

Journal of Comprehensive Science
 p-ISSN: 2962-4738 e-ISSN: 2962-4584
 Vol. 4. No. 3 March 2025

Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn) terhadap *Escherichia coli*

Navisa Annisa Firdaus^{1*}, Ari Widiyantoro², Mardhia³

Universitas Tanjungpura, Kalimantan Barat, Indonesia^{1,2,3}

Author koresponden: visanafisah@gmail.com^{1*}

Abstrak

Escherichia coli dapat bersifat patogen yang akan menyebabkan beberapa penyakit diantaranya diare, infeksi saluran kemih, meningitis pada bayi baru lahir dan infeksi luka terutama pada luka di dalam abdomen. Tanaman daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.) sering dimanfaatkan oleh masyarakat khususnya Kalimantan Barat untuk pemulihan tenaga setelah melahirkan, obat rematik, obat sakit perut, hipertensi, perut kembung, bisul dan obat penawar racun ular. Pada penelitian sebelumnya juga didapatkan daun daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.) memiliki aktivitas antibakteri. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun Daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.) di daerah Kalimantan Barat terhadap *Escherichia coli*. Skrining fitokimia ekstrak etanol daun daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.) dilakukan dengan metode kualitatif dengan menggunakan beberapa reagen. Ekstrak uji dibuat dalam konsentrasi 20 mg/mL, 30 mg/mL, 40 mg/mL, 50 mg/ml, dan 60 mg/mL dengan etanol sebagai pelarut. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram dan diukur zona hambat pertumbuhan bakteri. Hasil penelitian ini menyatakan bahwa ekstrak etanol daun daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.) mengandung metabolit sekunder yaitu alkaloid, flavonoid, fenol, steroid, dan terpenoid. Tidak terdapat zona hambat pada pertumbuhan *Escherichia coli* pada semua konsentrasi ekstrak yang diuji. Kesimpulannya, ekstrak etanol daun daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.) tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* pada semua konsentrasi ekstrak yang diuji.

Kata kunci: antibakteri; *acanthus ilicifolius* linn.; *escherichia coli*

Abstract

Escherichia coli can be pathogenic and will cause several diseases including diarrhea, urinary tract infections, meningitis in newborns and wound infections, especially in wounds in the abdomen. The daruju plant (*Acanthus ilicifolius* Linn.) is often used by the community, especially West Kalimantan, for energy recovery after childbirth, rheumatism medicine, abdominal pain medicine, hypertension, flatulence, ulcers and antidotes for snake venom. In previous studies, it was also found that daruju leaves (*Acanthus ilicifolius* Linn.) have antibacterial activity. The purpose of this study is to determine the antibacterial activity of Daruju leaf ethanol extract (*Acanthus ilicifolius* Linn.) in West Kalimantan against *Escherichia coli*. Phytochemical screening of ethanol extract from daruju leaves (*Acanthus ilicifolius* Linn.) was carried out by a qualitative method using several reagents. Test extracts were made in concentrations of 20 mg/mL, 30 mg/mL, 40 mg/mL, 50 mg/ml, and 60 mg/mL with ethanol as a solvent. The antibacterial activity test was carried out by the disc diffusion method and measured the bacterial growth inhibition zone. The results of this study stated that the ethanol extract of daruju leaves (*Acanthus ilicifolius* Linn.) contains secondary metabolites, namely alkaloids, flavonoids, phenols, steroids, and terpenoids. There were no inhibitory zones on the growth of *Escherichia coli* at all concentrations of the tested extracts. In conclusion, ethanol extract of daruju leaves (*Acanthus ilicifolius* Linn.) had no antibacterial activity against *Escherichia coli* at all concentrations of the tested extracts.

Keywords: antibacteri; *acanthus ilicifolius* linn.; *escherichia coli*



PENDAHULUAN

Penyakit infeksi pernah diprediksikan oleh William H Stewart bahwa tidak lagi sebagai penyakit yang mengancam jiwa karena adanya penemuan antibiotik dan vaksin. Kenyataannya pada abad ke 21 ini, penyakit infeksi masih menjadi kontributor kesakitan dan kematian yang cukup besar di negara berkembang dan negara maju (Suwanto, 2014). Penyakit infeksi yang sering ditemukan di Indonesia adalah penyakit infeksi oleh bakteri. Satu diantara penyakit infeksi bakteri yang sering terjadi yaitu disebabkan oleh *Escherichia coli*. *Escherichia coli* sering dihubungkan dengan penyakit diare khususnya pada bayi dan anak-anak di negara-negara berkembang (Levinson, 2008). Bakteri *E. coli* menjadi bersifat patogen jika jumlahnya dalam saluran cerna meningkat atau berada di luar usus (Brooks et al., 2005). *E. coli* yang bersifat patogen dapat menyebabkan diare, infeksi saluran kemih, meningitis pada bayi baru lahir dan infeksi luka terutama pada luka di dalam abdomen (Brooks et al., 2005; Syahrurachman et al., 1994). *Escherichia coli* sensitif pada beberapa obat, diantaranya ampicilin, kloramfenikol, klortetrasiklin, neomisin, nitrofurans, gentamisin, ormetiprim-sulfadimektosin, asam nalidiksik, oksitetrasiklin, polimiksin B, spektinomisin, streptomisin, dan golongan sulfa (Syahrurachman et al., 1994).

Dewasa ini munculnya resistensi antibiotik dikarenakan beberapa faktor, di antaranya penggunaan yang kurang tepat, pasien yang menganggap wajib diberikan antibiotik dalam penanganan penyakit meski disebabkan oleh virus, persepsi yang salah ketika diagnosis belum pasti, penggunaan monoterapi, infeksi nasokomial dan kurangnya penelitian untuk menemukan antibiotik baru. Hal ini menjadikan antibiotik yang pernah efektif untuk mengobati penyakit infeksi kehilangan nilai kemoterapeutiknya (Brooks et al., 2005; Utami, 2011). Sehingga perlu dicarinya alternatif lain yaitu dengan tanaman herbal. Satu diantara tanaman yang dijadikan alternatif baru yaitu tanaman Daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn).

Daruju merupakan tanaman vegetasi dari mangrove, yang dapat tumbuh dari berbagai jenis tanah, terutama pada tanah yang memiliki tekstur lumpur, seperti tanah yang umum pada tepi sungai (Ernianingsih & Mukarlina, 2014). Daruju ini sering dimanfaatkan oleh masyarakat khususnya Kalimantan Barat untuk pemulihan tenaga setelah melahirkan, obat rematik, obat sakit perut, hipertensi, perut kembung, bisul dan obat penawar racun ular (Tria et al., 2018). Pada penelitian sebelumnya didapatkan bahwa ekstrak etil asetat daun Daruju di Aceh memiliki potensi sebagai antibakteri terhadap *Vibrio harveyi* dengan penghambatan yang kuat pada konsentrasi 500- 1000 ppm. Penelitian lain di India bahwa tanaman Daruju ini memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Pseudomonas* dengan penghambatan yang kuat pada konsentrasi 10 mg/mL (Saptiani et al., 2013).

Penelitian sebelumnya oleh Saptiani et al. (2013) menunjukkan bahwa ekstrak Daruju memiliki aktivitas antibakteri yang kuat terhadap beberapa mikroorganisme patogen, seperti *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, dan *Pseudomonas* pada konsentrasi 10 mg/mL. Selain itu, penelitian oleh Ernianingsih & Mukarlina (2014) juga melaporkan bahwa tanaman Daruju dapat tumbuh di berbagai jenis tanah, termasuk tanah lumpur, dan dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional, terutama di Kalimantan Barat. Meskipun demikian, penelitian mengenai potensi ekstrak etanol daun Daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.) sebagai antibakteri terhadap *Escherichia coli* belum banyak dilakukan, terutama di Indonesia. Berbeda halnya dengan penelitian ini, yang lebih berfokus

pada pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun Daruju terhadap *Escherichia coli*, yang dikenal sebagai patogen penyebab diare dan infeksi lainnya di negara berkembang.

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan alternatif pengobatan baru menggunakan tanaman herbal yang lebih aman dan efektif, terutama dalam menghadapi masalah resistensi antibiotik yang semakin meningkat. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi potensi antibakteri ekstrak etanol daun Daruju terhadap *Escherichia coli* dan untuk mengevaluasi konsentrasi ekstrak yang efektif. Manfaat penelitian ini adalah memberikan informasi yang berguna dalam pengembangan obat antibakteri alami sebagai alternatif dalam penanggulangan penyakit infeksi bakteri, khususnya yang disebabkan oleh *Escherichia coli*, serta memberikan kontribusi dalam pengobatan berbasis tanaman herbal di Indonesia.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini termasuk dalam kategori penelitian eksperimen yang bertujuan untuk menguji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun Daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.) terhadap bakteri *Escherichia coli*. Penelitian ini menggunakan metode difusi Kirby-Bauer untuk mengukur daya hambat ekstrak etanol terhadap pertumbuhan bakteri pada media padat. Desain penelitian yang digunakan adalah desain eksperimental laboratorium, di mana variabel yang diuji adalah aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol daun Daruju pada *Escherichia coli*. Penelitian ini menggunakan kontrol positif berupa siprofloksasin dan kontrol negatif berupa aquadest + tween 80. Penelitian dilakukan dengan menginokulasi *Escherichia coli* pada media Mueller-Hinton Agar (MHA), dan kemudian mengevaluasi pengaruh ekstrak daun Daruju dengan cara mengukur diameter zona hambat yang terbentuk di sekitar cakram yang ditambahkan larutan ekstrak etanol. Selama eksperimen, media dan sampel diinkubasi pada suhu $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 18-24 jam untuk memungkinkan pertumbuhan bakteri dan pengamatan zona hambat.

Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain wadah kaca, lemari pendingin, sendok tanduk, bejana maserasi, vacuum rotary evaporator, timbangan analitik, Sendok stainless, Oven, inkubator, krusibel porselen, desikator, corong kaca, pinset, *autoclave*, labu ukur 25 dan 50 mL, gelas ukur, erlenmeyer, gelas beaker, cawan penguap, tabung reaksi, batang pengaduk, cawan petri, kaca objek, kaca penutup, pipet tetes, pipet pasteur, jangka sorong, prevorator, jarum ose, mikroskop, tip dan mikropipet, kompor listrik, tabung kuvet, plat KLT F254, lampu UV 254 nm dan 366 nm, pembakar Bunsen.

Bahan Uji

Bahan uji pada penelitian ini adalah ekstrak etanol daun Daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.) yang diujikan pada *Escherichia coli*.

Bahan non Kimia

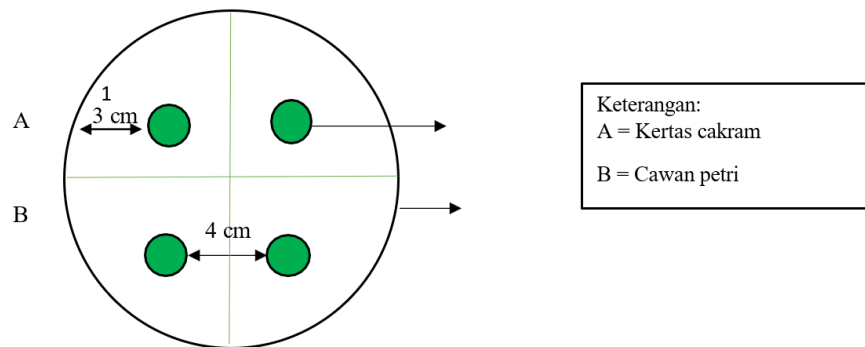
Aquades, aluminium foil, kertas saring, kertas sampul coklat, tissue, plastik tahan panas.

Bahan Kimia

Siprofloksasin, aquadest, tween 80, etanol, spiritus, pereaksi Mayer, pereaksi Dragendroff, etanol, serum sulfat 5%, pereaksi Lieberman-Burchard, besi (III) klorida (FeCl_3), media *Nutrient Agar* (NA), media *Mueller-Hinton Agar* (MHA), standar Mc. Farland no. 0.5, karbol kristal ungu, Lugol, safranin, dan larutan natrium klorida (NaCl) 0,9%.

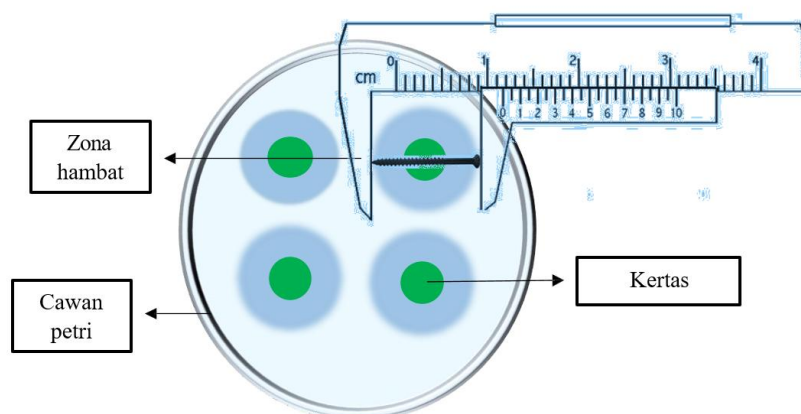
Prosedur Penelitian

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.) terhadap *Escherichia coli* dilakukan dengan metode difusi Kirby- Bauer dengan diameter cakram yang dipakai 5,7 mm. Tahapan awal yang dilakukan yakni dicelupkan kapas steril ke dalam suspensi inokulum, lalu peras kapas steril dengan cara menekan kapas ke dinding tabung yang bertujuan untuk mencegah pengambilan suspensi yang berlebih. Setelah itu, suspensi diinokulasikan pada permukaan media MHA dengan melakukan swab di seluruh permukaan media. Prosedur diulangi dengan melakukan swab dua kali lebih banyak, diputar sekitar 60° untuk memastikan pemerataan inokulum. Tahapan berikutnya yakni kertas cakram ditetaskan sebanyak 100-200 µL masing-masing larutan ekstrak etanol daun Daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.), kontrol positif siprofloksasin 5 ug/disk dan kontrol negatif aquadest + tween 80. Kemudian kertas cakram ditempatkan pada permukaan lempeng MHA yang telah diinokulasi bakteri uji menggunakan pinset steril. Setelah itu, baru masing-masing kertas cakram berukuran 5,7 mm sebanyak 4 buah diletakkan diatas media MHA tersebut dengan jarak tiap cakram sebesar 3 cm dan dari tepi lempeng sebesar 2 cm (Gambar 1). Selanjutnya inkubasi di incubator pada suhu 35°C ± 2° C selama 18-24 jam (Brooks et al., 2005).



Gambar 1 Skema Peletakan Kertas Cakram Pada Media Uji

Biakan bakteri dalam media MHA tersebut diamati ada atau tidak zona hambat yang terbentuk kemudian diameter zona hambat diukur menggunakan jangka sorong untuk mengetahui aktivitas dan sifat antibakteri ekstrak etanol daun Daruju (**Gambar 2**) (Hudzicki, 2009).



Gambar 2. Pengukuran zona hambat

HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi Tanaman Daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.)

Berdasarkan hasil determinasi, tanaman yang digunakan pada penelitian ini merupakan benar-benar tanaman daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.) dengan klasifikasi sebagai berikut.

Kindom: *Plantae*

Divisi : *Tracheophyta*

Kelas : *Magnoliopsida (dicots)* Ordo: *Lamiales* Famili : *Acanthaceae*

Genus : *Acanthus*

Spesies : *Acanthus ilicifolius* Linn.

Skrining Fitokimia

Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.)

No.	Pemeriksaan	Uji/Pereaksi	Hasil	Keterangan
1.	Alkaloid	Pereaksi Dragendorff	+	Endapan jingga
2.	Flavonoid	Shinoda test	+++	Menghasilkan warna merah
3.	Fenolik	Reagent FeCl ₃	+++	Warna hijau kehitaman
4.	Steroid	Liebermann-burchard	+	Menghasilkan warna biru kehijauan
5.	Terpenoid	Liebermann burchard	+++	Menghasilkan warna merah kecokelatan
6.	Saponin	Uji Forth	-	Tidak menghasilkan buih

Keterangan: Banyak (+++), Sedikit (+), Tidak ada (-)

Sumber Data Primer (2020)

Skrining fitokimia merupakan suatu cara yang dapat dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa aktif dalam suatu bahan alam. Skrining fitokimia merupakan tahap pendahuluan setelah terbentuknya ekstrak etanol daun daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.) yang dapat memberi gambaran mengenai kandungan senyawa tertentu dalam daun daruju. Skrining fitokimia pada penelitian ini dilakukan secara kualitatif melalui reaksi warna dengan menggunakan suatu preaksi tertentu (Vifta & Advistasari, 2018). Berdasarkan hasil skrining fitokimia pada ekstrak etanol daun daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.), didapatkan gambaran senyawa aktif berupa alkaloid, flavonoid, steroid, fenol dan terpenoid.

Skrining fitokimia alkaloid dilakukan dengan cara sebanyak 0,5 g ekstrak ditambahkan 1 mL asam klorida 2 N dan 9 mL air suling, dipanaskan diatas penangas air selama 2 menit, kemudian didinginkan dan disaring. Filtrat yang diperoleh dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 2 tetes pereaksi Dragendorff (Mayasari & Laoli, 2018). Terdapat hasil positif pada penelitian ini karena terbentuk endapan jingga saat ekstrak etanol daun daruju ditambahkan pereaksi Dragendorff, hal tersebut terjadi dikarenakan adanya reaksi penggantian

ligan. Alkaloid yang memiliki atom nitrogen yang mempunyai pasangan electron bebas dapat mengganti ion iodo dalam preaksi tersebut (Padmasari et al., 2013).

Identifikasi golongan flavonoid dilakukan dengan uji shinoda yaitu menggunakan pereduksi serbuk magnesium. Reduksi tersebut dilakukan dalam suasana asam sehingga ditambahkan asam klorida (HCl) pekat dan amil alkohol. Reduksi magnesium dengan asam klorida pekat akan menunjukkan warna merah pada lapisan amil alkohol ekstrak etanol daun daruju (Hasibuan et al., 2020). Golongan senyawa ini mudah terekstrak dalam pelarut etanol yang memiliki sifat polar karena adanya gugus hidroksil, sehingga dapat terbentuk ikatan hidrogen (Ikalinus et al., 2015).

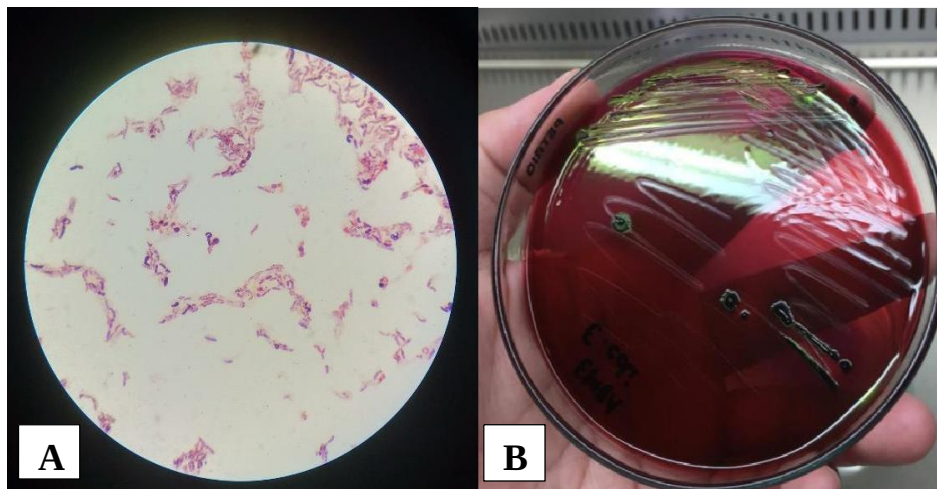
Senyawa fenol diidentifikasi dengan menggunakan reagen FeCl₃. Uji fitokimia fenol positif ditandai dengan perubahan warna hijau menjadi hijau kehitaman, hal ini terjadi karena karakteristik fenol yang dapat membentuk senyawa kelat dengan logam, mudah teroksidasi dan membentuk polimer yang menimbulkan warna gelap. Senyawa fenol sering digunakan sebagai antibakteri. Mekanisme fenol sebagai antibakteri adalah karena fenol mengubah permeabilitas membran sitoplasma yang menyebabkan kebocoran nutrient dari dalam sel sehingga sel bakteri akan mati atau terhambat pertumbuhannya dan mengendapkan protein (Pa, 2010).

Uji steroid dan triterpenoid menggunakan metode Liebermann-Bouchard, ekstrak ditambah pereaksi Liebermann-Bouchard (asam asetat anhidrat-H₂SO₄) menunjukkan hasil positif dengan adanya perubahan warna menjadi merah kecoklatan untuk steroid dan coklat-ungu untuk triterpenoid. Reaksi triterpenoid dengan pereaksi Liebermann menghasilkan warna merah-kecokelatan sedangkan steroid memberikan warna hijau-biru. Hal ini didasari oleh kemampuan senyawa triterpenoid dan steroid membentuk warna oleh H₂SO₄ dalam pelarut asam asetat anhidrid. Perbedaan warna yang dihasilkan oleh triterpenoid dan steroid disebabkan perbedaan gugus pada atom C-4 (Jauhari, 2019).

Identifikasi saponin dilakukan dengan menggunakan teknik uji Forth. Uji Forth dilakukan dengan cara sebanyak 10 mL larutan uji dalam tabung reaksi dikocok vertikal selama 10 detik kemudian dibiarkan selama 10 detik. Pembentukan busa setinggi 1-10 cm yang stabil selama tidak kurang dari 10 menit, menunjukkan adanya saponin dan pada penambahan 1 tetes HCl 2N, busa tidak hilang. Pada uji saponin ekstrak etanol daun daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.) tidak ditemukannya busa saat dikocok, hal tersebut menandakan bahwa ekstrak etanol daun daruju tidak memiliki cukup kadar glikosida yang akan terhidrolisis. Saponin merupakan senyawa aktif permukaan yang dapat menimbulkan busa jika dikocok dalam air. Hal tersebut terjadi karena saponin memiliki gugus polar dan non polar yang akan membentuk misel. Pada saat misel terbentuk maka gugus polar akan menghadap ke luar dan gugus nonpolar menghadap ke dalam dan keadaan inilah yang tampak seperti busa (Ikalinus et al., 2015).

Karakterisasi Bakteri Uji

Karakterisasi bakteri uji dilakukan secara mikroskopis dan makroskopis. Bakteri uji *Escherichia coli* didapatkan dari biakan murni yang berasal dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Indonesia. Karakterisasi bakteri uji dilakukan dengan menggunakan teknik pewarnaan gram dan Eosin Methylene Blue Agar (EMBA). Hasil karakterisasi bakteri uji dapat dilihat pada tabel **Gambar 3** sebagai berikut.



Gambar 3 Hasil Karakterisasi *Escherichia coli* ATCC 25922

(A) Pemeriksaan Mikroskopis perbesaran 100x (B) Pemeriksaan Makroskopis pada Media Eosin Methylene Blue Agar (EMBA)

Aktivitas Antibakteri

Hasil uji aktivitas antibakteri pada penelitian ini digunakan 15 variasi konsentrasi dan 2 kontrol yaitu kontrol positif (siprofloksasin 5 ug/disk dan sefotaksim 30 ug/disk) dan kontrol negatif (aquadest + tween 80) dapat dilihat pada **Tabel 2** sebagai berikut.

Tabel 2. Hasil Aktivitas Antibakteri Terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922

No.	Konsentrasi	Diameter Zona Hambat (mm)				Rata-rata (mm)	Keterangan
Pengulangan ke-		I	II	III	IV		
1.	20 mg/mL	0	0	0	0	0	Tidak ada zona hambat
2.	30 mg/mL	0	0	0	0	0	Tidak ada zona hambat
3.	40 mg/mL	0	0	0	0	0	Tidak ada zona hambat
4.	50 mg/mL	0	0	0	0	0	Tidak ada zona hambat
5.	60 mg/mL	0	0	0	0	0	Tidak ada zona hambat
6.	Kontrol (-)	0	0	0	0	0	Tidak ada zona hambat
7.	Kontrol (+) sefotaksim 30 ug/disk	0	0	0	0	0	Tidak ada zona hambat
8	Kontrol (+) iprofloksasi n 5 ug/disk	11, 9	11, 12, 5 5	11, 9	11, 9	11,95	Resisten

Sumber Data Primer (2021)

Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.) terhadap *Escherichia coli*, dilakukan dengan metode difusi cakram. Metode difusi cakram dilakukan dengan tujuan untuk melihat zona hambat yang dihasilkan oleh ekstrak etanol daun daruju terhadap *E. coli* dengan mengukur diameter zona beningnya setelah diinkubasi pada suhu 35°C $\pm$ 2° C selama 18-24 jam (Hudzicki, 2009). Terdapat lima variasi konsentrasi ekstrak etanol daun daruju yaitu 20 mg/mL, 30 mg/mL, 40 mg/mL, 50 mg/mL dan 60 mg/mL, serta dua kelompok kontrol yang dipakai yaitu kontrol positif antibiotik siprofloksasin 5 ug/disk dan sefotaksim 30 ug/disk serta kontrol negatif aquadest + tween 80.

Uji aktivitas kontrol positif pada penelitian ini menggunakan antibiotik siprofloksasin 5 ug/disk dan sefotaksim 30 ug/disk. Hasil dari antibiotik siprofloksasin 5 ug/disk didapatkan rata-rata diameter zona hambat sebesar 11,95 mm dengan interpretasi resisten, dimana menurut *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2019) nilai zona hambat $\leq$ 15 mm dikategorikan resisten, zona hambat 16-20 mm dikategorikan intermediet dan zona hambat $\geq$ 21 mm dikategorikan sensitif. Dikarenakan hasil kontrol positif siprofloksasin menunjukkan hasil yang resisten terhadap *E.coli* diperlukan alternatif antibiotik lain seperti sefotaksim. Alasan dipakai sefotaksim sebagai alternatif kontrol positif dikarenakan pada penelitian sebelumnya dijelaskan bahwa *Escherichia coli* yang resisten terhadap siprofloksasin dapat sensitif terhadap sefotaksim (Jauhari, 2019; Pa, 2010). Hasil dari uji kontrol positif pada antibiotik sefotaksim 30 ug/disk tidak menghasilkan zona hambat dengan interpretasi resisten (Saraswati, 2011).

Terdapat beberapa kemungkinan faktor yang menyebabkan hasil dari antibiotik siprofloksasin dan sefotaksim resisten yaitu faktor kepadatan inokulum, penyimpanan bakteri uji, dan faktor bakteri uji. Kepadatan inokulum dapat menyebabkan hasil yang berbeda jika terlalu padat ataupun terlalu sedikit. Inokulum yang terlalu padat dapat menyebabkan ukuran zona hambat akan turun dan bakteri yang peka mungkin dilaporkan sebagai resisten. Sebaliknya, jika inokulum terlalu sedikit, maka zona hambat semakin besar (Yuliani et al., 2019). Pada penelitian ini, inokulasi bakteri uji ke media agar Mueller-Hinton sudah sesuai dengan protokol pengujian menggunakan difusi Kirby-Bauer, akan tetapi kemungkinan terdapat kesalahan pengujian yang tidak diketahui.

Penyimpanan isolat bakteri juga mempengaruhi zona hambat pada uji kontrol positif. Penyimpanan isolat yang dilakukan dengan melakukan transfer koloni secara berkala (*subculturing*) yaitu memindahkan isolat dari satu media tumbuh ke media tumbuh selanjutnya memiliki banyak kelemahan diantaranya yaitu isolat menjadi berubah karakter morfologi dan fisiologinya, berkurang atau kehilangan viabilitasnya dan berisiko tinggi terkontaminasi, oleh karena itu waktu lama penyimpanan isolat *Escherichia coli* mempengaruhi keadaan resistensi terhadap antibiotik. Selain itu resistensi diakibatkan juga karena adanya peluang terjadinya kontaminasi, sehingga *E coli* tersebut akan mengalami resisten terhadap antibiotik yang di uji (Pasaribu, 2017). Pada penelitian ini dipakai bakteri murni dari koleksi Laboratorium Biologi Fakultas MIPA Universitas Tanjungpura. Bakteri uji kemungkinan sudah sering dilakukan kultur dan penyimpanannya yang sudah lama.

Adapun faktor lain yang mempengaruhi zona hambat dari uji kontrol positif ini, yaitu faktor dari bakteri uji (*Escherichia coli*) yang kemungkinan telah resisten terhadap antibiotik siprofloksasin dan sefotaksim. Siprofloksasin merupakan antibiotik golongan fluoroquinolone yang sering dipakai pada kasus infeksi. Pada penelitian sebelumnya dijelaskan bahwa mekanisme utama kejadian resistensi golongan fluoroquinolone yaitu terdapat modifikasi pada

DNA gyrase menyebabkan diproduksinya enzim aktif akan tetapi tidak dapat diikat oleh fluorokuinolon (Pasaribu, 2017).

Sefotaksim merupakan antibiotik golongan sefalosporin generasi ketiga. Resistensi *E. coli* terhadap sefalosporin dapat disebabkan oleh produksi extended-spectrum β -lactamase (ESBL) oleh bakteri tersebut. Strain bakteri yang menghasilkan ESBL sudah resisten terhadap semua penisilin, sefalosporin (termasuk generasi ketiga dan keempat), dan aztreonam. Bakteri tersebut juga dapat mengalami resistensi silang terhadap trimetoprim/sulfametoksazol dan kuinolon (Yuliani et al., 2019). Pada tahun 2030 diprediksi resistensi *E. coli* terhadap sefalosporin generasi ketiga diperkirakan sebanyak 77%, akan tetapi dalam memastikan resistensi antibiotik perlu dilakukan uji resistensi yang lebih lengkap (Alvarez-Uria et al., 2018). Bakteri *E. coli* pada penelitian ini juga belum bisa dibilang bakteri *Multidrug Resistant E. coli* dikarenakan MDR *E. coli* terjadi jika terdapat kerentanan terhadap paling sedikit satu antibiotik dalam tiga kelas antibiotik (Aminah & Jamilaton, 2016).

Hasil uji aktivitas aquadest + tween 80 yang merupakan kontrol negatif pada penelitian ini menunjukkan tidak ada zona hambat di sekitar cakram. Hal tersebut menandakan bahwa aquadest + tween 80 tidak memberikan kontribusi dalam menghambat aktivitas antibakteri. Penambahan pelarut tween 80 berfungsi sebagai *solubilizing agent* yang dapat meningkatkan kelarutan aquadest, karena tween 80 memiliki struktur etilen oksida dan rantai hidrokarbon panjang yang memberikan karakteristik lipofilik dan hidrofilik (Ismail et al., 2018).

Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.) pada konsentrasi 20 mg/mL, 30 mg/mL, 40 mg/mL, 50 mg/mL dan 60 mg/mL tidak ditemukannya zona hambat di sekitar cakram, sehingga tidak terdapat aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun daruju terhadap *Escherichia coli*. Pada penelitian sebelumnya juga tidak ditemukan zona hambat pada bakteri *Escherichia coli*. Hal tersebut dikarenakan *E. coli* yang merupakan bakteri Gram negatif, memiliki dinding yang lebih kompleks. Bakteri Gram negatif memiliki tiga lapis dinding sel yang diantaranya yaitu lapisan membran luar (terdiri dari lipid, liposakarida (endotoksin) dan protein), lapisan peptidoglikan tipis dan membran dalam. Keadaan ini menyebabkan beberapa senyawa tidak dapat merusak dinding sel dari *E. coli* dan aktivitas penghambatan pada bakteri ini sangat lemah. Bakteri gram negatif lebih banyak mengandung lipid, sedikit peptidoglikan, membran luar berupa bilayer (berfungsi sebagai pertahanan selektif senyawa-senyawa yang keluar atau masuk sel dan menyebabkan efek toksik). Membran luar terdiri dari fosfolipid yang tersusun atas lipid A, yang bersifat nonpolar. Hal ini yang menyebabkan aktivitas penghambatan pada bakteri gram negatif sangat lemah (Ekklesia et al., 2020; Lestari & Puji Ardiningsih, 2016).

Pada hasil dari skrining fitokimia ekstrak etanol daun daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.) didapatkan senyawa aktif berupa alkaloid, flavonoid, steroid, fenol dan terpenoid. Senyawa alkaloid bersifat antibakteri, diduga dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel. Senyawa flavonoid juga memiliki kemampuan sebagai antibakteri dengan cara membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler dan protein terlarut dan membentuk kompleks dengan dinding sel bakteri. Flavonoid lipofilik juga dapat mengganggu membran mikroba. Flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom, dan lisosom sebagai hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri. Mekanisme kerja senyawa terpenoid sebagai zat antibakteri diduga melibatkan

kerusakan membran oleh senyawa lipofilik. Senyawa Terpenoid juga memiliki kemampuan sebagai antibakteri dengan cara bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat dan merusak porin, mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri sehingga sel bakteri kekurangan nutrisi, dan menyebabkan pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (Haryati & Saleh, 2016; Prihatiningtiyas et al., 2018). Senyawa fenol juga sering digunakan sebagai antibakteri. Mekanisme fenol sebagai antibakteri adalah karena fenol mengubah permeabilitas membran sitoplasma yang menyebabkan kebocoran nutrient dari dalam sel sehingga sel bakteri akan mati atau terhambat pertumbuhannya dan mengendapkan protein (Ikalinus et al., 2015). Steroid dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara merusak membran lipid, sehingga liposom mengalami kebocoran (Sudarmi et al., 2017). Namun dari hasil penelitian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.) tidak menunjukkan zona hambat atau tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli*.

Terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi zona hambat ekstrak etanol daun daruju terhadap *Escherichia coli* diantaranya yaitu faktor teknis, faktor biologis, dan faktor ekstrak. Faktor teknis yang mempengaruhi zona hambat ekstrak etanol daun daruju terhadap *E. coli* yaitu kepekatan inokulum, waktu pemasangan cakram, suhu inkubasi, waktu inkubasi, ketebalan media agar dan komposisi media. Faktor-faktor tersebut dapat dikendalikan oleh peneliti selama penelitian dimana suhu inkubasi diatur pada suhu 37°C yang merupakan suhu optimal bakteri uji dalam 24 jam. Inokulum telah disesuaikan dengan standar Mc Farland 0,5 yang setara dengan jumlah pertumbuhan $1,5 \times 10^8$ CFU/mL. Media yang dipakai pada uji ini merupakan media agar Mueller-Hinton yang merupakan media terbaik dalam pengujian antibakteri (Nor et al., 2018).

Faktor biologis yang menyebabkan tidak adanya zona hambat pada uji aktivitas antibakteri yaitu faktor bakteri uji. Bakteri uji yang digunakan pada penelitian ini merupakan bakteri *Escherichia coli*. Bakteri *E. coli* merupakan bakteri Gram negatif yang memiliki lapisan-lapisan dinding sel yang lebih kompleks dibandingkan dengan bakteri Gram positif, sehingga ekstrak etanol daun daruju lebih sulit berdifusi ke dalam membran sel bakteri Gram negatif. Dinding sel bakteri Gram negatif memiliki sifat permeabilitasnya tinggi, sehingga zat aktif dalam ekstrak etanol daun daruju tidak dapat masuk secara maksimal ke dalam sel bakteri yang mengakibatkan kurang optimalnya ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Dinding bakteri juga terdiri dari lipoprotein yang mengandung molekul protein yaitu porin dan lipopolisakarida. Porin inilah yang bersifat hidrofilik, sedangkan ekstrak bersifat hidrofobik. Karena perbedaan sifat inilah, molekul komponen ekstrak menjadi lebih sulit masuk ke dalam bakteri (Suryati et al., 2018).

Faktor ekstrak yang menyebabkan tidak adanya zona hambat ekstrak etanol daun daruju terhadap bakteri *Escherichia coli* yaitu konsentrasi ekstrak. Pada penelitian sebelumnya didapatkan zona hambat antibakteri ekstrak daun binahong terhadap bakteri *E. coli* yang meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi (Abima et al., 2017). Pada penelitian lain didapatkan peningkatan zona hambat ekstrak daun daruju (*Acanthus ilicifolius*) pada konsentrasi 60 mg/mL, 70 mg/mL, 80 mg/mL, 90 mg/mL dan 100 mg/mL terhadap bakteri *Salmonella typhi* seiring dengan bertambahnya konsentrasi. Berdasarkan kedua penelitian tersebut dapat disimpulkan kemungkinan terdapat zona hambat ekstrak etanol daun daruju terhadap *E.coli* jika ditingkatkan konsentrasinya (Rosa & Maryani, 2020).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun Daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.) mengandung beberapa metabolit sekunder, yaitu alkaloid, flavonoid, fenol, steroid, dan terpenoid. Meskipun ekstrak etanol daun Daruju mengandung berbagai senyawa aktif, penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak tersebut tidak memiliki aktivitas antibakteri yang signifikan terhadap *Escherichia coli* pada berbagai konsentrasi yang diuji, yaitu 20 mg/mL, 30 mg/mL, 40 mg/mL, 50 mg/mL, dan 60 mg/mL. Hal ini menunjukkan bahwa meskipun terdapat kandungan senyawa aktif dalam ekstrak daun Daruju, senyawa-senyawa tersebut tidak efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* pada kondisi percobaan yang dilakukan. Penelitian ini memberikan wawasan bahwa ekstrak etanol daun Daruju mungkin memerlukan pengolahan lebih lanjut atau pengujian pada konsentrasi yang lebih tinggi atau pada bakteri lain untuk mengevaluasi potensi antibakterinya secara lebih mendalam.

DAFTAR PUSTAKA

- Abima, F., Bahar, M., & Chairani, A. (2017). Uji efektivitas antibakteri ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (ten.) Steenis) terhadap isolat bakteri *Escherichia coli* jajan cilok secara in vitro dengan metode difusi. *Jurnal Profesi Medika: Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan*, 11(1).
- Alvarez-Uria, G., Gandra, S., Mandal, S., & Laxminarayan, R. (2018). Global forecast of antimicrobial resistance in invasive isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *International Journal of Infectious Diseases*, 68, 50–53.
- Aminah, A., & Jamilatun, M. (2016). Multidrug Resistant *Escherichia coli* pada Sumber Air Minum di Kota Tangerang. *Jurnal Medikes (Media Informasi Kesehatan)*, 3(1), 31–40.
- Brooks, G. F., Butel, J. S., Morse, S. A., & Mudiardi, E. (2005). *Jawetz, Melnick, & Adelberg's mikrobiologi kedokteran*. Salemba Medika.
- Ekklesia, L. P., Astuty, E., & Huliselan, I. (2020). Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun *Bouea macrophylla* Griff Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *JPCS*, 3(2), 229–233.
- Ernianingsih, S. W., & Mukarlina, R. L. (2014). Etnofarmakologi Tumbuhan Mangrove *Achantus ilicifolius* L., *Acrostichum speciosum* L. dan *Xylocarpus rumphii* Mabb. Di Desa Sungai Tekong Kecamatan Sungai Kakap Kabupaten Kubu Raya. *Protobiont*, 3(2).
- Haryati, N. A., & Saleh, C. (2016). Uji toksisitas dan aktivitas antibakteri ekstrak daun merah tanaman pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Kimia Mulawarman*, 13(1).
- Hasibuan, A. S., Edrianto, V., & Purba, N. (2020). Skrining fitokimia ekstrak etanol umbi bawang merah (*Allium cepa* L.). *Jurnal Farmasimed (JFM)*, 2(2), 45–49.
- Hudzicki, J. (2009). Kirby-Bauer disk diffusion susceptibility test protocol. *American Society for Microbiology*, 15(1), 1–23.
- Ikalinus, R., Widyastuti, S. K., & Setiasih, N. L. E. (2015). Skrining fitokimia ekstrak etanol kulit batang kelor (*Moringa oleifera*). *Indonesia Medicus Veterinus*, 4(1), 71–79.
- Ismail, I., Leboe, D. W., & Syaputri, N. E. (2018). Pengaruh Perbandingan Konsentrasi Tween 80 dan Fosfatidilkolin terhadap Karakteristik Transfersom Asam Askorbat. *Ad-*

- Dawaa' Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1(2).
- Jauhari, A. (2019). Uji Efek Antibakteri Ekstrak Air Bunga Nagasari (*Mesua ferrea* L.) terhadap Isolat Klinis *Escherichia coli* Resisten Siprofloksasin. *Pharmaceutical Journal of Indonesia*, 4(2), 59–62.
- Lestari, Y., & Puji Ardiningsih, N. (2016). Aktivitas antibakteri gram positif dan negatif dari ekstrak dan fraksi daun nipah (*Nypa fruticans* Wurmb.) asal pesisir sungai kakap Kalimantan Barat. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 5(4).
- Levinson, W. (2008). Review of medical microbiology and immunology. (*No Title*).
- Mayasari, U., & Laoli, M. T. (2018). Karakterisasi simplisia dan skrining fitokimia daun jeruk lemon (*Citrus limon* (L.) burm. f.). *KLOROFIL: Jurnal Ilmu Biologi Dan Terapan*, 2(1), 7–13.
- Nor, T. A., Indriarini, D., & Koamesah, S. M. J. (2018). Ji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun pepaya (*Carica papaya* L) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* secara in vitro. *Cendana Medical Journal*, 6(3), 327–337.
- Pa, W. (2010). Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: 20th informational supplement. *CLSI Document M100-S20*.
- Padmasari, P. D., Astuti, K. W., & Warditiani, N. K. (2013). Skrining fitokimia ekstrak etanol 70% rimpang bangle (*Zingiber purpureum* Roxb.). *Jurnal Farmasi Udayana*, 2(4), 279764.
- Pasaribu, D. (2017). *Uji kepekaan isolat klinis Escherichia coli terhadap antibiotika*.
- Prihatiningtiyas, W., Mariani, Y., Oramahi, H. A., Yusro, F., & Sisilia, L. (2018). Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol kulit batang mangga kweni (*Mangifera odorata* Griff) terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 DAN *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. *Tengkawang: Jurnal Ilmu Kehutanan*, 8(2).
- Rosa, Y., & Maryani, M. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Daun Daruju (*Acanthus ilicifolius*) Terhadap Bakteri *Salmonella* Thypi. *Babul Ilmi Jurnal Ilmiah Multi Science Kesehatan*, 12(1).
- Saptiani, G., Prayitno, S. B., & Anggoro, S. (2013). Potensi Antibakteri Ekstrak Daun Jeruju (*Acanthus ilicifolius*) Terhadap *Vibrio harveyi* Secara In Vitro. *Jurnal Kedokteran Hewan-Indonesian Journal of Veterinary Sciences*, 7(1).
- Saraswati, D. (2011). Pengaruh konsentrasi ekstrak daun sirih terhadap daya hambat *Escherichia coli*. *Jurnal Health and Sport*, 3(2).
- Sudarmi, K., Darmayasa, I. B. G., & Muksin, I. K. (2017). Uji fitokimia dan daya hambat ekstrak daun juwet (*Syzygium cumini*) terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* ATCC. *Jurnal Simbiosis*, 5(2), 47–51.
- Suryati, N., Bahar, E., & Ilmiawati, I. (2018). Uji Efektivitas antibakteri ekstrak aloe vera terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* secara in vitro. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 6(3), 518–522.
- Suwarto, S. (2014). Penyakit Tropik dan Infeksi pada Abad 21: Apakah Masih Relevan? *Jurnal Penyakit Dalam Indonesia*, 1(2), 1.
- Syahrurachman, A., Chatim, A., Soebandrio, A., Karuniawati, A., Santoso, A., & Harun, B. (1994). Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran Edisi Revisi. *Jakarta: Binapura Aksara*.
- Tria, G., Nurhamidah, N., & Amir, H. (2018). Potensi ekstrak metabolit sekunder *Eugenia*

- uniflora L. sebagai bahan pengawet tahu. *Alotrop*, 2(1).
- Utami, E. R. (2011). Antibiotika, resistensi, dan rasionalitas terapi. *Sainstis*.
- Vifta, R. L., & Advistasari, Y. D. (2018). Skrining Fitokimia, Karakterisasi, dan Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak dan Fraksi-Fraksi Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* B.). *Prosiding Seminar Nasional Unimus*, 1.
- Yuliani, R., Prasetyo, M. N., & Liberitera, S. (2019). Aktivitas antibakteri beberapa ekstrak tanaman terhadap *Escherichia coli* resisten antibiotik. *Prosiding University Research Colloquium*, 80–87.