

ANALISIS AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN ANDULPAK (*Homalanthus populneus* (Geiseler) Pax) TERHADAP BAKTERI PATOGEN

Eltia Widia Azhari, Martina Restuati, Fitri Azura Br lubis

Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri
Medan

Email Korespondensi: eltiaazhari05@gmail.com

Abstract

This study aims to determine the antibacterial activity of ethanol extracts of old leaves and young leaves of andulpak, determine the concentration of ethanol extracts of andulpak leaves that provide a strong category as antibacterial, and determine the difference in the value of antibacterial activity of ethanol extracts of old leaves with young leaves of andulpak against pathogenic bacteria (*Escherichia coli*, *Salmonella* sp. and *Bacillus cereus*). The antibacterial activity test was carried out by disc diffusion method using concentrations of 20%, 40%, 60%, 80% and 100%. Extraction was carried out by maceration method using Pro Analisis ethanol solvent. Data analysis on the antibacterial activity of ethanol extracts of old leaves and young leaves of andulpak is descriptive quantitative while to determine the difference in the value of antibacterial activity of ethanol extracts of old leaves with young leaves of andulpak using analysis of variance (ANOVA) followed by the Tukey test. The results showed that the extracts of old leaves and young leaves of andulpak have antibacterial activity. Old leaves that show a strong category as antibacterial at concentrations of 20%-100% against *E. coli* bacteria, 40%-100% against *Bacillus cereus* bacteria. Young leaves that show a strong category as antibacterial at concentrations of 40%-100% against *E. coli*, 60%-100% against *Salmonella* sp, and 20%-100% against *Bacillus cereus*. The results of the ANOVA test and Tukey's further test showed that there was a significant difference in the antibacterial activity of old leaf extracts with young leaves of andulpak against *Salmonella* sp. bacteria at concentrations of 60%, 80%, and 100%, but there was no significant difference in the antibacterial activity of old leaf extracts with young leaves of andulpak against *Escherichia coli* and *Bacillus cereus* bacteria.

Keywords:

Antibacteria,
Andulpak,
Patogen

Pendahuluan

Bakteri patogen merupakan salah satu agen penyebab keracunan pangan yang menyebabkan penyakit seperti diare, muntaber, dan infeksi saluran pencernaan pada manusia. Kasus penyakit seperti ini banyak terjadi di negara-negara berkembang dengan standar hidup yang rendah termasuk Indonesia. Penyakit yang disebabkan bakteri patogen merupakan salah satu penyebab kematian di dunia. Data Survei Kesehatan Rumah Tangga Indonesia menyebutkan penyakit diare merupakan penyebab kematian kedua pada bayi dan kelima untuk semua umur, hasil Riskesdas menunjukkan ada 30.775 kasus diare (Tresna *et al.*, 2020).

Bakteri *Escherichia coli*, *Salmonella* sp. dan *Bacillus cereus* yang merupakan bakteri patogen, dimana *Escherichia coli* dan *salmonella* sp. merupakan bakteri gram negatif. Sedangkan bakteri *Bacillus cereus* merupakan bakteri gram positif yang menimbulkan keracunan pada makanan. *Escherichia coli* yang termasuk bakteri gram negatif dan termasuk dalam flora normal usus manusia,

dan beberapa strain *E.coli* bersifat patogen penyebab diare (Savira & Trimulyono, 2021). Penelitian dilakukan dan menemukan bahwa *Bacillus cereus* pada makanan dan susu segar masih mampu bertahan selama proses pengolahan karena sporanya tahan terhadap panas dan pemasakan biasa. Dari 98 wabah terdaftar di UE pada tahun 2018, *Bacillus cereus* menduduki peringkat keempat setelah *Salmonella* sp. sebagai wabah keracunan makanan dan air (Dietrich *et al.*, 2021).

Saat ini sudah banyak bakteri patogen yang resistensi terhadap antibiotik, hal ini dikarenakan pemberian antibiotik yang kurang tepat dosisnya. Pencarian antimikroba baru untuk mengatasi masalah resistensi telah lama menjadi prioritas penelitian utama terkhususnya pada industri farmasi. Upaya dalam menurunkan angka resistensi antibiotik adalah penggunaan antibiotik berbahan dasar alami dari tumbuhan.

Indonesia memiliki keanekaragaman hayati yang sangat tinggi. Keanekaragaman hayati yang dimiliki dimanfaatkan sebagai bahan dasar obat-obatan. Penggunaan tumbuhan sebagai bahan dasar obat akan meningkatkan nilai kegunaan dari tumbuhan tersebut. Andulpak (*Homalanthus populneus* (Geiseler) Pax) adalah salah satu keanekaragaman hayati yang dimiliki Indonesia. Setiap bagian tumbuhan andulpak memiliki manfaatnya masing-masing seperti kulit batangnya dapat membentuk bahan pewarna hitam, buahnya diaplikasikan untuk mengobati luka, dan daunnya digunakan untuk mengobati diare dan juga racun ikan (Rahmawati & Wahyuningsih, 2020).

Tumbuhan memiliki pertumbuhan dan perkembangan daun, berdasarkan filotaksis daun terdapat daun muda dan daun tua. Daun kedua dari pucuk ialah umur fisiologi daun muda, daun kedelapan dari pucuk ialah umur fisiologi daun tua. Pada umumnya, kandungan senyawa aktif dan aktivitas pada daun berpengaruh berdasarkan tingkat ketuaan atau berdasarkan filotaksis. Berdasarkan uraian latar belakang diatas, dan belum dilakukannya penelitian terhadap tumbuhan andulpak sebagai antibakteri terhadap bakteri patogen. Maka penulis melakukan penelitian analisis aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun tua dan daun muda andulpak (*Homalanthus populneus* (Geiseler) Pax) terhadap bakteri patogen *Escherichia coli*, *Salmonella* sp dan *Bacillus cereus* dengan menggunakan metode difusi agar secara *in vitro* menggunakan kertas cakram.

Bahan dan Metode

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi Universitas Negeri Medan. Waktu dilakukakan penelitian ini yaitu pada bulan Desember 2022 sampai Juni 2023. Penelitian ini menggunakan ekstrak etanol daun tua dan daun muda andulpak yang diujikan terhadap tiga jenis bakteri patogen (*Escherichia coli*, *Salmonella* sp., dan *Bacillus cereus*).

Daun andulpak (*Homalanthus populneus* (Geiseler) Pax) diambil dari desa Kampung baru, Kec. Pematang Raya, Kab. Simalungun. Sampel daun andulpak yang digunakan ialah daun muda (daun kedua dari pucuk) yang memiliki warna hijau muda dengan ukuran lebih kecil dari daun tua, dan daun tua (daun kedelapan sampai seterusnya dari pucuk) dengan warna hijau tua dan memiliki ukuran lebih lebar dari daun muda. Determinasi tumbuhan dilakukan di Herbarium Medanense (MEDA), Universitas Sumatera Utara. Daun tua andulpak dikumpulkan sebanyak 10 kg daun segar dan daun muda dikumpulkan sebanyak 7 kg. Dilakukan sortir basah kemudian daun muda dan daun tua yang digunakan dibersihkan, dicuci dengan air yang mengalir, ditiriskan kemudian dikeringkan secara angin atau tanpa sinar matahari selama kurang lebih 7 hari, kemudian dilakukan sortasi kering. Lalu sampel daun dihaluskan dengan diblender hingga berbentuk simplisia dan diayak dengan menggunakan ayakan ukuran 50 mesh sehingga diperoleh serbuk simplisia.

Penetapan Kadar Air Simplisia

Daun andulpak yang dianggap kering apabila daun sudah rapuh/mudah hancur, lalu dapat ditetapkan kadar air simplisia. Prosedur penetapan kadar air dilakukan dengan cara cawan porselin

dikeringkan dalam oven pada 105°C selama 30 menit, kemudian dalam desikator didinginkan lalu ditimbang bobotnya. Sebanyak 2 g serbuk simplisia dimasukkan ke dalam cawan porselin tersebut dan dipanaskan dalam oven pada suhu 105°C selama $\pm$ 3 jam. Cawan porselin yang berisi sampel diangkat dan didinginkan dalam desikator dan ditimbang bobotnya, dilakukan berulang sampai bobot konstan. Syarat umum kadar air daun yaitu $\leq$ 10%. Penetapan persentase kadar air dilakukan berdasarkan penentuan jumlah bobot kering simplisia dengan menggunakan rumus perhitungan kadar air, sebagai berikut:

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{W - (W1 - W2)}{W} \times 100\%$$

Dimana :

W = Bobot sampel sebelum dipanaskan (g)

W1 = Bobot cawan dan sampel setelah dipanaskan (g)

W2 = Bobot cawan kosong yang sudah dipanaskan (g) (Sumiati *et al.*, 2019)

Ekstraksi Daun Andulpak

Ekstraksi dilakukan dengan metode meserasi dengan pelarut etanol Pro Analis (PA) 99,9%. Daun tua sebanyak 1000 gram serbuk simplisia direndam dengan ditambahkan pelarut etanol PA sebanyak 3000 ml dan untuk daun muda sebanyak 500 gram direndam dengan etanol PA sebanyak 1500 ml atau perbandingan sampel dengan pelarutnya 1:3. Wadah ditutup dan dilapisi dengan alumunium foil dan dibiarkan selama 5 hari sambil sesekali diaduk. Setelah 5 hari, sampel yang direndam tersebut disaring menggunakan kertas saring no. 1 dan menghasilkan filtrat 1 serta residu 1. Residu yang ada kemudian ditambah dengan larutan etanol PA dan direndam selama 3 hari dengan sesekali diaduk. Kemudian, disaring menggunakan kertas saring dan menghasilkan filtrat 2 dan residu 2. Filtrat 1 dan 2 dicampur menjadi satu, lalu dievaporasi menggunakan rotary evaporator dengan suhu 50°C, sehingga diperoleh ekstrak kental sampel daun tua dan daun muda andulpak. Setelah mendapatkan ekstrak kental maka dihitung nilai rendemen ekstrak. Nilai rendemen berkaitan dengan banyaknya kandungan bioaktif yang terkandung pada tumbuhan. Rendemen ekstrak dihitung menggunakan rumus:

$$\% \text{Rendemen} = \frac{\text{Jumlah berat ekstrak berupa pasta (g)}}{\text{Jumlah berat kering (g)}} \times 100\%$$

Skrining Fitokimia

1. Identifikasi Alkaloid

Keberadaan senyawa alkaloid dilakukan uji dengan menambahkan 2 ml sampel kedalam tabung reaksi kemudian dicampurkan 5 ml CHCl_3 dan 5 ml NH_3 dipanaskan selama satu menit, dikocok dan disaring. Ditambahkan 5 tetes H_2SO_4 kemudian kocok dan didiamkan selama satu menit. Bagian atas dari masing filtrat kemudian dikocok dan didiamkan. Bagian atas dari filtrat diambil dan diuji dengan pereaksi Mayer, dan Dragendorff. Terbentuknya endapan putih menunjukkan adanya alkaloid (Apriyuslim, 2015).

2. Identifikasi Flavonoid

Keberadaan senyawa flavonoid dilakukan uji dengan menambahkan 2 ml sampel dengan 5 ml etanol kedalam tabung reaksi, dipanaskan dan dikocok selama satu menit, kemudian disaring dan ditambahkan Mg 1 gram dan 3 tetes HCl. Terbentuknya warna jingga sampai merah ungu menunjukkan adanya flavonoid (Apriyuslim, 2015).

3. Identifikasi Saponin

Keberadaan senyawa saponin dilakukan uji dengan menambahkan 10 ml air panas terhadap 0,5 gram sampel, lalu didinginkan, kemudian dikocok selama sepuluh detik. Terbentuknya busa yang stabil setinggi 1-10 cm selama tidak kurang dari sepuluh menit dan tidak hilang dengan penambahan HCl 2 N menunjukkan adanya saponin (POM, 1995).

4. Identifikasi Steroid

Keberadaan senyawa steroid dilakukan uji dengan memaserasi 1 gram sampel dengan 20 ml n-heksana selama dua jam, kemudian maserat yang diperoleh disaring. Filtrat diuapkan dalam cawan penguap, dan pada sisanya ditambahkan pereaksi Liebermann-Buchard. Terbentuknya warna biru kehijauan atau merah ungu menunjukkan adanya steroid (Apriyuslim, 2015).

5. Identifikasi Tanin

Keberadaan senyawa fenol dilakukan uji dengan menambahkan 1 ml sampel kedalam tabung reaksi, lalu ditambahkan lima tetes air panas dan lima tetes FeCl_3 1%. Terbentuknya warna hijau, biru, hitam, merah atau ungu menunjukkan adanya fenol (Apriyuslim, 2015).

6. Identifikasi Glikosida

Keberadaan senyawa glikosida dilakukan uji dengan memasukkan 1 ml sampel kedalam tabung reaksi lalu ditambahkan 2 ml air dan 5 tetes molisch, kemudian ditambahkan dengan 2 ml H_2SO_4 . Terbentuknya cincin ungu pada batas kedua cairan menunjukkan adanya glikosida (Apriyuslim, 2015).

Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Daun Andulpak

Pembuatan konsentrasi andulpak dibuat menjadi lima taraf konsentrasi dengan satuan berat/volume (b/v), dengan melarutkan ekstrak andulpak menggunakan pelarut dimetil sulfoksida (DMSO). Taraf konsentrasi yang digunakan yaitu 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%.

Sterilisasi Alat Dan Bahan

Untuk mencegah terjadinya kontaminasi pada saat melakukan uji antibakteri maka alat dan bahan yang digunakan terlebih dahulu dibersihkan, dikemas kemudian disterilkan. Proses sterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C tekanan 15 psi atau sekitar 1 atm selama 90 menit.

Uji Aktivitas Antibakteri

Metode yang digunakan merupakan difusi agar menggunakan kertas cakram steril. Uji aktivitas dilakukan setelah proses inokulasi bakteri pada media MHA steril. Kertas cakram steril 6 mm diberi ekstrak daun andulpak (*Homalanthus populneus* (Geiseler)Pax) dengan taraf konsentrasi sebanyak 0,1 ml. Kertas cakram diletakan pada permukaan media dengan menggunakan pinset steril dan ditekan sedikit. Kemudian diinkubasi dengan posisi cawan tidak terbalik pada suhu 37°C selama 1×24 jam (Datta *et al.*, 2019). Uji aktivitas antibakteri dengan taraf konsentrasi diulang sebanyak 4 kali dengan jenis bakteri patogen yang berbeda. Zona hambat diukur dengan menggunakan jangka sorong digital untuk menentukan aktivitas bakteri setelah 24 jam masa inkubasi.

Analisis Data

Data hasil penelitian uji antibakteri disajikan dalam bentuk tabel pengukuran zona hambat ($\text{Mean} \pm \text{SD}$), lalu dilakukan analisis data dengan menggunakan analisis varian (ANOVA) satu arah menggunakan SPSS 26. Jika terdapat perbedaan secara signifikan terhadap setiap perlakuan maka dilakukan uji lanjutan dengan uji *Tukey* untuk membandingkan nilai rata-rata seluruh perlakuan setelah uji analisis varian dilakukan pada taraf kepercayaan 95%.

Hasil dan Pembahasan

Hasil Penelitian

Hasil daun tua dengan bobot basah 10 kg mengalami penyusutan hingga 82,5% sehingga didapat berat kering sebesar 1,75 kg, dari bobot kering 1,75 kg didapat serbuk simplisia dengan bobot 1,63 kg. Pada daun muda dengan berat basah 7 kg mengalami penyusutan hingga 84,8% sehingga didapat berat kering 1,06 kg, dari berat kering 1,06 kg didapat serbuk simplisia daun muda sebesar 0,96 kg.

Pegujian kadar air serbuk simplisia daun andulpak bertujuan untuk memberikan rentang batas besarnya kandungan kadar air dalam simplisia, semakin rendah kadar air, maka semakin sulit ditumbuhi jamur dan kapang sehingga akan meningkatkan aktivitas biologi senyawa aktif selama penyimpanan. Syarat mutu simplisia berdasarkan Departemen Kesehatan RI dimana simplisia mempunyai kadar air ≤ 10 (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2017). Hasil kadar air yang diperoleh daun Andulpak yaitu pada daun tua sebesar 6,5%, pada daun muda sebesar 7,5%. Hal ini menunjukkan bahwa kadar air dari daun tua dan daun muda andulpak telah memenuhi persyaratan mutu simplisia, selain itu simplisia daun andulpak tidak mudah ditumbuhi jamur dan kapang serta dapat disimpan dalam waktu yang cukup lama. Pada daun tua dengan serbuk simplisia 1000 g menghasilkan ekstrak kental 49,24 g dengan nilai rendemen 4,92%. Pada daun muda dengan serbuk simplisia 500 g menghasilkan ekstrak kental 34,2 g dengan nilai rendemen 6,84%.

Tabel 1. Skrining fitokimia ekstrak etanol daun andulpak

Metabolit Sekunder	Pereaksi	Ekstrak Daun Tua Andulpak	Ekstrak Daun Muda Andulpak
Alkaloid	Mayer	+	+
	Dragendrof	-	+
Flavonoid	Mg + HCl	+	+
Saponin	Air + HCl 2N	-	-
Steroid	Lieberman-Bouchard	+	+
Tanin	FeCl ₃	+	+
Glikosida	Molisch + H ₂ SO ₄	+	+

Keterangan :

+ : Terdapat senyawa metabolit sekunder

• : Tidak terdapat senyawa metabolit sekunder

Skrining fitokimia dilakukan secara kualitatif berdasarkan sifat kelarutan senyawa sehingga dapat diketahui senyawa yang berpotensi sebagai antibakteri. Berdasarkan hasil analisis senyawa fitokimia pada daun tua dan daun muda andulpak diperoleh senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, tanin, dan glikosida.

Alkaloid merupakan senyawa yang memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Mekanisme penghambatan bakteri oleh senyawa alkaloid dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Pradana *et al.*, 2014).

Flavonoid memiliki kemampuan sebagai antibakteri dengan cara mengikat asam amino nukleofilik pada protein dan inaktivasi enzim. Flavonoid bersifat polar sehingga lebih mudah menembus lapisan peptidoglikan yang juga bersifat polar pada bakteri gram positif dari pada lapisan lipid yang nonpolar. Senyawa flavonoid mampu membentuk ikatan kompleks dengan protein sel bakteri melalui ikatan hidrogen. Struktur dinding sel dan membran sitoplasma bakteri yang mengandung protein menjadi tidak stabil karena struktur protein sel bakteri menjadi rusak karena adanya ikatan hidrogen dengan flavonoid, sehingga protein sel bakteri menjadi kehilangan aktivitasnya, akibatnya fungsi permeabilitas sel bakteri menjadi berkurang (Restuati *et al.*, 2017).

Senyawa steroid menunjukkan aktivitas antibakteri, antifungi, antitumor, dan anti inflamatory. Steroid dapat berinteraksi dengan membran fosfolipid sel yang bersifat impermeabel terhadap senyawa-senyawa lipofilik sehingga menyebabkan integritas membran menurun,

morfologi membran sel berubah, dan akhirnya dapat menyebabkan sel rapuh dan lisis (Dewatisari *et al.*, 2017).

Senyawa tanin memiliki kemampuan sebagai antibakteri dengan tindakan kompleksasi protein melalui ikatan hidrogen dan kovalen dan inaktivasi adhesi mikroba, dengan enzim dan protein transpor sel. Dengan kemampuan mempresipitasi protein dan menyebabkan membran sel bakteri mengerut yang mengakibatkan perubahan permeabilitas sel menjadi menurun. Mekanisme senyawa glikosida sebagai antibakteri dengan merusak dinding sel bakteri. Kandungan senyawa glikosida menghambat fungsi membran sel dengan membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler sehingga dapat merusak membran sel dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler (Widowati *et al.*, 2019).

Tabel 2. Rata-Rata diameter daya hambat uji antibakteri ekstrak daun andulpak terhadap bakteri patogen (Mean $\pm$ SD)

Perlakuan	Konsentrasi	Diameter Daya Hambat		
		<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella sp.</i>	<i>Bacillus cereus</i>
Kontrol Negatif		0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Daun Tua Andulpak	20%	10,10 ± 0,91	7,31 ± 0,62	9,54 ± 0,32
	40%	11,24 ± 0,71	7,61 ± 0,45	10,96 ± 0,93
	60%	11,38 ± 0,84	7,81 ± 0,51	12,14 ± 0,76
	80%	11,65 ± 0,98	8,13 ± 0,22	12,28 ± 1,66
	100%	12,60 ± 1,92	8,26 ± 0,46	12,81 ± 1,58
Daun Muda Andulpak	20%	9,59 ± 1,45	9,13 ± 1,87	10,38 ± 1,41
	40%	10,89 ± 1,63	9,76 ± 0,95	11,13 ± 0,74
	60%	11,53 ± 2,21	11,09 ± 1,80	12,31 ± 0,96
	80%	13,84 ± 2,12	12,38 ± 2,16	13,24 ± 0,80
	100%	13,30 ± 2,37	11,54 ± 1,70	15,35 ± 3,07
Kontrol Positif		22,35 ± 0	39,65 ± 0	28,65 ± 0

Nilai aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun tua dan daun muda andulpak terhadap bakteri patogen (*E.coli*, *Salmonella sp.* dan *Bacillus cereus*) dianalisis dengan uji ANOVA untuk mengetahui pemberian perlakuan memberikan pengaruh yang signifikan atau tidak terhadap zona hambat bakteri patogen. Hasil analisis ANOVA terhadap zona hambat bakteri patogen dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil uji ANOVA diameter zona hambat ekstrak etanol daun tua dan daun muda andulpak terhadap pertumbuhan bakteri patogen (*E.coli*, *Salmonella sp.* dan *Bacillus cereus*) dengan taraf signifikansi 0,05.

ANOVA						
		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Zona hambat <i>Escherichia coli</i>	Between Groups	63.574	9	7.064	2.668	.021

Zona hambat <i>Salmonella</i> sp.	Between Groups	117.477	9	13.053	8.001	.000
Zona Hambat <i>Bacillus cereus</i>	Between Groups	96.371	9	10.708	5.108	.000

Hasil analisis One Way ANOVA menunjukkan bahwa perlakuan pemberian ekstrak etanol daun tua dan daun muda andulpak dengan lima taraf konsentrasi memberikan pengaruh yang signifikan terhadap zona hambat bakteri *Escherichia coli*, *Salmonella* sp. dan *Bacillus cereus* dengan nilai signifikansi masing-masing $0,021 < 0,05$, $0,000 < 0,05$, $0,000 < 0,05$. Berdasarkan hasil uji ANOVA diatas menyimpulkan bahwa ekstrak etanol daun tua dan daun muda andulpak dengan taraf konsentrasi berpengaruh signifikan terhadap pertumbuhan bakteri patogen.

Berdasarkan hasil analisis ANOVA, aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun tua dan daun muda andulpak memiliki nilai signifikansi $< 0,05$ maka dilanjutkan dengan uji lanjutan *Post Hoc Test* dengan uji *Tukey* untuk mengetahui sampel mana yang memiliki perbedaan yang signifikan. Adapun hasil uji *Tukey* dari tingkatan daun terhadap tiga jenis bakteri patogen dengan taraf konsentrasi dapat dilihat pada tabel 4.6.

Tabel 4. Hasil Uji *Tukey* Diamter Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri Patogen.

Jenis Bakteri	Tingkatan Daun	Diameter Zona Hambat (mm)				
		20%	40%	60%	80%	100%
<i>Escherichia coli</i>	Daun tua	10,10 ^{ab}	11,23 ^{ab}	11,37 ^{ab}	11,65 ^{ab}	12,60 ^{ab}
	Daun muda	9,58 ^a	10,89 ^{ab}	11,52 ^{ab}	13,83 ^b	13,30 ^{ab}
<i>Salmonella</i> sp.	Daun tua	7,3 ^a	7,61 ^a	7,81 ^a	8,12 ^{ab}	8,26 ^{ab}
	Daun muda	9,12 ^{abc}	9,76 ^{abcd}	11,08 ^{bcd}	12,37 ^d	11,53 ^{cd}
<i>Bacillus cereus</i>	Daun tua	9,53 ^a	10,96 ^{ab}	12,13 ^{abc}	12,37 ^{abc}	12,8 ^{abc}
	Daun muda	10,37 ^{ab}	11,12 ^{ab}	12,3 ^{abc}	13,23 ^{bc}	15,35 ^c

Keterangan :

- Huruf yang berbeda dibelakang angka menunjukkan perbedaan yang signifikan berdasarkan uji *post hoc* metode *Tukey* dengan $p < 0,05$. Huruf yang sama menunjukkan hasil tidak berbeda signifikan $p > 0,005$.

Berdasarkan hasil tabel 4. dapat dilihat bahwa, zona hambat terhadap bakteri *Escherichia coli* terdapat perbedaan pada perlakuan. Daun muda konsentrasi 20% memiliki perbedaan nyata dengan daun muda konsentrasi 80%. Dapat dilihat bahwa zona hambat tertinggi terhadap bakteri *Escherichia coli* terdapat pada daun muda konsentrasi 80% dengan nilai 13,83 mm.

Zona hambat terhadap bakteri *Salmonella* sp. terdapat perbedaan pada masing-masing perlakuan. Daun tua konsentrasi 20%, 40%, 60% berbeda nyata dengan daun muda konsentrasi 60%, 80%, 100%. Daun tua 80%, 100% berbeda nyata dengan daun muda 80%, 100%. Daun muda 20% berbeda nyata dengan daun muda 80%. Zona hambat tertinggi terhadap bakteri *Salmonella* sp. terdapat pada daun muda konsentrasi 80% dengan nilai 12,37 mm.

Zona hambat terhadap bakteri *Bacillus cereus* terdapat perbedaan pada masing-masing perlakuan. Daun tua konsentrasi 20% berbeda nyata dengan daun muda 80%, 100%. Daun muda 20%, 40%, daun tua 40% berbeda nyata dengan daun muda 100%. Zona hambat tertinggi terhadap bakteri *Bacillus cereus* terdapat pada daun muda konsentrasi 100% dengan nilai 15,35 mm.

Berdasarkan senyawa fitokimia yang dimiliki oleh daun tua dan daun muda andulpak, maka aktivitas antibakteri ekstrak daun andulpak terhadap *E.coli*, *Salmonella* sp. dan *Bacillus cereus* berasal dari senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, tanin, dan glikosida yang terdapat pada daun andulpak. Seperti yang telah dijelaskan sebelumnya bahwa ke enam senyawa tersebut dapat

menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara menghambat kerja enzim pada sintesis protein; merusak komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh, menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar, mendenaturasi protein; mengganggu permeabilitas dinding serta membran sel sehingga sel kekurangan nutrisi atau sel menjadi lisis; berinteraksi dengan DNA bakteri sehingga proses ekspresi gen terganggu; menghambat motilitas bakteri.

Berdasarkan hasil uji *Tukey*, nilai perbedaan yang nyata pada daun tua dengan daun muda andulpak terdapat pada bakteri *Salmonella* sp. pada konsentrasi 60%, 80% dan 100%. Berdasarkan data hasil rata-rata diameter zona hambat, pada daun muda terhadap bakteri *Salmonella* sp. konsentrasi 60%, 80% dan 100% memiliki nilai rata-rata zona hambatnya lebih besar dibandingkan dengan rata-rata zona hambat pada daun tua terhadap bakteri *Salmonella* sp. Perbedaan ini berdasarkan tingkatan daun yang akan berpengaruh pada komponen bioaktifnya dan nilai aktivitasnya. Perbedaan tingkatan daun akan adanya kadar senyawa aktif yang lebih tinggi dapat memberikan aktivitas yang sama atau lebih besar antara daun muda dan daun tua.

Kadar kandungan kimia dalam daun tua dan daun muda masing-masing berbeda. Semua tanaman memperoleh energi serta semua bahan penyusunnya melalui proses fotosintesis (Cendranata & Endah, 2012). Dinding sel pada daun yang masih muda lebih tipis dibandingkan dengan sel pada daun yang sudah tua. Kemampuan daun untuk melakukan fotosintesis akan meningkat pada awal perkembangan daun. Tetapi kemudian akan mengalami turun kadang sebelum daun tersebut berkembang penuh. Dengan kata lain daun muda memiliki kandungan kimia yang lebih banyak daripada daun yang lebih tua (Tjitrosoepomo, 2005). Penelitian serupa juga membuktikan bahwa daya hambat antibakteri pada daun muda geranium lebih besar dibandingkan daya hambat pada daun tua (Rahmawati1 *et al.*, 2017). Perbedaan aktivitas antibakteri dari daun muda dan daun tua diduga berhubungan dengan proses penuaan daun yang menyebabkan penurunan kandungan zat aktif pada tumbuhan. (Rahmawati1 *et al.*, 2017) menyatakan bahwa senyawa metabolit sekunder diproduksi pada daun semakin menurun seiring dengan bertambahnya umur daun. Pendapat (Hanum *et al.*, 2018) juga mendukung bahwasannya daun muda memiliki senyawa metabolit sekunder lebih tinggi dikarenakan daun muda memiliki gangguan lingkungan yang tinggi dan masih rentannya daun muda membuat tumbuhan meningkatkan aktivitas metabolit sekunder sebagai senyawa pelindung tumbuhan. Hal ini yang menjadi dugaan daun muda andulpak memiliki diameter zona hambat lebih besar daripada daun tua sehingga terdapatnya perbedaan antara daun muda dan daun tua sebagai antibakteri terhadap bakteri *Salmonella* sp. Hal ini diduga juga berkaitan dengan hasil persentase nilai rendemen ekstrak daun andulpak, dimana persen rendemen ekstrak pada daun muda lebih besar dibandingkan persen rendemen ekstrak daun tua. Nurhayati dalam (Dewatisari *et al.*, 2017) menyatakan bahwa nilai rendemen yang tinggi menunjukkan banyaknya komponen bioaktif yang terkandung di dalamnya.

Penutup

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dan data yang diperoleh, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak etanol daun tua dan daun muda andulpak (*Homalanthus populneus* (Geiseler) Pax) memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap bakteri patogen *Escherichia coli*, *Salmonella* sp. dan *Bacillus cereus*.
2. Daun tua yang menunjukkan kategori kuat sebagai antibakteri pada konsentrasi 20%–100% terhadap bakteri *E.coli*, 40%–100% terhadap bakteri *Bacillus cereus*. Daun muda yang

menunjukkan kategori kuat sebagai antibakteri pada konsentrasi 40%–100% terhadap *E.coli*, 60%–100% terhadap *Salmonella* sp, dan 20%–100% terhadap *Bacillus cereus*.

3. Terdapat perbedaan nyata aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol daun tua dengan daun muda andulpak terhadap bakteri *Salmonella* sp. pada konsentrasi 60%, 80%, dan 100%, tetapi tidak terdapat perbedaan nyata aktivitas antibakteri ekstrak daun tua dengan daun muda andulpak terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus cereus*.

Referensi

- Apriyuslim, R. P. (2015). Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap *Salmonella typhi* secara in vitro. *Jurnal Mahasiswa PSPD FK Universitas Tanjungpura*, 3(1), 6–8.
- Brooks, F. G., Carroll, C. K., Butel, S. J., & Morse, S. A. (2010). *Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology*. McGraw Hill Medical.
- Cendranata, M. D. K., & Endah, A. (2012). Daya Hambat Ekstrak Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*) Terhadap Populasi bakteri pada ulser recurrent aphtous stomatitis. *Jurnal PDGI*, 61(1), 20–13.
- Dapartemen Kesehatan Republik Indonesia. (2017). *Farmakope Herbal Indonesia Edisi Kedua*. 528.
- Datta, F. U., Daki, A. N., Benu, I., Detha, A. I. . R., Foeh, N. D. F. K., & Nemay A. Ndaong. (2019). Uji aktivitas antimikroba bakteri asam laktat cairan rumen terhadap pertumbuhan *Salmonella* Enteritidis, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* DAN *Staphylococcus aureus* menggunakan metode difusi sumur agar. *Prosiding Seminar Nasional VII Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Nusa Cendana Swiss Bel-Inn Kristal Kupang*, 66–85.
- Dewatisari, W. F., Rumiyaniti, L., & Rakhmawati, I. (2017). *Rendemen dan Skrining Fitokimia pada Ekstrak Daun Sansevieria sp . Rendemen and Phytochemical Screening using Leaf extract of*. 17(3), 197–202.
- Dietrich, R., Jessberger, N., Ehling-schulz, M., & Märklbauer, E. (2021). *The Food Poisoning Toxins of Bacillus cereus*. 13(98).
- POM, D. (1995). *Farmakope Indonesia Edisi Keempat*. Departemen Kesehatan RI.
- Pradana, D., Suryanto, D., & Djayus, Y. (2014). Uji Daya Hambat Ekstrak Kulit Batang *Rhizophora mucronata* Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Aeromonas hydrophila*, *Streptococcus agalactiae* Dan Jamur *Saprolegnia* sp. Secara In Vitro. *Skripsi*. Program Studi Manajemen Sumberdaya Perairan, Fakultas Pertanian. Universitas Sumatera Utara.
- Pujaningsih, R. ., Sulistiyanto, B., & Sumarsih, R. (2018). Observation of *Muntingia Calabura* ' s Leaf Extract as Feed Additive for Livestock Diet. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*.
- Rahmawati, N., & Wahyuningsih, E. (2020). Penggunaan Kulit Tumbuhan Kareumbi (*Homalanthus populneus*) Sebagai Zat Warna Alam dengan Variasi Mordan. *Jurnal Biosains*. 9(1), 58–64.
- Restuati, M., Pratiwi, N., & Widiyastuti, G. (2017). Effect of leaf extract buasbuas (*Premna pubescens* Blume) for against of bacteria growth *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* sp in vitro. *AIP Conference Proceedings*.
- Savira, H. G., & Trimulyono, G. (2021). Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri dari Umbi Porang (*Amorphophallus muelleri*) Terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* Antibacterial Activity of Bacterial Isolates from Porang Tubers (*Amorphophallus muelleri*) Against *Escherichia coli*. *Lentera bio*.10(1):25-38
- Siswando, S. (2000). *Kimia Medisinal, Edisi ke-2*. Airlangga University Press.

- Sumiati, T., Masaenah, E., & Asriyani, L. (2019). Analisis Aktivitas Antibakteri Sediaan Gel Ekstrak Etanol 70 % Daun Kemangi (*Ocimum americanum* L .) Terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes*. *Farmamedika*, 4(1), 1–10.
- Tjitrosoepomo, G. (2005). *Morfologi Tumbuhan Edisi Ke-15*. Universitas Gadjah Mada Press.
- Tresna, S., Putri, I., Rejeki, S., & Wardhani, P. (2020). *Description of Fecal Culture Results in Diarrhea Patients Due To Antibiotic Use*. 26(2), 193–197.
- Widowati, R., Handayani, S., & Lasdi, I. (2019). Aktivitas Antibakteri Minyak Nilam (*Pogostemon cablin*) Terhadap Beberapa Spesies Bakteri Uji. *Jurnal Pro-Life*, 6(3):1-13.