

Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Ketapang (*Terminalia cattapa* L.) Terhadap Bakteri Patogen

Muharni Saputri^{1,*}, Vriezka Mierza², Nilsya Febrika Zebua³, M Ridho Pangestu Panjaitan⁴

¹ Department of Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Universitas Tjut Nyak Dhien, Medan, Indonesia

² Department of Biology, Faculty of Pharmacy, Universitas Tjut Nyak Dhien, Medan, Indonesia

³ Department of kimia, Faculty of Pharmacy, Universitas Tjut Nyak Dhien, Medan, Indonesia

⁴ Faculty of Pharmacy, Universitas Tjut Nyak Dhien, Medan, Indonesia

Jl. Rasmi No, 28 Sei Sikambing C. II, Kec. Medan Helvetia, Medan, Sumatra Utara, 20123, Indonesia

Email: ^{1,*} muharnisaputri16@gmail.com, ² vriezka.mierza@fikes.unsika.ac.id, ³ ridhopjt14@gmail.com

Email Penulis Korespondensi: muharnisaputri16@gmail.com

Abstrak—Antibakteri bekerja dengan mencegah dan mengelola pertumbuhan bakteri patogen. Tujuan dari pengendalian pertumbuhan bakteri adalah untuk menghentikan penyebaran infeksi. Pada dasarnya masyarakat menggunakan obat sintetik dalam pencegahan antibakteri namun sering kali banyak terjadi resistensi pada tubuh manusia sehingga dapat mengakibatkan dampak yang buruk. Bahan aktif dalam daun ketapang memiliki potensi untuk bertindak sebagai antibiotik alami dan antibakteri untuk memerangi resistensi antibiotik. Untuk mengetahui efektivitas antibakteri senyawa kimia tersebut terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, *Demacoccus nishinomiyaensi*, *Stapylococcus epidermidis* dan *Micrococcus luteus*, maka dilakukanlah penelitian dengan tujuan untuk mengetahui kandungan senyawa kimia yang terdapat dalam daun ketapang berdasarkan hasil maserasi. Penelitian ini menggunakan metode deskriptif eksperimental dengan bahan uji daun Ketapang (*Terminalia cattapa* L.) Tahap penelitian ini meliputi pembuatan simplisia, ekstraksi secara maserasi menggunakan pelarut etanol, uji aktivitas antibakteri metode difusi agar sumur dan analisis komponen senyawa kimia secara skrining fitokimia. Hasil pengeringan daun ketapang segar menghasilkan simplisia sebanyak 1,6 kg, dan ketika 300 gram simplisia daun ketapang dimaserasi dengan menggunakan etanol pro analisis, diperoleh 1,5 kg simplisia. Ekstrak etanol hasil maserasi daun ketapang memiliki aktivitas antibakteri yang ditunjukkan dengan daya hambat terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* sebesar 18,38 mm, bakteri *Demacoccus nishinomiyaensis* sebesar 23,05 mm, bakteri *Staphylococcus epidermidis* sebesar 18,71 mm, dan bakteri *Micrococcus luteus* sebesar mm sebesar 20,71 mm. Setelah dilakukan skrining terhadap ekstrak etanol daun ketapang, ditemukan komponen triterpenoid, glikosida antraquinon, saponin, dan tanin. Senyawa flavonoid juga ditemukan.

Kata Kunci: Daun Ketapang (*Terminalia cattapa* L.); skrining fitokimia; ekstrak etanol; Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*; *Demacoccus nishinomiyaensi*; *Stapylococcus epidermidis* dan *Micrococcus luteus*.

Abstract—Antibacterials work by preventing and managing the growth of pathogenic bacteria. The goal of controlling bacterial growth is to stop the spread of infection. Basically, people use synthetic drugs in antibacterial prevention but often there is a lot of resistance in the human body that can cause adverse effects. The active ingredients in ketapang leaves have the potential to act as natural antibiotics and antibacterials to combat antibiotic resistance. To determine the antibacterial effectiveness of these chemical compounds against bacteria *Pseudomonas aeruginosa*, *Demacoccus nishinomiyaensi*, *Stapylococcus epidermidis* and *Micrococcus luteus*, a study was conducted with the aim of knowing the content of chemical compounds contained in ketapang leaves based on maceration results. This study uses an experimental descriptive method with Ketapang leaf test material (*Terminalia cattapa* L.) This research stage includes making simplisia, maceration extraction using ethanol solvent, antibacterial activity test agar well diffusion method and analysis of chemical compound components by phytochemical screening. The results of drying fresh ketapang leaves produce as much as 1.6 kg of simplisia, and when 300 grams of ketapang leaf simplisia is macerated using ethanol pro analysis, 1.5 kg of simplisia is obtained. The ethanol extract from the maceration of ketapang leaves has antibacterial activity as shown by the inhibition of *Pseudomonas aeruginosa* bacteria by 18.38 mm, *Demacoccus nishinomiyaensis* bacteria by 23.05 mm, *Staphylococcus epidermidis* bacteria by 18.71 mm, and *Micrococcus luteus* bacteria by 20.71 mm. After screening the ethanol extract of ketapang leaves, triterpenoid components, anthraquinone glycosides, saponins, and tannins were found. Flavonoid compounds were also found.

Keywords: Daun Ketapang (*Terminalia cattapa* L.); screening phytochemicals; ethanol extract; Bacteria *Pseudomonas aeruginosa*; *Demacoccus nishinomiyaensi*; *Stapylococcus epidermidis* dan *Micrococcus luteus*.

1. PENDAHULUAN

Jenis penyakit yang paling banyak diderita oleh masyarakat di negara-negara miskin seperti Indonesia adalah penyakit menular. Masalah kesehatan yang dikenal sebagai penyakit menular disebabkan oleh masuk dan tumbuhnya mikroorganisme ke dalam tubuh termasuk bakteri, virus, jamur, prion dan protozoa. Ketika kuman berinteraksi dengan inangnya dan menyebabkan kerusakan jaringan yang menghasilkan berbagai gejala dan indikator klinis maka terjadilah infeksi. Mikroorganisme patogen adalah nama lain dari bakteri yang menyebabkan penyakit menular (Adi Saputra et al., 2021).

Antibiotik digunakan sebagai obat yang memiliki kemampuan untuk menghentikan pertumbuhan kuman atau membunuhnya. Penelitian yang dilakukan secara global mengenai penggunaan antibiotik pada pasien rawat jalan menunjukkan bahwa dari seluruh pasien yang diresepkan hanya 69% yang menyelesaikan pengobatan hingga obatnya habis (Asali et al., 2023). Perubahan perilaku tentang penggunaan antibiotik diperlukan seperti halnya pemahaman dan kesadaran yang memadai tentang resistensi antibakteri. Resistensi antibakteri masih belum diketahui secara luas di kalangan masyarakat umum dan profesional kesehatan, menurut evaluasi WHO baru-baru ini tentang keadaan kesehatan bangsa.

Tubuh manusia memiliki banyak sekali kuman salah satunya bakteri *Staphylococcus epidermidis*. Jika bakteri ini melewati permukaan kulit dan masuk ke dalam aliran darah bakteri ini dianggap berbahaya dan sering kali resisten

terhadap antibiotik terutama yang termasuk dalam keluarga penisilin. Pada lensa kontak, kateter dan katup jantung palsu, bakteri *Staphylococcus epidermidis* membangun biofilm. Ketika biofilm ini dilepaskan bakteri ini dapat menyebabkan bakteremia yang meningkatkan risiko kematian Manusia dapat dengan mudah tertular *Staphylococcus aureus*, flora umum yang hidup di kulit dan sistem pernapasan bagian atas. Infeksi yang ditularkan melalui mikroorganisme dapat menyebar melalui kontak langsung atau interaksi dengan individu yang terinfeksi (Saptowo et al., 2022).

Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* gram negatif berbentuk batang, motil dan tidak membentuk spora. Mereka juga memiliki satu atau lebih flagela di tepinya. Meskipun ada nitrat di lingkungan, bakteri ini mampu berkembang secara anaerobik. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* tidak memiliki enzim hidrolitik yang sangat penting untuk memecah polimer menjadi monomer. Namun, bakteri ini memiliki sistem operon yang dapat diinduksi, yang memungkinkan mereka untuk membuat enzim tertentu, terutama yang terlibat dalam metabolisme sumber karbon yang tidak umum (Nasri et al., 2022).

Zat kimia atau biologis yang dikenal sebagai “antimikroba” digunakan untuk menghentikan penyebaran bakteri dan jamur serta membasminya. Resistensi antimikroba dapat diakibatkan oleh penggunaan antibiotik yang berlebihan dan tidak rasional. Antimikroba umumnya bekerja dengan cara mencegah pembuatan dinding sel bakteri, merusak integritas membran sel bakteri, mencegah sintesis asam nukleat bakteri dan mencegah sintesis protein bakteri (Maya Puspitasari et al., 2022). Untuk mengikat bahan aktif yang terkandung di dalamnya, pemilihan pelarut yang tepat untuk prosedur ekstraksi sangatlah penting. Pelarut yang digunakan adalah pelarut etanol p.a. karena merupakan pelarut polar selektif yang memungkinkan sebagian besar metabolit sekunder yang terdapat pada simplisia dapat terekstrak. Selain itu, pelarut etanol p.a. umumnya digunakan dalam prosedur pemisahan komponen organik bahan alam (Nasri et al., 2022).

Tanaman Ketapang yang juga dikenal dengan nama *Terminalia catappa* L., merupakan salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai obat herbal. Spesies ini dapat ditemukan tumbuh di aliran sungai, hutan rawa, hutan pantai dan pegunungan. Selain mudah didapat penggunaan daun ketapang sebagai obat tradisional akan lebih murah. Menurut bukti empiris tanaman Ketapang (*Terminalia catappa* L.) digunakan untuk menyembuhkan berbagai macam penyakit termasuk kudis, kurap, sariawan, hipertensi, nyeri haid dan pendarahan yang disebabkan oleh bakteri dan jamur. Selain itu daun Ketapang (*Terminalia catappa* L.) memiliki kandungan zat-zat seperti flavonoid, triterpenoid, steroid, alkaloid dan tanin. Zat-zat ini mungkin memiliki sifat antibakteri dan antijamur (Siva et al., 2023).

Menurut penelitian sebelumnya, bahan kimia aktif yang ditemukan dalam daun *Terminalia catappa* L. (ketapang) termasuk flavonoid, alkaloid, dan tanin. Senyawa-senyawa tersebut telah terbukti memiliki sifat antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa*, *Demacoccus nishinomiyaensi*, *Stapylococcus epidermidis* dan *Micrococcus luteus*. Bahan-bahan yang mengganggu perkembangan dan metabolisme bakteri untuk mencegah atau bahkan membasmi pertumbuhan bakteri dikenal sebagai zat antibakteri. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengevaluasi khasiat ekstrak daun ketapang dengan memanfaatkan bahan kimia bioaktif dari keanekaragaman hayati untuk mendapatkan senyawa antibakteri sebagai respon dari peningkatan resistensi bakteri terhadap antibiotik.

Pada penelitian ini menggunakan ampas simplisia dari daun Ketapang sebagai ekstrak dan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol p.a. bersifat polar. Ekstrak daun Ketapang tersebut akan di uji sebagai antibakteri pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, *Demacoccus nishinomiyaensi*, *Stapylococcus epidermidis* dan *Micrococcus luteus*.

2. METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan metode deskriptif dan eksperimental dengan sampel daun Ketapang (*Terminalia catappa* L.). Identifikasi daun ketapang dilakukan di *Herbarium Medanense* (MEDA) Universitas Sumatera Utara. Tahapan penelitian ini dimulai dari pengambilan sampel tanaman dan identifikasi daun Ketapang (*Terminalia catappa* L.). Setelah itu, dilakukan pengolahan sampel yang meliputi pemilihan konsentrasi etanol daun Ketapang (*Terminalia catappa* L.), pengolahan simplisia, dan skrining fitokimia sebelum dibuat sampel ekstrak etanol dengan cara maserasi dengan konsentrasi 100 mg/ml, 50 mg/ml, 25 mg/ml, 12,5 mg/ml, 6,25 mg/ml, 3,125 mg/ml dan blanko formulasi.

2.1. Alat-alat yang digunakan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu alat-alat gelas laboratorium (Pyrex), blender (Miyako), cawan porselin, cawan petri, bunsen, inkubator (Memment), jangka sorong, jarum ose, spuit (OneMed), kompor gas (Rinnai), lemari pendingin (Panasonic), lemari pengering, oven (Memmert), pencadang logam diameter 6 mm, serangkaian alat perkolator (Merck), pinset, timbangan digital (Vibra AJ) dan vortex mixer.

2.2. Bahan – bahan yang digunakan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu bahan tumbuhan, bahan-bahan kimia, biakan klinis dan kultur bakteri murni. Bahan tumbuhan yang digunakan adalah daun Ketapang (*Terminalia catappa* L.). Bahan kimia yang digunakan pada penelitian ini adalah akuades, Mc.Farland, alfa naftol (Merck®), amonia (Merck®), aqua pro injection (Ikapharmindo Putramas®), asam asetat anhidrida (Merck®), asam asetat glasial (Merck®), asam klorida pekat (Merck®), asam klorida 2 N, asam nitrat (Merck®), asam pikrat (Merck®), asam sulfat (Merck®), benzen (Merck®), besi (III) klorida (Merck®), bismut (III) nitrat (Merck®), dietil eter (Merck®), dimetilsulfoksida (Merck®), etanol (Merck®), etilasetat (Merck®), heksana (Merck®), iodida (Merck®), isopropanol (Merck®), kalium iodida (Merck®), kloramfenikol (SERVA®), kloroform (Merck®), kuprisulfat (Merck®), magnesium (Merck®), etanol (Merck®), natrium hidroksida (Merck®), natrium karbonat (Merck®), natrium sulfat anhidrat (Merck®), natrium pikrat (Merck®),

natrium tiosulfat (Merck®), petroleum eter (Merck®), timbal (II) asetat (Merck®) dan zinkum (Merck®). Media yang digunakan adalah Mueller Hinton Agar (Himedia®), Mueller Hinton Broth (Himedia®), Nutrient Agar (Himedia®). Biakan klinis yang digunakan adalah *Pseudomonas aeruginosa*, *Demacoccus nishinomiyaensi*, *Stapylococcus epidermidis* dan *Micrococcus luteus*.

2.3. Pengumpulan Bahan Tumbuhan Daun Ketapang

Pengumpulan bahan tanaman dilakukan secara purposif, artinya tanpa perbandingan dengan bahan tanaman sejenis dari daerah lain. Daun Ketapang (*Terminalia cattapa* L.) yang telah matang adalah bahan tanaman yang dikumpulkan. dan daun Ketapang (*Terminalia cattapa* L.) yang digunakan sebagai contoh. Desa Gajah Sakti, Bandar Pulau, Kabupaten Asahan, Sumatera Utara 21274; PT Djaja Pura Indonesia.

2.4. Pembuatan Simplisia Daun Ketapang

5 kg daun Ketapang (*Terminalia cattapa* L.) segar digunakan dalam penelitian ini, yang terdiri dari 5,5 kg daun yang dipilih dengan cermat dan telah dibersihkan sepenuhnya di bawah air mengalir, dikeringkan dengan cara diangin-anginkan pada suhu sekitar selama sekitar 24 jam dan kemudian ditempatkan di lemari pengering yang dipanaskan antara 40 dan 50 derajat Celcius selama sekitar 48 jam atau hingga daun tersebut benar-benar kering dan tidak gosong. Daun ketapang yang telah kering bersifat rapuh dan mudah patah, setelah dikeringkan, daun dihaluskan dengan blender dan diayak untuk menghasilkan serbuk simplisia daun ketapang. Setelah diperoleh serbuk simplisia, serbuk simplisia ditimbang sesuai dengan berat totalnya dan disimpan di tempat yang kering (Lady Yunita Handoyo & Pranoto, 2020).

2.5. Pembuatan Ekstrak Kental Daun Ketapang

Prosedur Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Ketapang (*Terminalia cattapa* L.). Sebanyak 300 gram daun ketapang (*Terminalia cattapa* L.) dimasukkan ke dalam bejana dan ditambahkan 3,75 liter etanol. Bejana kemudian ditutup rapat, dijauhkan dari cahaya dan diaduk tiga kali sehari selama tiga hari. Maserat I diperoleh dengan menyaringnya menggunakan kertas saring setelah tiga hari. Setelah dicampur dengan 1,25 L etanol p.a. dan disimpan dalam bejana tertutup dan jauh dari cahaya selama dua hari, diaduk setiap tiga jam, ampas yang dihasilkan dipisahkan untuk menghasilkan maserat II. Selanjutnya, hasil dari maserat I dan maserat II digabungkan, kemudian diuapkan dengan menggunakan rotating evaporator untuk mendapatkan hasil ekstrak kental daun *Terminalia cattapa* L. atau Ketapang (Rinawati et al., 2022).

2.6. Sterilisasi Alat dan Bahan

Untuk mencegah patogen asing selama prosedur pengujian aktivitas antibakteri, semua instrumen dan bahan steril disterilkan. Semua instrumen yang dapat mentolerir panas tinggi dan tidak bersifat kuantitatif disterilkan dalam oven pada suhu 170 °C selama 60 menit. Autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit digunakan untuk mensterilkan peralatan kuantitatif dan peralatan yang tidak tahan terhadap suhu tinggi. Pinset dan jarum ose disterilkan di atas api bunsen hingga berwarna merah. Setelah setiap alat digunakan untuk menguji aktivitas antibakteri, alat tersebut harus dibongkar dengan merebusnya selama setengah jam di dalam panci berisi air dan cairan desinfeksi (Saputri & Mierza, 2020).

2.7. Pembuatan Konsetrasi Ekstrak

Ekstrak daun ketapang (*Terminalia cattapa* L.) yang terbuat dari etanol ditimbang sebanyak 1 g, kemudian dilarutkan dalam 5 ml DMSO dan ditambahkan dengan 5 ml etanol hingga mencapai tanda 10 ml, menghasilkan konsentrasi 200 mg dan 100 mg. Ekstrak kemudian diencerkan lebih lanjut untuk menghasilkan 50 mg, 25 mg, 12,5 mg, 6,25 mg dan 3,125 mg/ml (Sumardi et al., 2023).

2.8. Peremajaan Bakteri

Pseudomonas aeruginosa, *Demacoccus nishinomiyaensi*, *Stapylococcus epidermidis*, dan *Micrococcus luteus* adalah empat kultur bakteri murni yang digunakan. Setiap dua hingga tiga hari kultur bakteri yang digunakan untuk pengujian aktivitas antibakteri diganti dan disimpan dalam inkubator pada suhu 35±2°C. Kultur bakteri yang diremajakan yang tidak digunakan untuk pengujian aktivitas antibakteri disimpan dalam lemari es dan diisi ulang setiap minggu sekali. Tujuan dari peremajaan bakteri adalah untuk menyediakan nutrisi yang dibutuhkan sel bakteri untuk berkembang seoptimal mungkin dan untuk memulai kembali metabolisme mereka. Dengan menggunakan jarum ose steril bakteri diambil dari kultur bakteri dan kemudian digoreskan secara zig-zag ke media agar miring. Nama bakteri dan tanggal peremajaan kemudian dituliskan pada media agar miring. Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan kultur bakteri (Rosmania & Yuniar, 2021).

2.9. Pembuatan Inokulum Bakteri

Dengan menggunakan jarum ose steril koloni bakteri diambil dari tanggal akhir peremajaan bakteri dan disuspensikan ke dalam tabung reaksi yang berisi 10 ml larutan medium *Mueller-Hinson broth*. Tabung reaksi kemudian dihomogenkan dengan menggunakan vortex. Proses ini dilakukan untuk menyiapkan inokulum bakteri uji. Setelah kultur suspensi bakteri uji diinkubasi selama 18 hingga 24 jam pada suhu 35 ± 2°C, kekeruhannya dibandingkan dengan larutan McFarland yang

telah divortex sebelumnya. Kultur suspensi bakteri kemudian di vortex kembali hingga kekeruhannya sesuai dengan larutan standar McFarland No. 3, atau setara dengan 900×10^6 CFU/ml (Anggraeni & Triajie, 2021).

2.10. Pengukuran Diameter Zona Hambat

Perkembangan zona hambat merupakan indikasi aksi antibakteri, dan keberadaannya ditunjukkan dengan pembentukan zona hambat. Dengan menggunakan pelat logam steril, metode difusi sumur agar (*Agar Well Plate Diffusion Assay Method*) digunakan untuk menilai aktivitas antibakteri pada setiap konsentrasi. Kaliper digunakan untuk mengukur diameter zona hambat yang mengelilingi sumuran. Dalam cawan petri steril, 10 mililiter media uji MHA didistribusikan secara merata dan dibiarkan memadat selama beberapa saat. Selanjutnya, 0,1 mililiter suspensi inokulum bakteri ditambahkan, dan 25 mililiter media MHA pada suhu $\pm 40^\circ\text{C}$ ditambahkan sebagai lapisan kedua. Media dihomogenisasi dengan memutar cawan petri untuk membentuk Gambar 8 masukkan pencadangan logam dengan hati-hati sesuaikan jarak antar template dan biarkan di tempat hingga media mengeras. Setelah media mengeras sumbat logam dilepas menggunakan pinset steril untuk membuat sumur. Selanjutnya, larutan uji ekstrak etanol daun ketapang (*Terminalia cattapa* L.) dengan konsentrasi 100 mg/ml, 50 mg/ml, 25 mg/ml, 12,5 mg/ml, 6,25 mg/ml, 3,125 mg/ml, kloramfenikol sebagai blanko positif, dan campuran dimetilsulfoksida (DMSO) dan etanol dengan perbandingan 5:5 sebagai blanko negatif sebanyak 0,1 ml dimasukkan ke dalam masing-masing sumuran. Diamkan cawan selama 30 menit setelah ditutup untuk mencegah kontaminasi. Setelah itu, inkubasi selama 18 hingga 24 jam pada suhu $35 \pm 2^\circ\text{C}$. Kami mengukur dan memeriksa zona yang bersih.

2.11. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia tahap pendahuluan dalam suatu penelitian yang bertujuan untuk memberikan gambaran tentang golongan senyawa yang terkandung dalam tanaman. Skrining Fitokimia dilakukan terhadap ekstrak simplisia daun Ketapang (*Terminalia cattapa* L.) yang terdiri dari pemeriksaan golongan senyawa kimia alkaloid, glikosida, flavonoid, glikosida antrakuinonsteroid/triterpenoid, saponin dan glikosida sianogenik (Saputri et al., 2023).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Hasil Perolehan Simplisia Daun Ketapang

Untuk keperluan penelitian ini, digunakan 5,5 kg daun Ketapang (*Terminalia cattapa* L.) segar. Setelah diangin-anginkan pada suhu ruang selama 24 jam, 5 kg daun Ketapang (*Terminalia cattapa* L.) segar tersebut dikeringkan di dalam lemari pengering dengan suhu $40\text{--}50^\circ\text{C}$ hingga rapuh dan kering sehingga diperoleh simplisia kering sebanyak 1,6 kg. Tujuan dari penurunan kadar air simplisia adalah untuk menjaga kualitasnya dan mencegah tumbuhnya jamur atau cendawan yang terlalu banyak pada bahan yang memiliki kadar air yang tinggi. Karena kelembaban dapat menjadi media yang menguntungkan bagi pertumbuhan jamur, bakteri, dan serangga serta dapat menurunkan kualitas simplisia, maka kadar air simplisia yang memenuhi standar tidak boleh lebih dari 10%. Simplisia daun Ketapang (*Terminalia cattapa* L.) yang telah dihaluskan kemudian digabungkan sehingga menghasilkan 1,5 kg serbuk simplisia yang disimpan di dalam wadah yang tertutup rapat.

3.2. Hasil Ekstraksi Daun Ketapang

Metode maserasi digunakan untuk mengekstrak daun dari 300 gram *Terminalia cattapa* L. Sampel kemudian dimasukkan ke dalam botol coklat dan dibiarkan terpisah antara filtrat dan ampasnya. Setelah beberapa hari, ampas dimasukkan kembali ke dalam botol coklat dan ditambahkan 25% etanol p.a. Sampel kemudian disimpan pada suhu kamar, jauh dari sinar matahari langsung, selama dua hari. Filtrat yang diperoleh kemudian ditambahkan ke filtrat pertama dan dikentalkan menggunakan rotary evaporator untuk menghasilkan 96,4 g ekstrak berwarna coklat kehitaman. Setelah ekstraksi dilakukan pengujian aktivitas antibakteri *Pseudomonas* dan uji skrining fitokimia kualitatif. Mikroba yang digunakan adalah *Staphylococcus epidermidis*, *Micrococcus luteus*, *Demacoccus nishinomiyaensi* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Penggunaan pelarut etanol memungkinkan pelarutan selektif hampir semua molekul organik baik yang bersifat polar maupun non polar, sehingga sebagian besar metabolit sekunder yang terdapat pada simplisia dapat terekstraksi.

3.3. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Ketapang Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*,

Demacoccus nishinomiyaensi, *Staphylococcus epidermidis* dan *Micrococcus luteus*

Metode difusi sumur digunakan untuk menguji aktivitas antibakteri. Metode sumur melibatkan pembuatan lubang pada media agar padat yang diinokulasi bakteri. Setelah menyesuaikan jumlah dan penempatan lubang agar sesuai dengan jumlah konsentrasi ekstrak yang akan diuji, ekstrak, blanko positif, dan blanko negatif yang akan diuji disuntikkan ke dalam lubang. Pertumbuhan bakteri dipantau setelah inkubasi untuk melihat apakah ada zona hambat di sekitar lubang. Dengan menggunakan jangka sorong, diameter zona hambat yang terbentuk pada media MHA diukur untuk menentukan zona hambat antibakteri pada kertas hitam. Diameter zona bening, ukuran uji aktivitas, diambil untuk menentukan reaksi zat antibiotik dalam ekstrak untuk mencegah pertumbuhan bakteri yang dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil Pengukuran Diameter Hambat Pada Pengujian Aktivitas Antibakteri Ekstrak etanol daun Ketapang.

Konsentrasi ekstrak etanol daun Ketapang (mg/ml)	Diameter daerah hambat pertumbuhan antibakteri (mm)			
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Dermacoccus nishinomiyaensis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Micrococcus luteus</i>
100	18,38	23,05	18,71	20,71
50	16,71	21,38	16,31	19,05
25	10,03	20,38	15,71	19,71
12,5	9,03	19,71	14,05	18,71
6,25	8,03	19,38	13,71	18,05
3,125	8	17,71	12,36	15,71
Blanko positif	22,8	22,38	21,38	22,38
Blanko negatif	0	0	0	0

Keterangan: Hasil rata-rata tiga kali perlakuan, Blanko positif = kloramfenikol 0,5 mg/100 ml, Blanko negatif = campuran DMSO dan etanol (5:5), mm = millimeter, hasil diameter zona hambat belum dikurang dengan pencadang logam (d = 6mm).

Ekstrak maserasi etanol daun ketapang (*Terminalia cattapa* L.) diuji aktivitas antibakterinya dan hasilnya ditampilkan pada tabel di atas. Pada konsentrasi 100 mg/ml, diameter hambat terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* sebesar 18,38 mm, terhadap bakteri *Dermacoccus nishinomiyaensis* sebesar 23,05 mm, terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* sebesar 18,71 mm dan terhadap bakteri *Micrococcus luteus* diameter hambatnya paling besar yaitu sebesar 20,71 mm.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun Ketapang (*Terminalia cattapa* L.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap semua mikroorganisme uji yang diukur dari diameter hambat. Zona bening yang terbentuk di sekitar sumuran yang berisi ekstrak antibakteri menunjukkan diameter penghambatan. Hal ini sesuai dengan penelitian (Putriani et al., 2024) yang menunjukkan bahwa lebar zona hambat menunjukkan kepekaan bakteri uji dan semakin besar zona hambat, maka semakin tinggi aktivitas antibakterinya. Diameter zona hambat menentukan jenis aktivitas antibakteri suatu antibakteri dianggap aktif terhadap bakteri jika kekuatan zona hambatnya antara 6 dan 10 mm yang diklasifikasikan sebagai lemah, 21-30 mm atau lebih diklasifikasikan sebagai sangat aktif, dan 11-20 mm sebagai aktif.

Diameter daerah hambat atau disebut juga daerah bening diukur sebanyak tiga kali yaitu lurus dan tegak dengan menggunakan jangka sorong (mm). Diameter hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun ketapang pada dosis 100 mg/ml Bakteri yang tergolong aktif adalah *Micrococcus luteus* yang memiliki diameter rata-rata 20,71 mm, *Dermacoccus nishinomiyaensis* yang memiliki diameter rata-rata 20,38 mm, *Staphylococcus epidermidis* yang memiliki diameter rata-rata 18,71 mm dan *Pseudomonas aeruginosa* yang memiliki diameter rata-rata 18,38 mm.

3.4. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Ketapang

Ekstrak etanol daun ketapang (*Terminalia cattapa* L.) dilakukan skrining fitokimia untuk memberikan gambaran umum mengenai golongan senyawa kimia yang terdapat pada tanaman yang diteliti. Berdasarkan hasil skrining fitokimia ditemukan adanya golongan senyawa antrakuinon glikosida, flavonoid, tanin, saponin, dan triterpenoid pada ekstrak simplisia daun ketapang (*Terminalia cattapa* L.). Skrining fitokimia dapat dilakukan dengan menggunakan pereaksi warna dengan mengamati reaksi pengujian warna yang dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Ketapang (*Terminalia cattapa* L.).

No	Skrining	Pereaksi	Pengamatan (warna/endapan)	Hasil
1.	Alkaloid	Dragendorff	(-) Endapan putih	(-) Alkaloid
		Bouchardart	(-) Endapan coklat	
		Mayer	(-) Endapan coklat	
2.	Flavonoid	Zn + HCl	(+) Merah jingga	(+) Flavonoid
		Mg + HCl	(+) Merah	
3.	Glikosida	1. Molish	(-) Cincin ungu	(-) Glikosida
	Glikon	2. Fehling A+B	(-) Endapan merah bata	
	Aglikon	Asam asetat anhidrida + asam sulfat pekat		
4.	Glikosida antrakuinon	NaOH	(+) Lapisan air berwarna merah	(+) Glikosida antrakuinon
5.	Tanin	FeCl ₃ 5%	(+) Hijau kehitaman	(+) Tanin
6.	Saponin	Akuades mendidih + HCl 2N	(+) Busa	(+) Saponin
7.		Na.Pikrat	(-) Kertas saring berwarna merah	(-) Sianogenik glikosida

Sianogenik glikosida				
8.	Steroid/ Triterpenoid	Asam Asetat anhidrat + Asam Sulfat pekat	(+) Kuning	(+) Triterpenoid
			(+) Ungu	

Keterangan: (+) = mengandung senyawa yang diidentifikasi, (-) = Tidak mengandung senyawa yang diidentifikasi.

Alkaloid adalah golongan metabolit sekunder yang terdapat pada kulit batang, daun, ranting, dan biji tanaman. Setiap alkaloid mengandung satu atau lebih atom nitrogen, biasanya dalam kombinasi basa dari atom nitrogen. Pada saat dilakukan uji alkaloid dengan menggunakan pereaksi Mayer, Dragendorff, dan Bouchardat, alkaloid pada ekstrak simplisia daun ketapang yang memberikan hasil negatif membentuk endapan berwarna merah bata pada masing-masing pereaksi, sedangkan alkaloid yang memberikan hasil positif membentuk endapan berwarna putih dan coklat pada masing-masing pelarut Saputri et al., 2022).

Hasil uji flavonoid memberikan hasil positif ditandai dengan perubahan warna menjadi merah. Flavonoid termasuk dalam golongan senyawa fenol yang memiliki banyak gugus –OH dengan adanya perbedaan keelektronegatifan yang tinggi sehingga sifatnya polar. Flavonoid memiliki sifat sebagai penangkap radikal bebas, penghambat enzim hidrolisis dan oksidatif, bekerja sebagai antiinflamasi, flavonoid berfungsi mengatur pertumbuhan, fotosintesis, antimikroba dan antivirus. Mekanisme kerja flavonoid adalah menghambat asam nukleat, menghambat fungsi membran sel dan menghambat metabolisme energi Saputri et al., 2022).

Hasil menunjukkan positif saponin setelah penambahan aquadest panas terbentuk buih/busa yang stabil (10 menit setelah penambahan aquadest panas). Saponin merupakan senyawa aktif permukaan yang mudah terdeteksi melalui kemampuannya dalam membentuk busa. Komponen ikatan glikosida yang terdapat di dalam saponin menyebabkan senyawa ini cenderung bersifat polar. Mekanisme kerja saponin adalah sebagai senyawa antimikroba dengan merusak membran sitoplasma sehingga mencegah masuknya bahan makanan atau nutrisi yang diperlukan oleh bakteri (Saputri et al., 2022). Glikosida memberikan hasil negatif dengan tidak munculnya cincin ungu pada pengujian glikon lalu pada pengujian dengan pemberian Fehling A dan Fehling B menunjukkan hasil negatif dengan tidak munculnya warna endapan merah bata (Muldianah et al., 2021).

Uji triterpenoid dan steroid menunjukkan hasil positif dengan terbentuk warna coklat-ungu yang menunjukkan daun Ketapang (*Terminalia cattapa* L.) mengandung senyawa triterpenoid. Reaksi pada triterpenoid dengan pereaksi Liebermann-Bouchard menunjukkan perubahan warna menjadi warna merah-coklat-ungu. Perbedaan warna yang dihasilkan antara senyawa triterpenoid dan steroid disebabkan adanya perbedaan gugus atom (Sudewi et al., 2024). Tanin memberikan hasil positif dengan perubahan warna menjadi hijau kehitaman. Tanin merupakan senyawa polifenol, perubahan warna hijau kehitaman terjadi akibat pembentukan senyawa kompleks antara tanin dengan FeCl_3 , pada tumbuhan tanin berfungsi sebagai pertahanan diri dari serangan bakteri dan fungi (Hasanah et al., 2023).

Glikosida antrakuinon menunjukkan hasil positif dengan adanya lapisan merah, pengujian turunan antrakuinon akan memberikan karakteristik warna merah, merah jambu dan dalam suasana basa violet, mekanisme kerja senyawa aktif antrakuinon sebagai antibakteri dengan cara menghambat transfer elektron pada rantai pernafasan mitokondria, mengganggu atau merusak komponen dinding sel yakni peptidoglikan, menonaktifkan enzim-enzim esensial, perampasan mineral bakteri dan mengganggu kerja membran sitoplasma yang akan menyebabkan terganggunya proses metabolisme bakteri yang akhirnya mengakibatkan kematian bakteri (Zebua et al., 2022). Sianogenik glikosida memberikan hasil negatif dengan tidak terjadinya perubahan warna setelah terkena cahaya matahari secara langsung.

4. KESIMPULAN

Ekstrak etanol daun ketapang memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Micrococcus luteus*, *Micrococcus luteus*, *Demacoccus nishinomiyaensis* dan *Pseudomonas aeruginosa* pada pengujian ini daya hambat bakteri terbesar didapatkan diangka 23,05 mm dengan konsentrasi 100 mg/ml pada bakteri *dermacoccus nishinomiyaensis* dan daya hambat terkecil didapatkan di bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan konsentrasi 3,125 mg/ml sebesar 8 mm serta ekstrak etanol simplisia daun ketapang (*Terminalia cattapa* L.) mengandung senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid, saponin, glikosida antrakuinon, tanin dan triterpenoid. Kemudian pada komponen kimia lainnya dimana senyawa kimia tanin yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri positif maupun bakteri negatif.

REFERENCES

- Adi Saputra, Tafdihla, & Mayaranti Wilsya. (2021). AKTIVITAS ANTIJAMUR EKSTRAK ETANOL BUNGA KETEPENG CINA (*Senna alata* L) TERHADAP JAMUR *Candida albicans*. *Jurnal Kesehatan : Jurnal Ilmiah Multi Sciences*, 11(2), 79–85. <https://doi.org/10.52395/jkjims.v11i2.326>
- Anggraeni, A., & Triajie, H. (2021). UJI KEMAMPUAN BAKTERI (*Pseudomonas aeruginosa*) DALAM PROSES BIODEGRADASI PENCEMARAN LOGAM BERAT TIMBAL (Pb), DI PERAIRAN TIMUR KAMAL KABUPATEN BANGKALAN. *Juvenil:Jurnal Ilmiah Kelautan Dan Perikanan*, 2(3), 176–185. <https://doi.org/10.21107/juvenil.v2i3.11754>
- Asali, A., Inwar, A. I., Alim, M. I., Tiffani, I., & Rahmadani, A. F. (2023). Effectiveness Test of Ginger Extract (*Zingiber officinale*) on the Growth Inhibition Zone of *Escherichia Coli* Bacteria. *Era Sains : Journal of Science, Engineering and Information Systems Research*, 1(4), 15–20.

- Hasanah, F., Saputri, M., Siahaan, D. N., Kusuma, P. A., & Matondang, S. R. R. (2023). Uji Antidiare Ekstrak Etanol Daun Matoa (*Pometia pinnata*) Terhadap Mencit Jantan Diinduksi Oleum Ricini. *Journal of Pharmaceutical and Health Research*, 4(2), 342–348. <https://doi.org/10.47065/jharma.v4i2.3620>
- Lady Yunita Handoyo, D., & Pranoto, M. E. (2020). Pengaruh Variasi Suhu Pengeringan Terhadap Pembuatan Simplisia Daun Mimba (*Azadirachta indica*). *Jurnal Farmasi Tinctura*, 1(2), 45–54. <https://doi.org/10.35316/tinctura.v1i2.988>
- Maya Puspitasari, Firman Rezaldi, E.Egriana Handayani, & Dedeh Jubaedah. (2022). KEMAMPUAN BUNGA TELANG (*Clitoria ternatea* L) SEBAGAI ANTIMIKROBA (*Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus hominis*, *Trycophyton mentagrophytes*, dan *Trycophyton rubrum*) MELALUI METODE BIOTEKNOLOGI FERMENTASI KOMBUCHA. *Jurnal Medical Laboratory*, 1(2), 1–10. <https://doi.org/10.57213/medlab.v1i2.36>
- Muldianah, D., Nurdimayanthi, D. A., Rahmawati, D. S., & Fadhilah, H. (2021). Teknik Isolasi dan Identifikasi Senyawa Glikosida dari Berbagai Tanaman. *PharmaCine: Journal of Pharmacy, Medical and Health Science*, 2(1), 11–21. <https://doi.org/10.35706/pc.v2i1.5577>
- Nasri, N., Kaban, V. E., Syahputra, H. D., & Satria, D. (2022). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Alpukat (*Persea americana* Mill) Terhadap *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Herbal Medicine Journal*, 5(1), 13–19. <https://doi.org/10.58996/hmj.v5i1.37>
- Putriani, K., Sugara, B., Studi, P., Keperawatan, D., Hang, S., & Tanjung, T. (2024). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Ketapang (*Terminalia Catappa* L.) Terhadap *Staphylococcus Aureus*. *INNOVATIVE: Journal Of Social Science Research*, 4(7 mm), 4178–4187.
- Rinawati, Tirta, I., Budhiarti, Aulia Eka Putri, D., & Kurniaty, I. (2022). Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Kental Daun Kanyere (*Bridelia Monoica* (L.) Merr) Sebagai Antiinflamasi Dalam Sediaan Gel Luka Bakar. *Jurnal Teknologi*, 14(1), 80–90. <https://dx.doi.org/10.24853/jurtek.14.1.79-90>
- Rosmania, R., & Yuniar, Y. (2021). Pengaruh Waktu Penyimpanan Inokulum *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* Pada Suhu Dingin Terhadap Jumlah Sel Bakteri di Laboratorium Mikrobiologi. *Jurnal Penelitian Sains*, 23(3), 117. <https://doi.org/10.56064/jps.v23i3.624>
- Saptowo, A., Supriningrum, R., & Supomo, S. (2022). UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK KULIT BATANG SEKILANG (*Embeliaborneensis* Scheff) TERHADAP BAKTERI *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*. *Al-Ulum: Jurnal Sains Dan Teknologi*, 7(2), 93. <https://doi.org/10.31602/ajst.v7i2.6331>
- Saputri, M., Febriani, Y., & Olyvia putri, O. putri. (2023). Formulasi Dan Uji Efektivitas Sediaan Salep Ekstrak Etanol Daun Sintrong (*Crassocephalum crepidioides* (Benth.) S.Moore) Terhadap Penyembuhan Luka Bakar Pada Marmut Jantan (*Cavia porcellus*). *Journal of Pharmaceutical and Sciences*, 6(2), 598–606. <https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v6i2.52>
- Saputri, M., & Mierza, V. (2020). Aktivitas Antibakteri Sediaan Gel dari Fraksi Aktif Daun Sintrong (*Crassocephalum Crepidioides* (Benth) S Moore). *Journal of Pharmaceutical and Health Research*, 1(3), 72–76. <https://doi.org/10.47065/jharma.v1i3.595>
- Saputri, M., Mierza, V., & Putri, N. (2022). Antimicrobial Activity of IPPU Padang (*Ammannia octandra* L.f.) Leaves Ethanol Extract against Skin Pathogenic Microbials. *Journal of Fundamental and Applied Pharmaceutical Science*, 3(1), progress. <https://doi.org/10.18196/jfaps.v2i2.13505>
- Siva, S. F., Yurdhika Habsari, K., Risnawati, L., Putri Firdhiana, W., Rahma Pertiwi, A., Rita Sulistya Dewi, E., & Nurwahyunani, A. (2023). Uji Daya Hambat Pada Tanaman Ketapang (*Terminalia catappa* L.) dan Manggis (*Garcinia Mangostana*) Terhadap Mikroorganisme Patogen. *Cross-Border*, 6(2), 1146–1159.
- Sudewi, S., Zebua, N. F., Dahra, A., & Pasaribu, I. (2024). Pemanfaatan Bahan Alam Dalam Sediaan Lotion Sebagai Pelembab Kulit Dengan Menggunakan Spektrofotometri Uv-Vis. *Jambura Journal of Health Sciences and Research*, 6(2), 136–145. <https://doi.org/10.35971/jjhsr.v6i2.21917>
- Sumardi, S., Zebua, N. F., Mierza, V., Arafah, R. M., Qhairunnisa, Q., & Amalia, R. (2023). Profil Noda Ekstrak Kloroform : Metanol (2:1) dan Aktivitas Bslt Kulit Batang Nyirih (*Xylocarpus Granatum*). *Journal of Pharmaceutical and Health Research*, 4(2), 326–332. <https://doi.org/10.47065/jharma.v4i2.3678>
- Zebua, N. F., Sudewi, Siti Arum Widiyanti, Muflihah Fujiko, Nurul Karimah, Supran Hidayat, & Rahma Yulia. (2022). Formulation and Testing of Antioxidant Cream Preparation of Ethanol Extract of Cikala Fruit (*Etlingera elatior* (Jack) R. M. Sm) as a Skin Moisturizer. *Jurnal Indah Sains Dan Klinis*, 3(2), 34–40. <https://doi.org/10.52622/jisk.v3i2.63>