

JOURNAL OF PHARMACEUTICAL AND SCIENCES

Electronic ISSN: 2656-3088

Homepage: https://www.journal-jps.com



ORIGINAL ARTICEL JPS | Volume 6 | No. 4 | OKT-DES | 2023 | pp.1831-1841

Antibacterial potential of gendola leaf extract (Basella alba Linn var. rubra) against Escherichia coli and Staphylococcus aureus

Potensi antibakteri ekstrak daun gendola (Basella alba Linn var. rubra) terhadap Escherichia coli dan Staphylococcus aureus

Diah Muldianah^{1*}, Marsah Rahmawati Utami¹, Jekmal Malau¹

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Singaperbangsa Karawang, Karawang, Jawa Barat, Indonesia. e-mail author: <u>diahzaedin08@gmail.com</u>

ABSTRACT

Gendola leaves (Basella alba Linn var. rubra) have long been utilized as an alternative treatment for various bacterial infections. This study aims to evaluate and determine the most potent antibacterial activity among three different extracts of gendola leaves, namely n-hexane extract, ethyl acetate extract, and 70% ethanol extract against Staphylococcus aureus and Escherichia coli. The research followed a laboratory-based experimental approach that involved maceration extraction using three different solvents and antibacterial activity testing through the well-diffusion method. Each extract was assessed at five different concentrations (20%, 40%, 60%, 80%, and 100% w/v) and compared to positive control chloramphenicol (0.3% v/v) and negative control DMSO (10% v/v). The results showed that only the n-hexane extract exhibited no antibacterial activity. In contrast, the ethyl acetate and 70% ethanol extracts exhibited more effective antibacterial activity against Staphylococcus aureus than Escherichia coli, with ethyl acetate extract displaying the most potential antibacterial activity.

Keywords: Gendola leaves, antibacterial Gendola, Escherichia coli, Staphylococcus aureus.

ABSTRAK

Daun gendola (Basella alba Linn var. rubra) telah lama dimanfaatkan sebagai alternatif pengobatan dalam mengatasi berbagai penyakit infeksi bakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi dan menentukan potensi aktivitas antibakteri paling baik dari tiga ekstrak daun gendola yang berbeda, yaitu ekstrak n-heksana, ekstrak etil asetat, dan ekstrak etanol 70% terhadap Staphylococcus aureus dan Escherichia coli. Penelitian ini menggunakan metode eksperimental laboratorium yang melibatkan ekstraksi maserasi dengan tiga pelarut berbeda dan pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi sumuran. Masing-masing ekstrak diuji pada lima konsentrasi yang berbeda (20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% b/v) dan dibandingkan dengan kontrol positif kloramfenikol 0,3% b/v serta kontrol negatif DMSO 10% v/v. Hasil penelitian menunjukkan bahwa hanya ekstrak n-heksana yang tidak memiliki aktivitas antibakteri. Sementara itu, ekstrak etil asetat dan ekstrak etanol 70% menunjukkan aktivitas antibakteri yang lebih efektif terhadap *Staphylococcus aureus* dibandingkan Escherichia coli, dengan potensi aktivitas antibakteri yang paling baik dimiliki oleh ekstrak etil asetat.

Kata kunci: Daun gendola, Gendola antibakteri, Escherichia coli, Staphylococcus aureus

Journal of Pharmaceutical and Sciences |Volume 6|No.4|OKT-DES|2023|pp.1831-1841 Electronic ISSN: 2656-3088 Homepage: https://www.journal-jps.com

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi merupakan penyebab kematian tertinggi kedua di Indonesia setelah penyakit tidak menular, dengan angka kematian sebesar 26,75% (CDC, 2021; Ningsih et al., 2022). konteks ini, Escherichia coli Dalam Staphylococcus aureus adalah dua dari lima bakteri patogen utama yang bertanggung jawab atas kematian akibat infeksi tersebut (Murray et al., 2022). Pengobatan infeksi umumnya melibatkan penggunaan antibiotik. Namun, penggunaan antibiotik yang tidak terkendali dan berlebihan dapat memiliki dampak serius, seperti resistensi bakteri terhadap antibiotik tertentu, yang menjadi permasalahan kesehatan global (Samsu, 2022; Setiawan et al., 2023). Salah satu langkah yang dapat diambil untuk mengatasi masalah ini adalah melalui penelitian lebih lanjut terhadap tumbuhan obat ataupun obat tradisional yang telah lama dimanfaatkan oleh masyarakat dalam mengobati berbagai penyakit yang disebabkan oleh bakteri (Darmawijaya, 2018).

Daun gendola (Basella alba Linn var. rubra) telah lama menjadi bagian integral dari penggunaan pangan dan obat alternatif di Indonesia. Tumbuhan ini telah terbukti bermanfaat dalam mengurangi risiko dan bahkan mengobati berbagai penyakit, termasuk infeksi bakteri. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak etanol dari daun gendola memiliki aktivitas antibakteri terhadap sejumlah bakteri, seperti Streptococcus viridans, Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Bacillus, Salmonella paratyphi, dan Vibrio cholera (Vimala & Keerthana, 2014; Kumar et al., 2018).

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas antibakteri dari tiga jenis ekstrak daun gendola, yaitu ekstrak n-heksana, ekstrak etil asetat, dan ekstrak etanol 70% terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Selain itu, tujuan lain dari penelitian ini adalah untuk menentukan jenis ekstrak daun gendola yang memiliki aktivitas antibakteri terbaik berdasarkan diameter zona hambat yang terbentuk terhadap kedua bakteri uji tersebut.

METODE PENELITIAN

Alat

Instrumen yang digunakan mencakup peralatan gelas (Iwaki®, Pyrex®), oven (Memmert®), tanur (Thermo Scientific Thermolyne F-48020-33®), blender, bejana maserasi, rotary vacuum

evaporator (Buchi R-100®), water bath (Memmert®), timbangan digital (Acis B-500®), timbangan analitik (Adventure Ohaus®), lemari pendingin, mikroskop, hot plate, autoklaf (Hirayama®), BSC, lampu spiritus, jarum ose, cawan petri (Anumbra®, Pyrex®), incubator shaker (B-one®), vortex (Thermo Scientific®), mikropipet (Dragon-Lab®), inkubator (B-one®), dan jangka sorong.

Bahan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun gendola segar (Basella alba Linn var rubra) yang dikumpulkan dari suatu lokasi di Depok, Jawa Barat. Bahan lain yang digunakan meliputi, aquadest (DMS®), etanol 70% (DMS®), amil alkohol (DMS®), NaCl, n-heksana (DMS®), etil asetat (DMS®), pereaksi Dragendorff (Nitra Kimia®), pereaksi Mayer (Nitra Kimia®), pereaksi Wagner (Nitra Kimia®), asam asetat anhidrat (Merck®), besi (III) klorida (Merck®), gelatin, serbuk Mg (Nitra Kimia®), pereaksi Liebermann-Burchard (DMS®), asam (Merck®), asam sulfat (Merck®), DMSO (Merck®), nutrient agar (Himedia®), aqua DM (Bratachem®), mueller hinton broth (Himedia®), mueller hinton (Himedia®), standard 0.5, agar McFarland kloramfenikol, Escherichia coli FNCC 0091 dan Staphylococcus aureus ATCC 6538.

Pembuatan Simplisia

Daun gendola yang segar dipisahkan dari bagian tanaman yang tidak digunakan atau kontaminan lainnya, kemudian dibersihkan dengan air mengalir sampai bersih dan diiris tipis. Irisan daun selanjutnya dikeringkan dengan cara dianginanginkan selama 5 hari dan dikeringkan menggunakan oven pada suhu 40oC selama 10 jam. Simplisia kering kemudian disortasi, dihaluskan menjadi serbuk, dan disimpan dalam wadah kering yang tertutup (Depkes RI, 1985; Sambode et al., 2022).

Pemeriksaan Organoleptik

Evaluasi organoleptik simplisia dilakukan dengan cara yang sederhana dan obyektif, menggunakan panca indera manusia untuk mendeskripsikan karakteristik simplisia, termasuk warna, bentuk, dan aroma (Depkes RI, 2000).

Susut Pengeringan

Dua gram simplisia ditimbang di dalam botol timbang dangkal bertutup yang telah

dipanaskan dalam oven pada suhu 105°C selama 30 menit dan ditara. Botol timbang dangkal dipanaskan kembali pada suhu yang sama selama 1 jam dengan tutup dibuka, didinginkan dalam desikator selama 15 menit dan ditimbang. Proses pemanasan diulangi setiap 30 menit hingga perbedaan antara dua penimbangan berturut-turut tidak lebih dari 0,25% (Depkes RI, 2000; Kemenkes RI, 2017; El'Kariem & Maesaroh, 2022).

Kadar Air

Dua gram simplisia diukur dalam krus porselen yang sebelumnya dipanaskan dalam oven pada suhu 105oC selama 30 menit, dan kemudian ditimbang. Krus tersebut dipanaskan kembali pada suhu yang sama selama 3 jam dengan tutupnya terbuka, didinginkan dalam desikator selama 15 menit, dan ditimbang kembali. Proses pengeringan diulangi setiap 1 jam hingga diperoleh berat yang konstan atau perbedaan antara dua penimbangan berturut-turut tidak melebihi 0,25% (Depkes RI, 2000; Kemenkes RI, 2017; Tuapattinaya et al., 2021).

Kadar Abu Total

Dua gram simplisia diukur ke dalam krus porselen tanpa tutup yang telah dipanaskan dalam oven pada suhu 105oC selama 30 menit dan ditimbang. Kemudian, krus tersebut dipanaskan perlahan-lahan dalam tanur pada suhu 600oC selama 3 jam hingga simplisia berubah menjadi abu. Setelah itu, abu didinginkan dalam desikator selama 15 menit dan ditimbang kembali. Proses pengabuan diulangi setiap 1 jam hingga diperoleh berat yang konstan atau perbedaan antara dua penimbangan berturut-turut tidak melebihi 0,25% (Depkes RI, 2000; Kemenkes RI, 2017; Mayasari & Laoli, 2018).

Pembuatan dan Karakterisasi Ekstrak

Serbuk simplisia dari daun gendola dimaserasi dengan pelarut etanol 70%, etil asetat, dan ndengan perbandingan 1:4 heksana. dilaksanakan pada suhu ruang selama 5 hari dengan pengadukan sekali sehari selama ±10 menit. Proses maserasi ini diulangi sebanyak 5 kali. Setelah masa maserasi selesai, maserat disaring, dan ekstrak cair diuapkan menggunakan rotary vacum evaporator pada suhu heating bath 40°C, suhu chiller 20°C, dan tekanan 200 mBar, Setelah ekstrak cair kemudian pelarut dikurangkan, diuapkan lebih lanjut menggunakan waterbath pada suhu 60°C hingga diperoleh ekstrak kental. Setiap ekstrak yang dihasilkan kemudian dikenai karakterisasi, termasuk pemeriksaan organoleptik dan perhitungan nilai rendemen (Depkes RI, 2000).

Uji Alkaloid

Sejumlah simplisia dan ekstrak dihangatkan dalam 10 mL larutan kloroform beramonia kemudian dan disaring. Filtrat selanjutnya dicampur dengan 1-2 mL asam sulfat pekat dan dikocok hingga terbentuk dua lapisan. Lapisan atas hasil pengocokan kemudian dibagi ke dalam tiga tabung reaksi, dan pada masing-masing tabung reaksi ditambahkan 2 tetes pereaksi Dragendorff, 2 tetes pereaksi Mayer, dan 2 tetes pereaksi Wagner. Terbentuknya endapan berwarna jingga, putih, atau kekuning-kuningan, dan coklat mengindikasikan keberadaan alkaloid dalam sampel. Sampel dianggap mengandung alkaloid jika hasil positif diperoleh pada paling tidak dua dari tiga pereaksi yang digunakan (Harborne, 1987; Endarini, 2016).

Uji Flavonoid

Simplisia dan ekstrak dipanaskan dalam 5 mL air suling dan kemudian disaring. Filtrat selanjutnya dicampur dengan 0,1 g serbuk Mg, 2 mL amil alkohol, dan 1 mL HCl pekat, lalu dikocok secara intensif. Terbentuknya warna jingga hingga merah pada lapisan amil alkohol (bagian atas) menandakan keberadaan flavonoid dalam sampel (Depkes RI, 1995; Mayasari & Laoli, 2018).

Uji Fenol

Simplisia dan ekstrak dipanaskan dalam 10 mL air suling dan kemudian disaring. Filtrat kemudian diberikan 4-5 tetes FeCl3 1%. Terbentuknya warna biru tua, hijau kehitaman, atau hitam pekat mengindikasikan keberadaan fenol dalam sampel (Ningsih et al., 2016; Fajrina et al., 2018).

Uji Saponin

Sejumlah simplisia dan ekstrak diaduk dengan 10 mL air suling panas dan disaring. Filtrat kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dikocok secara energik selama 10 detik. Jika terbentuk busa atau buih dengan ketinggian 1-10 cm dalam waktu tidak kurang dari 10 menit, dan buih tetap ada bahkan setelah penambahan 1 tetes HCl 2N, maka dapat disimpulkan bahwa sampel

mengandung saponin (Depkes RI, 1995; Mayasari & Laoli, 2018; Sambode et al., 2022).

Uji Tanin

Sejumlah simplisia dan ekstrak dipanaskan dalam 10 mL air suling dan disaring. Filtrat dimasukkan ke dalam dua tabung reaksi masingmasing dengan volume 2 mL. Pada tabung reaksi pertama, diberikan 1-2 tetes FeCl3 10%. Terbentuknya warna hijau, coklat kehijauan, hijau kehitaman, atau biru kehitaman menunjukkan keberadaan tanin dalam sampel (Depkes RI, 1995; Mayasari & Laoli, 2018; Sambode et al., 2022). Pada tabung reaksi kedua, ditambahkan larutan gelatin 1% yang mengandung NaCl 10%. Terbentuknya endapan putih mengindikasikan keberadaan tanin dalam sampel (Endarini, 2016). Sampel dianggap mengandung tanin jika hasil positif diperoleh dari kedua percobaan tersebut.

Uji Steroid dan Triterpenoid

Sejumlah simplisia dan ekstrak dimaserasi menggunakan 20 mL n-heksana selama 2 jam, kemudian disaring. Filtrat diuapkan dalam cawan penguap, dan pereaksi Liebermann-Burchard diteteskan pada sisa filtrat. Terbentuknya warna biru, biru kehijauan, atau hijau kehitaman menunjukkan keberadaan steroid dalam sampel, sementara warna merah muda, merah, atau ungu mengindikasikan adanya triterpenoid dalam sampel (Harborne, 1987; Mayasari & Laoli, 2018; Sambode et al., 2022).

Uji Aktivitas Antibakteri

Pembuatan Stok Kultur Bakteri Uji

Sebanyak satu ose bakteri uji diaplikasikan dengan teknik aseptis pada permukaan media NA miring, setelah itu ditempatkan dalam inkubator pada suhu 37oC selama 18-24 jam (Brown & Smith, 2015; Nurhanifah et al., 2022).

Pewarnaan Gram Bakteri Uji

Kaca objek disemprotkan dengan etanol 70% dan dipanaskan di atas lampu spiritus hingga etanol menguap. Sebanyak satu tetes aqua DM steril diaplikasikan di atas kaca objek dan digunakan untuk menyuspensikan satu ose biakan bakteri uji. Selanjutnya, preparat dijepit di atas lampu spiritus untuk proses fiksasi. Pewarna kristal violet diteteskan pada area apusan, dibiarkan selama 30 detik, dan kemudian dibilas dengan aqua DM steril. Lugol diteteskan pada area yang

sama, dibiarkan selama 1 menit, dan kemudian dibilas kembali. Decolorizer diteteskan, dibiarkan selama 5-15 detik, dan diikuti dengan pembilasan hingga sisa pewarna kristal violet larut. Pewarna safranin diteteskan, dibiarkan selama 1 menit, dan selanjutnya dibilas. Setelah itu, preparat apusan bakteri dikeringkan, ditetesi minyak imersi, dan diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000x (Brown & Smith, 2015).

Pembuatan Kontrol Positif dan Kontrol Negatif

Kontrol positif kloramfenikol 0,3% (b/v) disiapkan dengan melarutkan 30 mg kloramfenikol dalam aqua DM steril hingga mencapai volume 10 mL. Sehingga, setiap 10 μL dari larutan ini mengandung 30 μg kloramfenikol, diharapkan memiliki potensi antibakteri setara dengan standar konsentrasi kloramfenikol sesuai dengan pedoman CLSI, yaitu 30 μg/disk (Widiastuti et al., 2017; CLSI, 2021). Sementara itu, kontrol negatif DMSO 10% (v/v) dibuat dengan mencampur 1 mL DMSO 100% dengan aqua DM steril hingga mencapai volume 10 mL, kemudian dikocok hingga homogen.

Pembuatan Larutan Uji

Larutan stok disiapkan dengan cara melarutkan setiap 10 g ekstrak daun gendola dalam 10 mL DMSO 10% (v/v) dan diaduk hingga homogen, menghasilkan larutan uji dengan konsentrasi 100% (b/v). Larutan stok ini kemudian diencerkan dengan menambahkan DMSO 10% (v/v) untuk mendapatkan larutan uji dengan konsentrasi 80%, 60%, 40%, dan 20% (b/v).

Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Sejumlah 1 ose (unit kepadatan optik sel) dari biakan bakteri uji diresuspensikan dalam 5 mL MHB steril, kemudian diinkubasi menggunakan incubator shaker pada suhu 37oC dan kecepatan 180 rpm selama 24 jam (Warsito et al., 2021). Setelah periode inkubasi, suspensi bakteri uji diencerkan dengan menambahkan MHB steril secara bertahap hingga mencapai tingkat kekeruhan yang sama secara visual dengan larutan standar McFarland 0,5.

Pengujian Aktivitas Antibakteri Ekstrak

Sebanyak 10 mL MHA steril dituangkan ke dalam cawan petri steril dan dibiarkan hingga mengeras, kemudian baja pencadang ditempatkan di atasnya. Setelah sisa MHA tidak terlalu panas (<50oC), suspensi bakteri uji setara dengan standar McFarland 0,5 dicampurkan dengan 1% jumlah

MHA tersebut. Kemudian, 15 mL media MHA yang telah disuspensikan dengan bakteri uji dituangkan ke dalam cawan petri yang sama. Setelah pengerasan, baja pencadang dicabut untuk membentuk sumuran berdiameter 8 mm. Setiap sumuran diisi dengan 100 µL larutan ekstrak uji, 100 µL kontrol negatif, dan 10 µL kontrol positif menggunakan mikropipet. Cawan petri kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37oC selama 18-24 jam. Setelah inkubasi selesai, zona bening di sekitar sumuran diukur dengan jangka sorong, dan diameter zona hambat yang dihasilkan digunakan untuk menentukan aktivitas antibakteri berdasarkan kategori daya hambat menurut Davis dan Stout (1971) pada Tabel 1. Uji aktivitas antibakteri untuk setiap ekstrak dan bakteri diulang sebanyak tiga kali.

Tabel 1. Kategori daya hambat (Davis & Stout, 1971).

Daya Hambat	Diameter Zona Hambat (mm)
Lemah	≤5
Sedang	6-10
Kuat	11-20
Sangat Kuat	≥21

HASIL DAN DISKUSI

Dalam penelitian ini, digunakan gendola segar yang telah diidentifikasi di Herbarium Bogoriense, Direktorat Pengelolaan Koleksi Ilmiah BRIN Cibinong, Jawa Barat. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa sampel yang digunakan merupakan spesies gendola (Basella alba Linn, sinonim dari Basella rubra Linn) dari suku Basellaceae. Langkah berikutnya melibatkan pembuatan dan karakterisasi simplisia, yang rinciannya dapat ditemukan pada Tabel 2. Hasil evaluasi organoleptik terhadap simplisia daun gendola pada penelitian ini menguatkan temuan sebelumnya yang menyatakan bahwa simplisia daun gendola memiliki tekstur halus, warna berkisar antara hijau tua hingga coklat tua, dan tidak memiliki aroma yang khas (Singh et al., 2016). Sementara nilai susut pengeringan dan kadar air simplisia daun gendola yang dihasilkan telah memenuhi persyaratan umum simplisia yang

ditetapkan dalam Farmakope Herbal Indonesia, tetapi nilai kadar abu totalnya melebihi persyaratan umum simplisia yang ditetapkan dalam Materia Medika Indonesia (Depkes RI, 1989; Kemenkes RI, 2017). Akan tetapi, nilai kadar abu total simplisia tersebut tidak jauh berbeda dari nilai kadar abu total simplisia yang dilaporkan oleh Kumar dkk. (19%) dan masih lebih rendah dari yang dilaporkan oleh Singh dkk. (27.192%) (Kumar et al., 2013; Singh et al., 2016).

Ekstrak daun gendola dibuat melalui metode maserasi dengan tiga pelarut berbeda sehingga dihasilkan tiga ekstrak dengan ciri organoleptik dan nilai rendemen yang dapat dilihat pada Tabel 3. Dari ketiga ekstrak daun gendola yang diperoleh, nilai rendemen tertinggi dimiliki oleh ekstrak etanol 70%. Rendemen ekstrak daun gendola yang dihasilkan dalam penelitian ini konsisten dengan temuan penelitian sebelumnya yang mencatat bahwa ekstrak etanol dari daun gendola memiliki kecenderungan memberikan rendemen yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak menggunakan pelarut daun gendola vang lainnya (Chan et al., 2022). Tingginya rendemen ekstrak etanol 70% dapat diperkirakan disebabkan oleh sifat pelarut etanol 70% yang mampu melarutkan berbagai jenis senyawa metabolit sekunder, termasuk yang bersifat polar, semi-polar, dan non-polar. Oleh karena itu, ekstrak yang dihasilkan cenderung mengandung senyawa yang lebih beragam dan memiliki nilai rendemen yang lebih tinggi (Haryoto & Frista, 2019). Dugaan tersebut sejalan dengan hasil skrining fitokimia yang tertera pada Tabel 4, di 70% mana ekstrak etanol menunjukkan keberagaman senyawa metabolit sekunder yang hampir sama dengan simplisianya, termasuk alkaloid, flavonoid, fenol dan saponin, sesuai dengan penelitian sebelumnya tetapi terdeteksi adanya tanin (Singh et al., 2016; Arya et al., 2021). Pada ekstrak etil asetat teridentifikasi adanya senyawa alkaloid dan steroid, sementara pada ekstrak n-heksana hanya terdeteksi senyawa triterpenoid. Perlu dicatat bahwa deteksi senyawa pada skrining fitokimia ini tidak memberikan informasi mengenai tingkat konsentrasi yang signifikan. Oleh karena itu, analisis lebih lanjut diperlukan untuk menentukan kandungan kuantitatif dari masing-masing senyawa tersebut.

Tabel 2. Hasil karakterisasi simplisia

Parameter Mutu	Hasil (Rata-rata ± SD)	Syarat	Acuan
Susut Pengeringan	9,267% ± 0,002	≤10%	FHI, 2017
Kadar Air	7,733% ± 0,001	≤10%	FHI, 2017
Kadar Abu Total	18,867% ± 0,001	≤15%	MMI, 1989

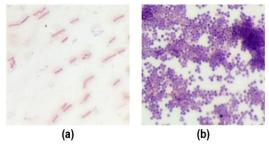
Tabel 3. Hasil karakterisasi dan rendemen ekstrak

Ekstrak	Organoleptik	Rendemen
Ekstrak n-Heksana	Ekstrak kental, coklat kekuningan, tidak ada bau tertentu	3,383%
Ekstrak Etil Asetat	Ekstrak kental, coklat kehijauan, tidak ada bau tertentu	6,074%
Ekstrak Etanol 70%	Ekstrak kental, coklat pekat, tidak ada bau tertentu	21,892%

Tabel 4. Hasil skrining fitokimia sampel

Golongan	Daraakai	Cimpliaia	Ekstrak		
Senyawa	Pereaksi	Simplisia	n-Heksana	Etil Asetat	Etanol
Alkaloid	Dragendorff	+	-	+	+
	Mayer	+	-	+	+
	Wagner	+	-	+	+
Flavonoid	HCl pekat	+	-	-	+
Fenol	FeCl₃ 10%	+	-	-	+
Saponin	HCI 2N	+	-	-	+
Tanin	FeCl₃ 1%	+	-	-	+
	Larutan gelatin	-	-	-	-
Steroid	Liebermann-	+	-	+	-
Triterpenoid	Burchard	-	+	-	+

Keterangan: (+): Menunjukkan hasil positif; (-): Menunjukkan hasil negatif



Gambar 1. Pewarnaan Gram Escherichia coli (a) dan Staphylococcus aureus (b)

Persiapan dan pewarnaan Gram bakteri uji merupakan langkah penting sebelum dilakukannya uji aktivitas antibakteri. Berdasarkan hasil pewarnaan Gram bakteri uji pada **Gambar 1**, preparat apusan *Escherichia coli* menunjukkan bahwa bakteri ini memiliki bentuk batang, tersusun

secara tunggal, dan dinding sel bakteri berwarna merah muda pada mikroskop. Sementara preparat apusan *Staphylococcus aureus* menunjukkan bahwa bakteri ini memiliki bentuk bulat, tersusun dalam kelompok seperti anggur, dan dinding sel bakteri berwarna ungu pada mikroskop. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa *E. coli* bersifat Gram negatif, sedangkan *S. aureus* bersifat Gram positif.

Aktivitas antibakteri ekstrak daun gendola diuji melalui metode difusi sumuran (well-diffusion). Keberadaan kedua bakteri uji sebagai bakteri anaerob fakultatif, dapat tumbuh dengan atau tanpa oksigen, menjadi dasar terpilihnya metode difusi sumuran karena dengan metode tersebut bakteri uji dapat tetap tumbuh meskipun diinokulasi dalam media MHA (Rollando, 2019). Dalam penelitian ini, masing-masing ekstrak daun gendola diuji pada lima konsentrasi berbeda, yaitu 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% (b/v). Sebagai pembanding, digunakan kontrol positif berupa kloramfenikol 0,3% (b/v) dan kontrol negatif DMSO 10% (v/v). Kloramfenikol 0,3% (b/v) dipilih sebagai kontrol positif karena termasuk dalam kategori antibiotik spektrum luas yang efektif melawan bakteri Gram positif dan Gram negatif, seperti S. aureus dan E. coli (Dwicahyani et al., 2018). Sebagai kontrol negatif, DMSO 10% (v/v) dipilih karena memiliki sifat yang mampu melarutkan senyawa baik yang bersifat polar maupun non-polar, larut dalam berbagai pelarut organik, dan tidak memiliki sifat bakterisida atau antibakteri. Dengan demikian, DMSO dapat digunakan sebagai pelarut tanpa menghambat pertumbuhan bakteri, yang dapat aktivitas mempengaruhi penilaian antibakteri ekstrak (Octaviani, 2022).

hasil Berdasarkan pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun gendola yang terdokumentasi pada Tabel 5, dapat disimpulkan bahwa hanya ekstrak n-heksana yang tidak menunjukkan kemampuan untuk membentuk zona hambat terhadap pertumbuhan kedua bakteri uji. Dalam konteks kategori daya hambat, sesuai dengan klasifikasi David dan Stout (1971) yang tercantum dalam Tabel 1, aktivitas antibakteri dari ekstrak n-heksana daun gendola pada semua konsentrasi yang diuji dapat dikategorikan sebagai memiliki daya hambat yang lemah, sebab tidak terbentuk zona hambat. Penyebab lemahnya aktivitas antibakteri tersebut diduga karena kehadiran senyawa terpenoid nonpolar yang mungkin tidak memiliki aktivitas antibakteri cukup kuat untuk menghambat pertumbuhan bakteri uji. Selain itu, sifat pelarut n-heksana yang dapat mengekstraksi senyawa minyak dan lipida lain berukuran molekul besar, juga menjadi dugaan lain yang menyebabkan penetrasi senyawa terpenoid tersebut menjadi terhambat dan tidak dapat menembus dinding sel bakteri uji (Saini *et al.*, 2021).

Ekstrak etil asetat dan ekstrak etanol 70%. berbeda dengan ekstrak n-heksana, menunjukkan kemampuan untuk membentuk zona hambat terhadap pertumbuhan kedua bakteri uji. Fenomena ini dapat disebabkan oleh keberadaan senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak yang memiliki sifat antibakteri, seperti alkaloid, flavonoid, dan senyawa metabolit sekunder lainnya terdeteksi melalui skrining fitokimia (Akinniyi et al., 2019). Analisis data pada Tabel 5, dan merujuk kategori daya hambat yang menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat memberikan penghambatan yang lebih efektif dibandingkan dengan ekstrak etanol 70%, meskipun perbedaan dalam efek penghambatan ini tidak begitu signifikan. Aktivitas antibakteri yang lebih unggul dari ekstrak etil asetat mungkin terjadi karena adanya interaksi sinergis antara senyawa alkaloid dan steroid sebagai agen antibakteri, bekerja bersama-sama dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji. Sebagai agen antibakteri, alkaloid berfungsi dengan cara mengganggu komponen peptidoglikan penvusun pada sel bakteri. menyebabkan lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh, dan menginduksi kematian sel. Di sisi lain, steroid berinteraksi dengan membran fosfolipid sel yang permeabel terhadap senyawa-senyawa lipofilik, menyebabkan kerusakan pada membran lipid, penurunan integritas membran, perubahan morfologi membran sel. yang akhirnya menyebabkan kebocoran liposom, membuat sel meniadi rapuh, mengalami dan (Helilusiatiningsih, 2020; Agatha et al., 2021). Sebaliknya, ekstrak etanol 70%, yang mengandung senyawa metabolit sekunder lebih beragam, menunjukkan aktivitas antibakteri yang lebih rendah. Hal ini mungkin disebabkan oleh kurangnya sinergi antara senyawa metabolit sekunder dalam perannya sebagai antibakteri atau tidak semua senyawa metabolit sekunder tersebut memiliki sifat antibakteri, sehingga daya hambat yang diberikan oleh ekstrak etanol 70% tidak sebesar ekstrak etil asetat.

Tabel 5. Rata-rata diameter zona hambat ekstrak daun gendola terhadap *S. aureus* dan *E. coli*

	Konsentrasi	E. coli		S. aureus	
Ekstrak		Diameter Zona Hambat (mm)	Kategori	Diameter Zona Hambat (mm)	Kategori
Ekstrak n-Heksana	20%	$0 \pm 0,000$	L	$0 \pm 0,000$	L
	40%	$0 \pm 0,000$	L	$0 \pm 0,000$	L
	60%	$0 \pm 0,000$	L	$0 \pm 0,000$	L
	80%	$0 \pm 0,000$	L	$0 \pm 0,000$	L
	100%	$0 \pm 0,000$	L	$0 \pm 0,000$	L
Ekstrak Etil Asetat	20%	$0 \pm 0,000$	L	10,120 ± 0,243	K
	40%	$0 \pm 0,000$	L	11,720 ± 0,105	K
	60%	13,813 ± 0,122	K	14,640 ± 0,160	K
	80%	14,333 ± 0,061	K	19,813 ± 0,175	K
	100%	16,300 ± 0,092	K	22,373 ± 0,166	SK
Ekstrak Etanol	20%	$0 \pm 0,000$	L	12,613 ± 0,061	K
70%	40%	$0 \pm 0,000$	L	13,827 ± 0,162	K
	60%	$0 \pm 0,000$	L	15,800 ± 0,144	K
	80%	12,533 ± 0,061	K	16,587 ± 0,201	K
	100%	14,567 ± 0,277	K	18,080 ± 0,144	K
DMSO (K-)	10%	$0 \pm 0,000$	L	$0 \pm 0,000$	L
Kloramfenikol (K+)	0,3%	23,093 ± 0,122	SK	26,027 ± 0,220	SK

Keterangan:

Dalam penelitian ini, selain senyawa metabolit sekunder, variasi konsentrasi juga memegang peran krusial dalam mempengaruhi diameter zona hambat yang terbentuk. Data pada Tabel 5 menunjukkan bahwa terdapat peningkatan diameter zona hambat seiring dengan peningkatan konsentrasi larutan ekstrak yang diuji, terutama pada ekstrak etil asetat dan ekstrak etanol 70%. Meskipun demikian, beberapa konsentrasi mungkin tidak mampu sepenuhnya menghambat pertumbuhan E. coli maupun S. aureus. Temuan ini konsisten dengan konsep bahwa semakin tinggi konsentrasi larutan ekstrak yang diuji, semakin kuat kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan bakteri, karena jumlah agen antibakteri yang terkandung dalamnya diasumsikan menjadi lebih banyak (Hidayah et al., 2016; Armansyah et al., 2022).

Dalam konteks hasil penelitian aktivitas antibakteri ekstrak daun gendola yang tercantum pada Tabel 5, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etil asetat dan ekstrak etanol 70% menunjukkan efektivitas yang lebih tinggi dalam menghambat pertumbuhan S. aureus dibandingkan E. coli. Dugaan atas perbedaan efek penghambatan ini terkait dengan karakteristik komposisi dan struktur dinding sel yang berbeda pada kedua bakteri uji tersebut. Bakteri gram positif, seperti S. aureus, memiliki struktur sel yang relatif sederhana dengan kandungan lipid yang rendah, polisakarida, dan peptidoglikan yang tebal (20-80 mm). Oleh karena itu, senyawa antibakteri diduga dapat lebih mudah menembus ke dalam sel bakteri. Sebaliknya, bakteri gram negatif, seperti E. coli, memiliki struktur sel yang lebih kompleks dengan lapisan luar lipoprotein, lapisan tengah lipopolisakarida, lapisan dalam peptidoglikan (5-10 mm), dan membran luar berupa bilayer, memberikan tingkat ketahanan yang lebih tinggi terhadap senyawa antibakteri untuk dapat menembus ke dalam sel (Dwicahyani et al., 2018; Handayani et al., 2020). Dengan demikian, perbedaan dalam komposisi dan struktur dinding sel antara S. aureus dan E. coli menjadi faktor yang mendasari efektivitas lebih

L: Diameter zona hambat termasuk kategori aktivitas antibakteri lemah

S: Diameter zona hambat termasuk kategori aktivitas antibakteri sedang

K: Diameter zona hambat termasuk kategori aktivitas antibakteri kuat

SK: Diameter zona hambat termasuk kategori aktivitas antibakteri sangat kuat

tinggi dari ekstrak etil asetat dan ekstrak etanol 70% terhadap ketahanan sel bakteri Gram positif *S. aureus* dibandingkan dengan bakteri Gram negatif *E. coli*, sesuai dengan temuan yang telah dilaporkan oleh Dwicahyani dkk. (2018) dan Handayani dkk. (2020).

Selain fokus pada kelompok uji, penelitian ini juga memberikan perhatian khusus terhadap kelompok kontrol. Menurut data yang terdapat dalam Tabel 5, diketahui bahwa kontrol negatif DMSO 10% (v/v) tidak menunjukkan adanya zona hambat terhadap pertumbuhan E. coli dan S. aureus. Oleh karena itu, DMSO 10% yang digunakan sebagai pelarut dalam pembuatan larutan uji ternyata tidak memiliki aktivitas penghambatan terhadap pertumbuhan kedua bakteri uji tersebut, sehingga dapat disimpulkan bahwa penggunaan DMSO 10% tidak memberikan dampak pada hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak gendola. Sebaliknya, kontrol kloramfenikol 0,3% (b/v) menunjukkan nilai diameter hambat rata-rata zona yang mencerminkan aktivitas antibakterinya yang sangat kuat atau sensitif terhadap E. coli dan S. aureus. Mekanisme kerja kloramfenikol terlibat dalam penghambatan sintesis protein pada bakteri, di mana kloramfenikol berikatan secara reversibel dengan subunit 50S ribosom bakteri. Selain itu, kloramfenikol juga menghambat pembentukan protein dengan menghambat aktivitas enzim peptidil transferase dalam proses pembentukan ikatan peptida oleh tRNA. Akibatnya, pertumbuhan dan perkembangan bakteri terhambat (Katzung, 2018; Anggita et al., 2022).

KESIMPULAN

Dari ketiga ekstrak daun gendola yang diuji, hanya ekstrak n-heksana yang tidak menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap kedua bakteri yang diuji. Sebaliknya, ekstrak etil asetat dan ekstrak etanol 70% menunjukkan aktivitas antibakteri lebih efektif terhadap yang Staphylococcus aureus dibandingkan dengan Escherichia coli. Potensi aktivitas antibakteri terbaik dimiliki oleh ekstrak etil asetat, di mana pada konsentrasi 100%, aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat tergolong kuat terhadap Escherichia coli $(16,300 \pm 0.092 \text{ mm})$ dan sangat kuat terhadap Staphylococcus aureus (22,373 \pm 0,166 mm).

REFERENSI

- Agatha, V., Kurnia, C., & Sugiaman, V. K. (2021).
 Aktivitas antibakteri ekstrak kulit jeruk nipis
 (Citrus aurantifolia) terhadap bakteri
 Prevotella intermedia. Jurnal Kedokteran Gigi
 Universitas Padjadjaran, 33(2), 167-173.
- Akinniyi, G., Adewale, S., Adewale, O., & Adeyiola, I. (2019). Qualitative phytochemical screening and antibacterial activities of *Basella alba* and *Basella rubra*. *Journal of Pharmacy* & *Bioresources*, 16(2), 133.
- Anggita, D., Nurisyah, S., & Wiriansya, E. P. (2022). Mekanisme Kerja Antibiotik. *UMI Medical Journal*, 7(1), 46-58.
- Armansyah, T., Sutriana, A., & Hanif, M. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak N-Heksana, Etil Asetat, dan Etanol Daun Sirih Merah terhadap Bakteri *Escherichia coli* secara *In Vitro*. *Buletin Veteriner Udayana*, 158, 382.
- Arya, H., Mohan, C., Pandey, S., Verama, M., & Kumar, V. (2021). Phytochemical screening of *Basella alba* leaves extracts and evaluate its efficacy on sun burn (Sun Protection Factor). *European Journal of Molecular & Clinical Medicine*, 8(1), 417-423.
- Brown, A., & Smith, H. (2015). Benson's Microbiological Applications: Laboratory Manual in General Microbiology (13th Edition). New York: McGraw-Hill Education.
- CDC (Centers for Disease Control and Prevention). (2021). CDC in Indonesia. CDC, 1–2. www.cdc.gov/globalhealth/countries/indonesia.
- Chan, S. M., Fong, V. Y., Koo, S. Y., Singh, T. R., Tang, E. H., Thoo, L. T., & Sit, N. W. (2022). Antibacterial Activity of Selected Medicinal Plants From Malaysia. *Asia Pac. J. Sci. Technol*, 27(1), 1-10.
- CLSI. (2020). CLSI M100-ED29: 2021 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 30th Edition. Pennsylvania: CLSI.
- Darmawijaya, I. P. (2018). Potensi Antibakteri Pada Beberapa Tanaman Obat Yang Tercatat Dalam Lontar Usada Taru Premana. *J. Med.Sains*, 2(1), 43–47.
- Davis, W. W., & Stout, T. R. (1971). Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay: I. Factors Influencing Variability and Error. Applied Microbiology. *Journal Of Microbiology*, 22, (4), 659-665.
- Depkes RI. (1985). *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

- Depkes RI. (1989). *Materia Medika Indonesia* Jilid V. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Depkes RI. (1995). *Materia Medika Indonesia* Jilid VI. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan.
- Depkes RI. (2000). Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat Edisi I. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, Direktorat Pengawasan Obat Tradisional, Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Dwicahyani, T., Sumardianto, & Rianingsih, L. (2018). Uji Bioaktivitas Ekstrak Teripang Keling Holothuria atra Sebagai Antibakteri Staphylococcus aureus dan Escherichia coli. Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan, 7(1), 15-24.
- El'Kariem, V., & Maesaroh, I. (2022). Standarisasi Mutu Simplisia Jahe (*Zingiber officinale roscoe*) dengan Pengeringan Sinar Matahari dan Oven. *HERBAPHARMA: Journal of Herb Pharmacological*, 4(1), 1-10.
- Endarini, L.H. (2016). *Farmakognisi dan Fitokimia*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Fajrina, A., Bakhtra, D. D., & Irenda, Y. (2018). Uji Aktivitas Antibakteri Ektrak Etil Asetat Spons Aplysina aerophoba Pada Helicobacter pylori dan Shigella dysenteriae. Jurnal Farmasi Higea, 10(2), 134-142.
- Handayani, S. N., Purwanti, A., Windasari, W., & Ardian, M. N. (2020). Uji Fitokimia dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kencana Ungu (*Ruellia tuberosa* L.). *Walisongo Journal of Chemistry*, 3(2), 66-70.
- Harborne, J. B. (1987). *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan* (Edisi 2). Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Bandung: ITB Press.
- Haryoto, H., & Frista, A. (2019). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol, Fraksi Polar, Semi polar Dan Non Polar Dari Daun Mangrove Kacangan (*Rhizophora apiculata*) Dengan Metode DPPH dan FRAP. *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 2(2), 131-138.
- Helilusiatiningsih, N. (2021). Aktivitas Antioksidan Ektrak Metanol dan Air Teh Herbal Pokak (*Solanum torvum*) Terhadap Antibakteri Patogen. *Buana Sains*, 20(2), 161-170.

- Hidayah, W. W., Kusrini, D., & Fachriyah, E. (2016). Isolasi, Identifikasi Senyawa Steroid Dari Daun Getih-Getihan (*Rivina humilis* L.) Dan Uji Aktivitas Sebagai Antibakteri. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 19(1), 32-37.
- Kemenkes RI. (2017). Farmakope Herbal Indonesia Edisi II. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Kumar, D., Jagarwai, P., & Shrama, R. A. (2018). Phytochemical Screening and Antimicrobial Activity of *Basella alba* Linn. *IJRPC*, 8(4), 502–507.
- Kumar, S., Prasad, A. K., Iyer, S. V., & Vaidya, S. K. (2013). Systematic pharmacognostical, phytochemical and pharmacological review on an ethno medicinal plant, *Basella alba L. Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*, 5(4), 53–58.
- Mayasari, U., & Laoli, M. T. (2018). Karakterisasi Simplisia Dan Skrining Fitokimia serta Analisis secara KLT (Kromatografi Lapis Tipis) Daun dan Kulit Buah Jeruk Lemon (*Citrus Limon* (L.) Burm. f.). *Klorofil*, 2(1), 7– 13.
- Murray, C. J., Ikuta, K. S., Sharara, F., Swetschinski, L., Robles Aguilar, G., Gray, A., ... Naghavi, M. (2022). Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *The Lancet*, 399(10325), 629–655.
- Ningsih, I., Tjampakasari, C. R., & Dewi, B. E. (2022). Potensi Berbagai Ekstrak Tanaman sebagai Antibakteri terhadap *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) secara *In Vitro. Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*, 11(1), 1–10.
- Ningsih, R. D., Zusfahair & Kartika, D. (2016). Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Serta Uji Aktivitas Ekstrak Daun Sirsak Sebagai Antibakteri. *Molekul*. 2 (1), 101-111.
- Nurhanifah, Ratnah, St., & Pakadang, S. R. (2022).
 Potensi Antibakteri Ekstrak Daun Kopasanda (*Chromolaena odorata* L) Terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus. Jurnal Kefarmasian Akfarindo*, 7(2), 94-99.
- Octaviani, M. (2022). Antibacterial activity of fraction of *Allium cepa* L. Tubers. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 9(1), 56-65.
- Rollando. (2019). *Senyawa Antibakteri dari Fungi Endofit*. Malang: CV. Seribu Bintang.

- Saini, R. K., Prasad, P., Shang, X., & Keum, Y. S. (2021). Advances in Lipid Extraction Methods—A Review. *Int. J. Mol. Sci.* 2021, 22 (24), 13643.
- Sambode, Y. C., Simbala, H., & Rumondor, E. (2022). Penentuan Skrining Fitokimia, Parameter Spesifik dan Non Spesifik Ekstrak Umbi Bawang Hutan (*Eleutherine americana* Merr). *PHARMACON*, 11(2), 1389-1394.
- Samsu, N. (2022). Strategies to Combat Antibiotic Resistance. *Jurnal Klinik dan Riset Kesehatan*, 2(1), 205-207.
- Setiawan, F., Fadillah, C. A., Wafa, F. N., Hendari, M. R., Putri, S. G., Nurhayati, T., & Febriyanti, Y. (2023). Penyuluhan Penggunaan Antibiotik yang Tepat dan Benar Dalam Upaya Pencegahan Resistensi Antibiotik. *JMM (Jurnal Masyarakat Mandiri)*, 7(4), 3681-3689.
- Singh, M., Kumari, R., Nandini, D., & Kotecha, M. (2016). Preliminary phytochemical screening of Basella rubra Linn. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 5(4), 224–226.
- Tuapattinaya, P. M. J., Simal, R., & Warella, J. C. (2021). Analisis Kadar Air dan Kadar Abu Teh Berbahan Dasar Daun Lamun (*Enhalus acoroides*). *BIOPENDIX: Jurnal Biologi, Pendidikan dan Terapan*, 8(1), 16-21.
- Vimala, J. R., & Keerthana, S. (2014). Preliminary Phytochemical Screening and Antibacterial Activity on *Basella Alba L. Int. J. Res. Dev. Pharm. L. Sci.*, 3(6), 1295-1299.
- Warsito, M. F., Untari, F., Prasetyoputri, A., Rachman, F., Septiana, E., Bayu, A., ... & Putra, M. Y. (2021). Antibacterial and Antioxidant Activities of Ginger Essential Oils. *Microbiology Indonesia*, 15(4), 119-127.
- Widiastuti, R., Nurhaeni, F., Marfuah, D. L., & Wibowo, G. S. (2017). Potensi Antibakteri Dan Anticandida Ekstrak Etanol Daun Pegagan (Centella asiatica (L) Urb.). Jurnal Ilmu Kesehatan Bhakti Setya Medika, 1(4).