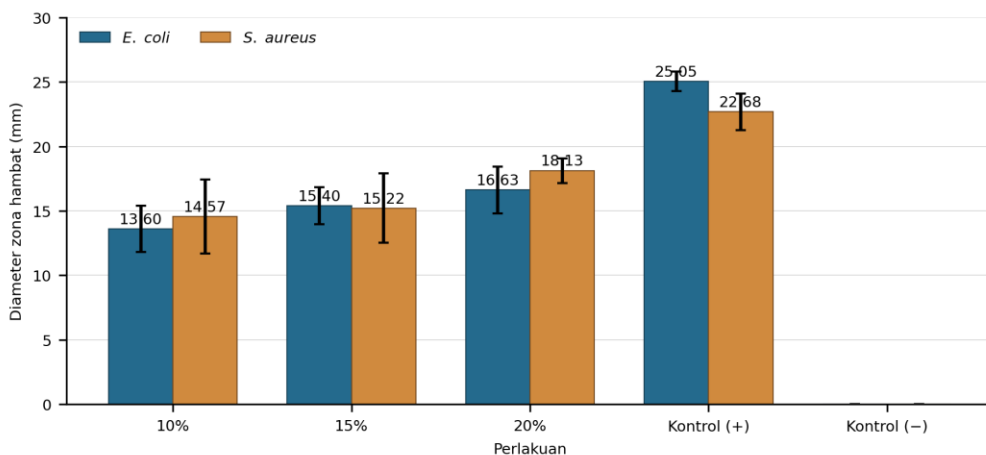
Hasil Analisis Uji One Way Anova

Tabel 6. Hasil analisis uji one way anova diameter zona hambat ekstrak etanol daun seroja terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

No.	Uraian	Hasil Uji Anova (Sig.)	Intepretasi Data
1.	Daun seroja (<i>Nelumbo nucifera Gaertn</i>) terhadap bakteri <i>Escherichia coli</i>	<0,001	Ada perbedaan signifikan
2.	Daun seroja (<i>Nelumbo nucifera Gaertn</i>) terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	<0,001	Ada perbedaan signifikan



Gambar 4. Hubungan konsentrasi ekstrak etanol daun seroja dengan diameter zona hambat *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Titik menunjukkan rerata dan error bar menunjukkan simpangan baku (n=3).

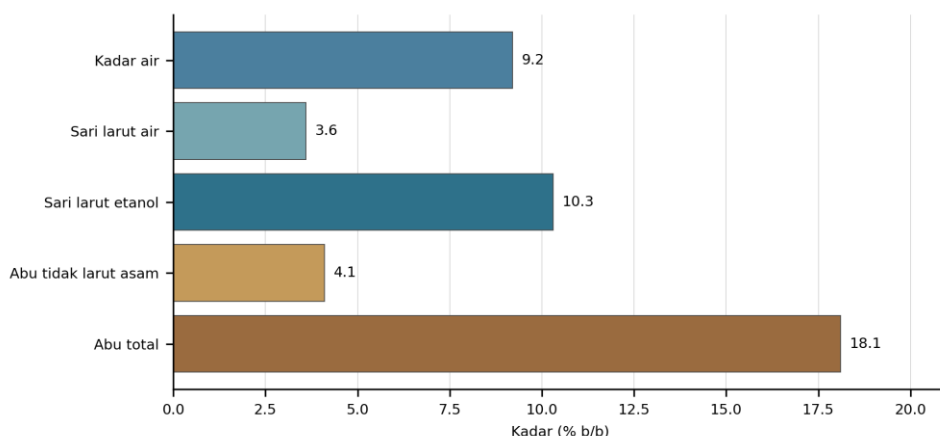


Gambar 5. Perbandingan diameter zona hambat seluruh perlakuan. Batang menunjukkan rerata dan error bar menunjukkan simpangan baku (n=3). Kontrol positif: klindamisin; kontrol negatif: DMSO.

Gambar 4 menunjukkan kecenderungan peningkatan diameter zona hambat seiring kenaikan konsentrasi ekstrak. Pada *E. coli*, rerata meningkat dari 13,60 mm pada konsentrasi 10% menjadi 15,40 mm pada 15% dan 16,60 mm pada 20%. Pada *S. aureus*, rerata meningkat dari 14,56 menjadi 15,21 dan 18,13 mm. Kemiringan garis *S. aureus* antara konsentrasi 15% dan 20% lebih besar daripada *E. coli*.

Gambar 5 memperlihatkan bahwa seluruh konsentrasi ekstrak menghasilkan zona hambat, sedangkan kontrol negatif DMSO tidak memperlihatkan penghambatan. Hal ini menunjukkan bahwa zona bening berasal dari komponen ekstrak dan bukan dari pelarut. Klindamisin menghasilkan zona hambat terbesar, yaitu 25,05 mm terhadap *E. coli* dan 22,68 mm terhadap *S. aureus*. Namun, perbandingan langsung potensi

ekstrak dengan klindamisin terbatas karena jumlah zat per cakram, karakter difusi, dan mekanisme kedua bahan tidak setara. Variasi antarulangan tampak lebih besar pada *S. aureus* konsentrasi 10% dan 15%, sehingga penambahan replikasi diperlukan untuk memperoleh estimasi rerata yang lebih presisi.



Gambar 6. Hasil karakterisasi nonspesifik simplisia daun seroja. Nilai merupakan hasil pengujian yang dilaporkan dan disajikan sebagai persen bobot terhadap bobot.

Berdasarkan Gambar 6, Kadar abu total merupakan parameter tertinggi (18,1%), diikuti kadar sari larut etanol (10,3%), kadar air (9,2%), kadar abu tidak larut asam (4,1%), dan kadar sari larut air (3,6%). Nilai sari larut etanol yang lebih tinggi daripada sari larut air mengindikasikan bahwa komponen simplisia lebih banyak tersari oleh pelarut hidroalkohol dibandingkan air pada kondisi pengujian. Kadar air 9,2% menunjukkan simplisia relatif kering, sedangkan kadar abu total dan abu tidak larut asam yang cukup besar perlu dievaluasi terhadap monografi atau spesifikasi bahan yang tervalidasi.

Pembahasan

Determinasi di Herbarium Medanense memastikan bahwa bahan yang digunakan adalah daun seroja (*Nelumbo nucifera* Gaertn.). Kepastian identitas botani diperlukan karena komposisi metabolit dapat berbeda menurut spesies, bagian tumbuhan, lokasi tumbuh, dan waktu panen [12–16,22]. Secara makroskopik, daun memiliki bentuk membulat dengan tepi bergelombang, pertulangan yang berkumpul di bagian tengah, permukaan berkilat, serta perbedaan warna antara permukaan atas dan bawah. Karakter tersebut mendukung kesesuaian bahan dengan ciri daun seroja.

Hasil karakterisasi simplisia adalah sebagai berikut: kadar air 9,2%; kadar sari larut air 3,6%; kadar sari larut etanol 10,3%; kadar abu tidak larut asam 4,1%; dan kadar abu total 18,1%. Kadar air 9,2% menunjukkan simplisia dalam kondisi kering, namun pengujian ulang diperlukan untuk menjamin stabilitas penyimpanan. Kadar sari larut etanol yang lebih tinggi daripada kadar sari larut air mengindikasikan bahwa pelarut etanol lebih efektif dalam menarik komponen aktif dari simplisia, sehingga mendukung penggunaan etanol sebagai pelarut ekstraksi [8].

Maserasi dengan etanol 96% menghasilkan ekstrak yang kemudian digunakan dalam pengujian antibakteri, tetapi rendemen ekstrak belum dilaporkan sehingga efisiensi proses penyarian belum dapat dinilai. Skrining fitokimia menunjukkan hasil positif terhadap alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, steroid, dan triterpenoid. Hasil tersebut sejalan dengan laporan bahwa daun seroja mengandung beragam alkaloid aporfin, flavonoid, dan polifenol [2,3,12–16,19,20,23]. Meskipun demikian, reaksi warna dan pembentukan endapan hanya mengidentifikasi golongan senyawa secara kualitatif. Data penelitian ini belum dapat menentukan senyawa mana yang paling berperan terhadap penghambatan bakteri. Kuantifikasi total fenolik dan flavonoid serta analisis HPLC atau LC–MS diperlukan agar komposisi ekstrak dapat dikaitkan dengan aktivitas secara lebih kuat.

Ekstrak etanol daun seroja menghasilkan zona hambat terhadap *E. coli* dan *S. aureus* pada seluruh konsentrasi yang diuji. Pada *E. coli*, rerata±simpangan baku diameter zona hambat pada konsentrasi 10%, 15%, dan 20% masing-masing sebesar 13,60±1,81; 15,40±1,45; dan 16,63±1,80 mm. Pada *S. aureus*, nilai yang diperoleh berturut-turut sebesar 14,57±2,90; 15,22±2,76; dan 18,13±0,96 mm. Peningkatan rerata pada kedua bakteri menunjukkan hubungan konsentrasi–respons dalam rentang 10–20%, dengan penghambatan terbesar

pada konsentrasi 20%. Namun, konsentrasi 20% belum dapat disebut sebagai konsentrasi optimum karena konsentrasi yang lebih tinggi tidak diuji dan konsentrasi hambat minimum belum ditentukan.

ANOVA satu arah menunjukkan adanya perbedaan antarperlakuan untuk kedua bakteri ($p < 0,001$). Hasil ini mendukung bahwa tidak seluruh kelompok menghasilkan rerata yang sama, tetapi nilai ANOVA tidak menunjukkan pasangan kelompok mana yang berbeda. Pernyataan bahwa setiap konsentrasi berbeda bermakna satu sama lain hanya dapat dibuat jika keluaran uji Tukey HSD per pasangan tersedia. Error bar pada konsentrasi 10% dan 15%, terutama terhadap *S. aureus*, menunjukkan variasi antar ulangan yang cukup besar dan saling tumpang tindih. Oleh karena itu, kesimpulan yang paling sesuai dengan data adalah adanya kecenderungan peningkatan penghambatan dan perbedaan keseluruhan antar perlakuan, bukan kepastian perbedaan antara setiap pasangan konsentrasi.

Pada konsentrasi 20%, rerata zona hambat terhadap *S. aureus* lebih besar daripada terhadap *E. coli*. Perbedaan tersebut dapat berkaitan dengan struktur sel bakteri. *E. coli* memiliki membran luar yang dapat membatasi penetrasi sebagian senyawa, sedangkan *S. aureus* tidak memiliki membran luar. Akan tetapi, penelitian ini tidak dirancang sebagai analisis faktorial dan tidak menguji interaksi antara jenis bakteri dan konsentrasi. Dengan demikian, perbedaan nilai pada grafik tidak cukup untuk menyatakan bahwa *S. aureus* secara statistik lebih peka daripada *E. coli*. Pengujian dengan jumlah replikasi lebih besar dan ANOVA dua arah diperlukan untuk menguji perbedaan respons kedua organisme secara langsung.

Hasil penelitian ini searah dengan Assad et al. yang melaporkan zona hambat ekstrak metanol *N. nucifera* sebesar $15,0 \pm 1,0$ mm terhadap *E. coli* dan $15,8 \pm 0,76$ mm terhadap *S. aureus* pada konsentrasi 100 mg/mL [4]. Chen et al. juga melaporkan bahwa ekstrak etanol daun seroja menghambat bakteri bawaan pangan dengan zona hambat sekitar 17,2–17,8 mm [9]. Aktivitas terhadap bakteri oral dan patogen ikan turut dilaporkan dalam penelitian sebelumnya [17,18]. Meskipun rentang diameter zona hambat relatif sejalan, perbandingan langsung harus dilakukan secara hati-hati karena perbedaan bagian tumbuhan, jenis dan konsentrasi pelarut, satuan konsentrasi ekstrak, volume per cakram, strain bakteri, serta kondisi inkubasi dapat menghasilkan diameter yang berbeda [5,19,21,24,25].

Skrining fitokimia menunjukkan adanya alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, steroid, dan triterpenoid dalam ekstrak etanol daun seroja. Golongan senyawa tersebut, khususnya flavonoid dan fenolik, telah dilaporkan dalam berbagai penelitian memiliki potensi untuk mengganggu permeabilitas membran, aktivitas enzim, atau pembentukan biofilm pada bakteri [10,11]. Penelitian terbaru juga menunjukkan bahwa ekstrak daun seroja yang mengandung kuersetin, rutin, dan asam klorogenat dapat menghambat quorum sensing pada konsentrasi subinhibitori [6]. Meskipun demikian, hasil kualitatif tersebut belum membuktikan bahwa seluruh golongan senyawa tersebut berkontribusi secara langsung terhadap zona hambat yang teramati. Berdasarkan literatur, flavonoid memiliki beberapa mekanisme antibakteri yang secara biologis masuk akal, antara lain mengganggu integritas dan meningkatkan permeabilitas membran sitoplasma, menghambat sintesis asam nukleat melalui interaksi dengan DNA girase atau topoisomerase, serta mengganggu metabolisme energi bakteri. Kuersetin, salah satu flavonoid yang telah diidentifikasi dalam daun seroja, dilaporkan menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap sejumlah bakteri dan diduga bekerja melalui kombinasi gangguan membran, penghambatan DNA girase, dan penurunan produksi ATP [10,11].

Saponin mempunyai struktur amfifilik yang memungkinkan interaksi dengan komponen lipid membran. Interaksi tersebut dilaporkan menyebabkan perubahan fluiditas dan permeabilitas membran, diikuti kebocoran komponen intraseluler; namun, besarnya efek bergantung pada struktur kimia, konsentrasi, dan jenis bakteri yang diuji [26]. Tanin juga dilaporkan menghambat pertumbuhan bakteri melalui pengkelatan ion besi, pengikatan protein dan enzim, gangguan terhadap pembentukan dinding sel, serta perubahan integritas membran [27]. Sementara itu, alkaloid merupakan kelompok senyawa yang sangat beragam sehingga mekanisme antibakterinya tidak dapat digeneralisasi. Sejumlah alkaloid dilaporkan mengganggu membran, fungsi DNA, aktivitas enzim, dan pembentukan biofilm, tetapi mekanisme tersebut bergantung pada struktur alkaloid dan organisme sasaran [23,28]. Oleh karena penelitian ini hanya menggunakan skrining fitokimia kualitatif dan metode difusi cakram, kontribusi masing-masing golongan metabolit terhadap aktivitas antibakteri belum dapat ditetapkan. Fraksinasi terpandu aktivitas, identifikasi dan kuantifikasi senyawa menggunakan HPLC atau LC-MS, penetapan MIC dan MBC, serta pengujian membran dan biofilm diperlukan untuk menguji hubungan antara komposisi kimia ekstrak dan aktivitas antibakterinya.

DMSO sebagai kontrol negatif tidak membentuk zona hambat, sehingga penghambatan pada kelompok ekstrak tidak berasal dari pelarut. Klindamisin menghasilkan zona hambat $25,05 \pm 0,76$ mm terhadap *E. coli* dan $22,68 \pm 1,40$ mm terhadap *S. aureus*. Kontrol positif menunjukkan bahwa sistem pengujian mampu

mendeteksi penghambatan, tetapi perbandingan langsung antara ekstrak dan klindamisin tidak dapat digunakan untuk menyatakan kesetaraan potensi. Dosis klindamisin per cakram tidak dilaporkan, komposisi ekstrak belum distandardisasi, dan laju difusi senyawa dalam agar dapat berbeda. Selain itu, breakpoint CLSI dikembangkan untuk kombinasi antibiotik, dosis cakram, dan spesies tertentu, bukan untuk ekstrak tumbuhan [7]. Karena itu, pengelompokan zona hambat ekstrak sebagai “kuat” atau “sangat kuat” tidak digunakan.

Data penelitian ini mendukung aktivitas antibakteri *in vitro* ekstrak etanol daun seroja dan menunjukkan konsentrasi 20% sebagai perlakuan dengan rerata penghambatan terbesar di antara konsentrasi yang diuji. Interpretasi masih dibatasi oleh tiga kali pengulangan, tidak adanya rendemen ekstrak, volume ekstrak per cakram dan identitas strain yang tidak dijelaskan secara lengkap, serta belum tersedianya hasil uji lanjut per pasangan. Penelitian berikutnya perlu menggunakan strain acuan dan isolat klinis, menambah replikasi, menetapkan MIC dan MBC melalui mikrodilusi, melakukan kurva time-kill dan uji biofilm, serta menghubungkan aktivitas dengan kadar penanda kimia. Evaluasi sitotoksitas juga diperlukan sebelum ekstrak dipertimbangkan untuk pengembangan sebagai bahan antibakteri atau pengawet alami.

Kesimpulan

Ekstrak etanol 96% daun seroja (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) menunjukkan aktivitas antibakteri *in vitro* terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 10%, 15%, dan 20%. Diameter zona hambat meningkat seiring kenaikan konsentrasi ekstrak dan mencapai nilai tertinggi pada konsentrasi 20%, masing-masing sebesar 16,60 mm terhadap *E. coli* dan 18,13 mm terhadap *S. aureus*. Perbedaan diameter zona hambat antarperlakuan bermakna secara statistik ($p < 0,001$). Aktivitas antibakteri yang teramati diduga berhubungan dengan kandungan alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, steroid, dan triterpenoid yang terdeteksi melalui skrining fitokimia. Namun, hubungan tersebut belum dapat dipastikan karena skrining kualitatif dan metode difusi cakram tidak mengidentifikasi senyawa yang berperan maupun membuktikan mekanisme antibakterinya. Oleh karena itu, temuan ini merupakan bukti pendahuluan pada tingkat *in vitro* dan tidak dapat digunakan untuk menyimpulkan efektivitas klinis. Penelitian lanjutan perlu mencakup standardisasi ekstrak, penetapan MIC dan MBC, identifikasi serta kuantifikasi senyawa aktif, pengujian mekanisme antibakteri, dan evaluasi keamanan.

Pernyataan Konflik Kepentingan

Penulis menyatakan bahwa tidak terdapat konflik kepentingan dalam pelaksanaan penelitian, penyusunan naskah, maupun proses publikasi artikel ini.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Institut Kesehatan Helvetia atas dukungan, fasilitas, serta bantuan yang diberikan selama pelaksanaan penelitian.

Referensi

- [1] GBD 2021 Antimicrobial Resistance Collaborators. Global burden of bacterial antimicrobial resistance 1990–2021: a systematic analysis with forecasts to 2050. *Lancet*. 2024;404:1199–1226. doi:10.1016/S0140-6736(24)01867-1.
- [2] Yang H, He S, Feng Q, Liu Z, Xia S, Zhou Q, et al. Lotus (*Nelumbo nucifera*): a multidisciplinary review of its cultural, ecological, and nutraceutical significance. *Bioresour Bioprocess*. 2024;11:18. doi:10.1186/s40643-024-00734-y.
- [3] Ren X, Chen H, Wang H, Wang Y, Huang C, Pan H. Advances in the pharmacological effects and mechanisms of *Nelumbo nucifera* Gaertn. extract nuciferine. *J Ethnopharmacol*. 2024;331:118262. doi:10.1016/j.jep.2024.118262.
- [4] Assad I, Bhat SU, Gani A. Evaluation of antibacterial and antifungal potency of methanolic extracts from *Nelumbo nucifera*. *J Himalayan Ecol Sustain Dev*. 2024;19:1–22.

- [5] Yucharoen R, Chaichana O, Srisuksomwong P. Antibacterial activities of *Nelumbo nucifera* extracts. Life Sci Environ J. 2024;25. doi:10.14456/lsej.2024.32.
- [6] Qian Y, Zhang J, Yang L, Wang X, Li S. Lotus leaf extract: a potential quorum sensing inhibitor for quality preservation of refrigerated sturgeon fillets. LWT. 2025;231:118349. doi:10.1016/j.lwt.2025.118349.
- [7] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. 14th ed. CLSI standard M02. Wayne (PA): CLSI; 2024.
- [8] Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Farmakope Herbal Indonesia. 2nd ed. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI; 2017.
- [9] Chen J, Wang C, Chen X, Onivogui G, Song Y. Antibacterial activity of lotus leaves (*Nelumbo nucifera*) against food-borne pathogens. Am J Biochem Biotechnol. 2015;11:11–16. doi:10.3844/ajbbsp.2015.11.16.
- [10] Li M, Xu Z. Quercetin in a lotus leaves extract may be responsible for antibacterial activity. Arch Pharm Res. 2008;31:640–644. doi:10.1007/s12272-001-1206-5.
- [11] Qi W, Qi W, Xiong D, Long M. Quercetin: its antioxidant mechanism, antibacterial properties and potential application in prevention and control of toxipathy. Molecules. 2022;27:6545. doi:10.3390/molecules27196545.
- [12] Mukherjee PK, Mukherjee D, Maji AK, Rai S, Heinrich M. The sacred lotus (*Nelumbo nucifera*)—phytochemical and therapeutic profile. J Pharm Pharmacol. 2009;61:407–422. doi:10.1211/jpp.61.04.0001.
- [13] Paudel KR, Panth N. Phytochemical profile and biological activity of *Nelumbo nucifera*. Evid Based Complement Alternat Med. 2015;2015:789124. doi:10.1155/2015/789124.
- [14] Limwachiranon J, Huang H, Shi Z, Li L, Luo Z. Lotus flavonoids and phenolic acids: health promotion and safe consumption dosages. Compr Rev Food Sci Food Saf. 2018;17:458–471. doi:10.1111/1541-4337.12333.
- [15] Tungmunnithum D, Pinthong D, Hano C. Flavonoids from *Nelumbo nucifera* Gaertn., a medicinal plant: uses in traditional medicine, phytochemistry and pharmacological activities. Medicines (Basel). 2018;5:127. doi:10.3390/medicines5040127.
- [16] Lin Z, Zhang C, Cao D, Damaris RN, Yang P. The latest studies on lotus (*Nelumbo nucifera*)—an emerging horticultural model plant. Int J Mol Sci. 2019;20:3680. doi:10.3390/ijms20153680.
- [17] Lee HE, Han MS, Nam SH. Anticariogenic activity of *Nelumbo nucifera* leaf extract in oral healthcare. Technol Health Care. 2019;27:487–497. doi:10.3233/THC-191732.
- [18] Maqsood HM, Ganai NA, Ahmad SM, Asimi OA, Raja T, Shah FA, et al. Evaluation of in vitro antioxidant activity of *Nelumbo nucifera* leaf extract and its potential application as antibacterial agent against fish pathogens. Med Plants. 2019;11:352–358. doi:10.5958/0975-6892.2019.00045.5.
- [19] Wang Z, Cheng Y, Zeng M, Wang Z, Qin F, Wang Y, et al. Lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) leaf: a narrative review of its phytoconstituents, health benefits and food industry applications. Trends Food Sci Technol. 2021;112:631–650.
- [20] Li C, He Y, Yang Y, Gou Y, Li S, Wang R, et al. Antioxidant and inflammatory effects of *Nelumbo nucifera* Gaertn. leaves. Oxid Med Cell Longev. 2021;2021:8375961. doi:10.1155/2021/8375961.
- [21] Rajput M, Jadon AS, Bhadauriya P. In-vitro evaluation of antimicrobial properties of *Nelumbo nucifera*. World J Biol Pharm Health Sci. 2022;11:85–91. doi:10.30574/wjbphs.2022.11.3.0138.
- [22] On-nom N, Thangsiri S, Inthachai W, Temviriyannukul P, Sahasakul Y, Chupeerach C, et al. Seasonal effects on phenolic contents and in vitro health-promoting bioactivities of sacred lotus (*Nelumbo nucifera*). Plants (Basel). 2023;12:1441. doi:10.3390/plants12071441.
- [23] Wei X, Xue J, Liu X, Zhang Y, Zhang X, Ming R, et al. Lotus (*Nelumbo nucifera*) benzyloquinoline alkaloids: chemical profiling, extraction, pharmacological activities and biosynthesis. Veg Res. 2024;4:e009. doi:10.48130/vegres-0024-0004.
- [24] Karthika R, Kalaivani P, Mohanapriya S. Identification of bioactive compounds by GC-MS of *Nelumbo nucifera* leaf extract and virtual screening of EGFR/VEGFR2 dual inhibitors. Biosci Biotechnol Res Asia. 2024;21:1171–1182.
- [25] Guo P, Li Y, Zhang H, Wang J, Chen X. Effect of different particle-sized lotus leaf powder dried by radio-frequency vacuum technology on the shelf-life of green wheat leaf beverages. Front Sustain Food Syst. 2025;9:1653307. doi:10.3389/fsufs.2025.1653307.
- [26] Li J, Monje-Galvan V. In vitro and in silico studies of antimicrobial saponins: a review. Processes. 2023;11(10):2856. doi:10.3390/pr11102856.
- [27] Farha AK, Yang QQ, Kim G, Li HB, Zhu F, Liu HY, et al. Tannins as an alternative to antibiotics. Food Biosci. 2020;38:100751. doi:10.1016/j.fbio.2020.100751.
- [28] Yan Y, Li X, Zhang C, Lv L, Gao B, Li M. Research progress on antibacterial activities and mechanisms of natural alkaloids: a review. Antibiotics (Basel). 2021;10(3):318. doi:10.3390/antibiotics10030318.