

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL 96% DAUN MELATI (*Jasminum sambac* (L.) Sol. ex Aiton) TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* DENGAN METODE DIFUSI CAKRAM

Weni Aristyaningsih¹, Khafid Mahbub^{2*}

^{1,2}Program Studi S1 Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Pekalongan, Pekalongan, Indonesia

Email: khafidmahbub1212@gmail.com*

* corresponding author

Abstrak

Survei Kesehatan Rumah Tangga bahwa 40% atau sekitar 1.591.944 kasus penduduk Indonesia mengalami diare. Penyebab penyakit diare yaitu bakteri *Escherichia coli*. Daun melati, yang mengandung karbohidrat, flavonoid, glikosida, protein, tanin, fenolik, dan saponin, telah terbukti memiliki sifat antibakteri alami. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol 96% daun melati terhadap *Escherichia coli*. Penelitian ini berjenis eksperimental, menggunakan sampel daun melati (*Jasminum sambac* (L.) Sol. ex Aiton) yang diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan etanol 96%. Aktivitas antibakteri diuji menggunakan metode difusi cakram dengan variasi konsentrasi ekstrak (60%, 65%, 70%, dan 75%) dalam media Muller Hinton Agar. Kontrol positif menggunakan kloramfenikol dan kontrol negatif menggunakan DMSO 10%. Hasil diameter zona hambat dianalisis menggunakan uji one way ANOVA. Hasil uji menunjukkan bahwa konsentrasi 60% memiliki diameter zona hambat rata-rata terkecil, yaitu 4,3 mm, sedangkan konsentrasi 75% memiliki diameter zona hambat terbesar, yaitu 6,38 mm. Uji statistik dengan one way ANOVA menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0.000, lebih kecil dari 0.05, menunjukkan adanya perbedaan signifikan dalam aktivitas zona hambat terhadap *Escherichia coli* antara konsentrasi 60%, 65%, 70%, dan 75% dari ekstrak daun melati.

Kata kunci: Antibakteri, Daun melati (*Jasminum sambac* (L.) Sol. ex Aiton), *Escherichia coli*.

Abstract

The Household Health Survey found that 40% or about 1,591,944 cases of the Indonesian population experienced diarrhea. The cause of diarrhea disease is *Escherichia coli* bacteria. Jasmine leaves, which contain carbohydrates, flavonoids, glycosides, proteins, tannins, phenolics, and saponins, have been shown to have natural antibacterial properties. This study aims to evaluate the antibacterial activity of 96% ethanol extract of jasmine leaves against *Escherichia coli*. This study was experimental, using samples of jasmine leaves (*Jasminum sambac* (L.) Sol. ex Aiton) extracted by maceration method using 96% ethanol. Antibacterial activity was tested using the disc diffusion method with varying extract concentrations (60%, 65%, 70%, and 75%) in Muller Hinton Agar media. Positive control used chloramphenicol and negative control used 10% DMSO. The results of inhibition zone diameter were analyzed using one way ANOVA test. The test results showed that the 60% concentration had the smallest average inhibition zone diameter, which was 4.3 mm, while the 75% concentration had the largest inhibition zone diameter, which was 6.38 mm. Statistical tests with one way ANOVA showed a significance value of 0.000, smaller than 0.05, indicating a significant difference in inhibition zone activity against *Escherichia coli* between concentrations of 60%, 65%, 70%, and 75% of jasmine leaf extract.

Keywords: Antibacterial, Jasmine leaf (*Jasminum sambac* (L.) Sol. ex Aiton), *Escherichia coli*.

PENDAHULUAN

Infeksi menjadi sebagian prioritas kesehatan penting pada negara berkembang, termasuk Indonesia. Menurut Survei Kesehatan Rumah Tangga, bahwa penyebab utama kematian mencakup 28,1% dari infeksi, 18,9% dari penyakit vaskuler, serta 15,7% dari penyakit pernapasan (Noor Mutsaqof et al., 2016). , *Escherichia coli* adalah penyebab yang paling lazim dari infeksi kandung kemih dan merupakan penyebab infeksi saluran kemih pertama pada kira-kira 90% wanita muda dan penyebab diare yang utama. Infeksi *Escherichia coli* pada kandung kemih maupun saluran cerna perlu dilakukan pemberian obat agar dapat menghambat dan membunuh mikroorganisme, salah satunya seperti antibiotik (Syahrinastiti et al., 2015).

Penggunaan antibiotik yang kurang tepat dapat menyebabkan dampak buruk, meliputi meningkatnya resistensi mikroorganisme terhadap antibiotik tertentu, resistensi ini terjadi ketika pertumbuhan bakteri tidak lagi terhambat oleh pemberian antibiotik secara sistemik dalam dosis normal yang biasanya digunakan dalam pengobatan peningkatan efek samping obat (Fatoni & Mahbub, 2023), dan bahkan resistensi dapat berakibat fatal (Pratiwi, 2017). Obat tradisional memainkan peran penting dalam layanan kesehatan pada masyarakat, sehingga memiliki potensi besar untuk dikembangkan lebih lanjut. Penggunaan keanekaragaman hayati di sekitar kita, baik dari tanaman yang dibudidayakan maupun yang tumbuh liar, termasuk dalam penggunaan tanaman herbal. Salah satu tanaman obat yang secara empiris digunakan sebagai antibiotik adalah tanaman melati (Dewantari et al, 2018). daun melati mengandung senyawa seperti flavonoid, saponin, dan tanin. Selain itu, ekstrak daun melati juga ditemukan memiliki aktivitas antibakteri (Jeklin et al., 2016).

Proses ekstraksi (penarikan senyawa) dilakukan dengan metode maserasi kemudian dilakukan pengukuran kekuatan efektivitas senyawa pada bakteri yaitu dilakukannya uji antibakteri (Mukhtarini, 2014). Metode yang diterapkan untuk menguji aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* adalah metode difusi cakram. Metode difusi cakram adalah cara mengukur zona jernih yang muncul didekat kertas cakram digunakan untuk menilai aktivitas antibakteri (Intan et al., 2021).

Berdasarkan latar belakang tersebut, peneliti bertujuan untuk menguji aktivitas zona hambat dan untuk mengetahui konsentrasi yang paling baik yang sudah dibuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri menggunakan ekstrak etanol 96% daun melati terhadap bakteri *Escherichia coli* dengan metode difusi cakram.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang dipakai pada penelitian ini meliputi blender (Cosmos), autoklaf (all American 1925X), botol vial, bunsen, cawan petri (Pyrex), corong gelas (Pyrex), erlemeyer (Pyrex), beaker gelas (Pyrex), gelas ukur (Pyrex), gunting, blower, *hot plate*, inkubator, jangka sorong (Sigmat), kertas perkamen, jarum ose, *magnetic stirrer*, kamera, kapas, kertas cakram (MN), kertas saring, label, lemari es, pinset, pipet mikro, pipet tetes, rak tabung reaksi, *rotary vacuum evaporator*, timbangan analitik (OHAOUS), spatula, spidol, tabung reaksi, tisu, plastik wrap. Peneliti menggunakan bahan berupa alkohol 96%, aluminium foil, Water for injection, DMSO 10 %, NaCl 0,9, Serbuk Mg, HCl pekat,, Asam Klorida 2N, FeCl₃ 1%, kloramfenikol, biakan murni *Escherichia coli*, nutrient agar (NA), mualler hinton agar (MHA) dan simplisia daun melati, baku pembanding quersetin, kafein, asam tanin.

Prosedur Kerja

Ekstraksi

Proses ekstraksi dilakukan dengan cara menimbang 1000 gram serbuk sampel dan mengukur volume pelarut yaitu etanol 96% sebanyak 5 liter sehingga diperoleh rasio 1:5 (b/v) dan dimasukkan ke dalam wadah kaca. Kemudian disimpan di suhu ruangan yang bebas cahaya selama 3hari dengan sesekali diaduk. Setelah perlakuan tersebut, dilakukan penyaringan dengan memisahkan filtrat dengan maserat. Maserat tersebut akan dilakukan proses pemekatan dengan menggunakan sebuah alat yang bernama rotary evaporator (Suprasetya, 2021).

Uji Skrining Fitokimia

Uji metabolit sekunder dilakukan analisis kualitatif golongan kimia serbuk simplisia pada daun melati. Hal tersebut perlu dilakukan untuk memastikan keberadaan metabolit skunder yang digunakan dalam percobaan ini. Adapun golongan senyawa yang dianalisis seperti alkaloid, tanin, saponin, dan flavonoid.

Pembuatan Media

Nutrien Agar (NA) dan Mueller Hinton Agar (MHA) digunakan pada penelitian ini. Media yang digunakan tersebut merupakan media yang telah jadi sebelumnya dengan prosedur pembuatan dan sterilisasi sesuai dengan etiket masing-masing kemasan media.

Pengujian Aktivitas Antibakteri

Langkah-langkah yang perlu dilakukan dalam pengujian aktivitas antibakteri yakni peremajaan bakteri, pembuatan inokulum uji, persiapan larutan uji dan uji aktivitas antibakteri. Metode difusi cakram digunakan pada peneltian ini sehingga mengikuti standar yang telah ditetapkan (Balouiri et al., 2016). Bakteri *Escherichia coli* merupakan mikroorganisme yang diuji pada penelitian ini yang didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Akademi Analisis Kesehatan Pekalongan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Ekstrak dari daun Melati

Dari 3kg sampel daun melati yang digunakan didapatkan ekstrak sebanyak 186,71 gram. Kemudian nilai rendemen yang didapatkan sebesar 18,671% dapat disimpulkan bahwa rendemen ekstrak etanol 96% daun melati baik, syarat rendemen ekstrak yang baik yaitu dengan nilai > 10% (Farmakope Herbal Indonesia, 2017). Jumlah ekstrak yang dapat diperoleh dipengaruhi oleh jumlah simplisia yang digunakan, jenis pelarut yang dipilih, dan kehalusan simplisia tersebut. Kehalusan simplisia mempengaruhi luas permukaan yang bersentuhan dengan pelarut selama proses ekstraksi. Uji kadar air pada sampel ekstrak etanol 96% dari daun melati penting karena harus kurang dari 10%. Menurut BPOM RI (2014), kadar air dalam simplisia seharusnya tidak melebihi 10%. Menurut BPOM RI (2014), kandungan air pada simplisia adalah tidak lebih dari 10%. Kadar air dikatakan cukup beresiko jika lebih dari 10%. Kadar air yang tinggi dapat berisiko terhadap stabilitas ekstrak dan bentuk sediaan yang akan dibuat selanjutnya. Selain itu, kadar air yang tinggi dalam ekstrak juga dapat mengurangi efektivitas hasil dalam pengujian aktivitas antibakteri (Ruwandha et al., 2021)

Hasil Skrining Fitokimia

Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia Daun Melati (*Jasminum sambac* (L.) Sol. ex Aiton).

Uji Kandungan Kimia	Karakteristik	Pembanding	Hasil
Flavonoid Mg + HCl	Terbentuk warnakuning, jingga atau merah	(quersetin)	Positif
Alkaloid (Dragendrof)	Terbentuk merah jingga	(kafein)	Positif
Tanin FeCl ₃	Terbentuk warnahijau kehitaman	(asam galat)	Positif
Saponin HCl	Terbentuknya busa stabil	(Diosgenin)	Positif

Hasil diperoleh menunjukkan bahwa daun melati mengandung beberapa senyawa seperti flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin (Sari dkk., 2019). Penelitian ini mengungkapkan bahwa ekstrak pekat dari daun melati mengandung flavonoid, saponin, dan tannin (Sari et al., 2019).

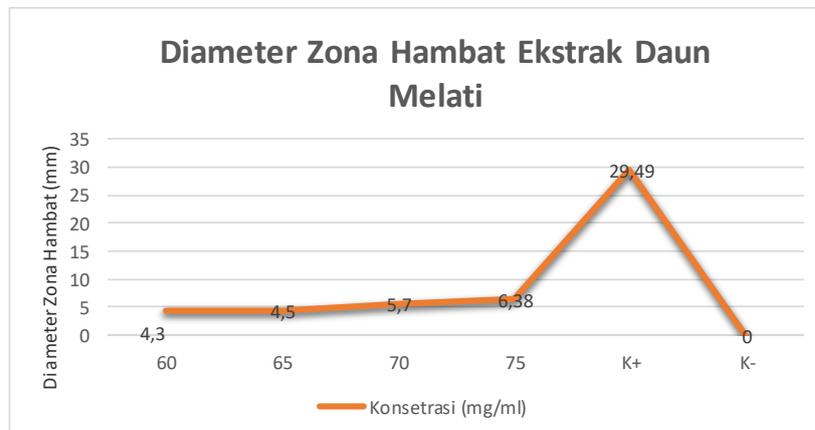
Pada uji alkaloid, sampel ekstrak ditambahkan dengan HCl 2N untuk menciptakan suasana asam, karena alkaloid adalah senyawa yang bersifat basa. Penambahan HCl pada sampel sebelum menambahkan pereaksi bertujuan untuk menghilangkan protein. Pengendapan protein saat menambahkan (pereaksi Mayer) dapat menghasilkan reaksi positif terhadap senyawa tertentu. Alkaloid diuji memakai dua pereaksi, antara lain pereaksi Mayer serta pereaksi Dragendorff. Pada uji dengan Mayer, terbentuk endapan kompleks kalium-alkaloid. Pada uji alkaloid dengan pereaksi Mayer, nitrogen pada alkaloid diperkirakan bereaksi dengan ion logam K⁺ dari kalium tetraiodomerkurat(II) membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap. Sedangkan pada uji dengan Dragendorff, terbentuk endapan jingga, yang merupakan kompleks kalium-alkaloid (Pardede et al., 2013).

Uji terhadap flavonoid menunjukkan hasil positif dengan terbentuknya warna jingga. Perubahan warna ini, adanya penambahan logam magnesium (Mg) yang bertindak sebagai reduktor, dimana reduksi tersebut bekerja dalam suasana asam dengan adanya peningkatan asam klorida pekat (HCl). Penambahan HCl pekat digunakan untuk menghidrolisis flavonoid menjadi aglikonnya. Reaksi reduksi senyawa flavonoid pada ekstrak herba sirih cina dengan penambahan logam (Labambe et al., 2013)

Hasil uji terhadap tanin menunjukkan hasil positif, dimana saat sampel ekstrak ditambahkan dengan larutan FeCl₃ 1%, terbentuklah warna hijau kehitaman. Penambahan FeCl₃ ini dilakukan untuk mengindikasikan adanya gugus fenol dalam sampel (Labambe et al., 2013).

Hasil uji senyawa saponin menunjukkan hasil yang positif karena terbentuk buih/busa yang permanen pada ketinggian 1 cm saat digojog bersama air dan penambahan HCl 2N. Busa yang terlihat mengindikasikan keberadaan glikosida yang mampu membentuk buih dan mengalami hidrolisis menjadi glukosa (Pardede et al., 2013).

Hasil Uji Aktivitas Antibakteri



Gambar 1. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Melati

Hasil uji bakteri menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun melati, semakin tinggi pula zona hambatnya, seperti tercatat dalam penelitian (Saifudin dkk, 2018). Uji daya hambat antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode kertas cakram. Zona hambat merupakan zona bening yang ada di sekitar lingkungan keitas cakram pada media yang sudah diinokulasi.

Hasil tersebut dapat dilihat peningkatan signifikan dalam diameter rata-rata zona hambat seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak daun melati. Hal ini disebabkan oleh pengaruh langsung konsentrasi ekstrak terhadap ketersediaan senyawa antibakteri. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang diuji, maka jumlah zat aktif antibakteri di dalamnya juga banyak, sehingga kemampuannya untuk menekan pertumbuhan bakteri menjadi lebih efektif dan menyebabkan zona hambat yang lebih besar (Labambe et al., 2013).

Dari hasil penelitian untuk kontrol negatif dalam penelitian tidak ada zona hambat, menandakan bahwa DMSO 10% yang digunakan tidak mempunyai aktivitas antibakteri (Sari dkk., 2019). Sebagai kontrol positif, kloramfenikol 30 µg digunakan karena memiliki aktivitas antibakteri yang luas, menghambat sintesis protein pada sel bakteri (Saifudin et al, 2018). Kontrol positif Kloremfenikol dipilih karena dapat menekan sintesis protein bakteri. Alasan digunakannya kontrol positif kloramfenikol adalah karena kloramfenikol adalah antibakteri yang bersifat spektrum luas (Saifudin et al, 2018). Variasi diameter daya hambat yang diperoleh pada uji aktivitas antibakteri dapat dipengaruhi beberapa faktor, seperti konsentrasi zat antibakteri, ketebalan medium pertumbuhan bakteri, kerapatan inokulum bakteri, komposisi atau rasio media agar dengan pelarut aquadest, waktu serta suhu inkubasi, dan tingkat penyerapan (Fatoni & Mahbub, 2023).

Potensi yang terkandung dalam daun melati dijadikan sebagai antibakteri seperti flavonoid, alkaloid, tanin dan saponin. Berbagai macam cara proses kerusakan bakteri seperti merusak membran sel yang menyebabkan inti sel bakteri keluar yang diakibatkan oleh terbentuknya senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut didalamnya. Mekanisme tersebut adalah cara kerja senyawa flavonoid sebagai antibakteri. Mekanisme tersebut adalah cara kerja senyawa tanin. Senyawa alkaloid menekan pertumbuhan bakteri dengan cara menekan pembentukan dinding sel agar tidak terbentuk sempurna dengan

cara mengganggu penyusunan peptidoglikan pada sel bakteri. Mekanisme lainnya dari senyawa metabolit sekunder adalah membocorkan sel dan sel inti keluar dari dalam bakteri sehingga bakteri mati. Mekanisme tersebut adalah cara kerja senyawa saponin (Saifudin et al, 2018). Berdasarkan uji one way ANOVA diperoleh nilai signifikansi $0.000 < 0.05$ sehingga terdapat perbedaan signifikan pada konsentrasi 60%, 65%, 70% dan 75% pada daya hambat bakteri *Escherichia coli*.

KESIMPULAN

Ekstrak etanol 96% daun melati (*Jasminum sambac* (L.) Sol. ex Aiton) menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) tercapai pada konsentrasi 65% dengan nilai 4,3 mm dan dikategorikan sebagai lemah. Hasil uji One-Way ANOVA menunjukkan bahwa tidak semua konsentrasi ekstrak menunjukkan perbedaan yang signifikan. Hanya konsentrasi antara 60% hingga 75%, dengan interval 15%, yang menunjukkan perbedaan signifikan dalam perlakuan ekstrak.

REFERENSI

- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71–79. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>
- Dewantari, R., & L, M. L. (2018). *Jenis Tumbuhan yang Digunakan sebagai Obat Tradisional Di Daerah Eks- Karesidenan Surakarta Types of Plants used as Traditional Medicines In Ex Residency of Surakarta*. 11, 118–123.
- Fatoni, N., & Mahbub, K. (2023). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 96% Daun Bakau (*Rhizopora apiculata* Blume) Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans* Menggunakan Metode Difusi Cakram. *Journal of Pharmacopolium*, 6(3), 62–68. <https://doi.org/10.36465/jop.v6i3.1203>
- Intan, K., Diani, A., & Nurul, A. S. R. (2021). Aktivitas Antibakteri Kayu Manis (*Cinnamomum burmanii*) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Kesehatan Perintis (Perintis's Health Journal)*, 8(2), 121–127. <https://doi.org/10.33653/jkp.v8i2.679>
- Jeklin, A., Bustamante Fariás, Ó., Saludables, P., Para, E., Menores, P. D. E., Violencia, V. D. E., Desde, I., Enfoque, E. L., En, C., Que, T., Obtener, P., Maestra, G. D. E., & Desarrollo, E. N. (2016). No Title No Title No Title. *Correspondencias & Análisis*, 6(15018), 1–23.
- Labambe, N. A., Lambui, O., & Ramadanil. (2013). Uji Daya Hambat Ekstrak Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Vibrio cholerae*. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9), 1689–1699.
- Mukhtarini. (2014). Mukhtarini, “Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif,” *J. Kesehat.*, vol. VII, no. 2, p. 361, 2014. *J. Kesehat.*, VII(2), 361. <https://doi.org/10.1007/s11293-018-9601-y>
- Noor Mutsaqof, A. A., -, W., & Suryani, E. (2016). Sistem Pakar Untuk Mendiagnosis Penyakit Infeksi Menggunakan Forward Chaining. *Jurnal Teknologi & Informasi ITSmart*, 4(1), 43. <https://doi.org/10.20961/its.v4i1.1758>
- Pardede, A., Manjang, Y., & Efdi, M. (2013). Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Dari Kulit Batang Manggis (*Garcinia cymosa*). *Media Sains*, 6(2), 60–66.
- Pratiwi, R. H. (2017). Mekanisme Pertahanan Bakteri Patogen Terhadap Antibiotik. *Jurnal Pro-Life*, 4(3), 418–429.
- Ruwandha, D., Riset, J. K., Kimia, P. S., Islam, U., Raden, N., & Palembang, F. (2021). Uji Aktivitas Tanin Daun Mimba (*Azadirachta indica*) Terhadap Bakteri *Salmonella typhi* Derys Ruwandha, Dwi Fitri Yani *, Damayanti Iskandar. *Jurnal Kimia Riset*, 6(1), 77–85.

- Saifudin Zukhri, Kencana Murni Sari Dewi, N. H. (2018). Uji Sifat Fisik dan Antibakteri Salep Ekstrak Daun Katuk (*sauropus androgynus* (l) merr.). *Jurnal Ilmiah Kesehatan*, *XI*(1), 303–312.
- Sari, L. R., Sumpono, S., & Elvinawati, E. (2019). Uji Efektivitas Asap Cair Cangkang Buah Karet (*Hevea braziliensis*) Sebagai Antibakteri *Bacillus subtilis*. *Alotrop*, *3*(1), 34–40. <https://doi.org/10.33369/atp.v3i1.9033>
- Syahrinastiti, T. A., Djamal, A., & Irawati, L. (2015). Perbedaan Daya Hambat Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) dan Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli*. *Jurnal Kesehatan Andalas*, *4*(2), 421–424. <https://doi.org/10.25077/jka.v4i2.265>