



## Uji Efektivitas Ekstrak Buah Ketapang (*Terminalia catappa*) terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis*

Pramesti Dewi<sup>1)</sup>, Anisa Rahmawati Putri<sup>2)</sup>, Siti Harnina Bintari<sup>3)</sup>, Ibnu Mubarok<sup>4)</sup>

<sup>1,2,3,4)</sup> Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang, Indonesia

### Info Artikel

Diterima: 1 April 2022

Disetujui: 25 April 2022

Dipublikasikan: 28 April 2022

**Keywords:** *Bacillus subtilis*; *ketapang fruit extract*; *Escherichia coli*; *Bacillus subtilis*; *ekstrak buah ketapang*; *Escherichia coli*

### Abstract

*Flesh fruit of Terminalia catappa is underutilized by the community, even though it contains secondary metabolites that can be used as antibacterial. This study aims to determine the effectiveness of antibacterial on the type of solvent and the concentration level of ketapang fruit extract which is effective in inhibiting Escherichia coli and Bacillus subtilis bacteria. This study used 2 factorials Randomized Block Design (RBD). The first factor is the type of solvent, distilled water, and methanol 70%. The second factor is extract concentration of 100% and 50%. These two factors were used to test the growth of bacterial cultures by the disc diffusion method. The antibacterial effectiveness of ketapang fruit extract on E. coli and B. subtilis bacterial cultures as indicated by the appearance of a clear zone. Collecting data in the form of measuring the diameter of the clear zone around the paper disc and analyzing using Two Way ANOVA. The results showed that both solvents at concentrations of 100% and 50% were able to inhibit the E. coli and B. subtilis bacteria. Based on the diameter of the clear zone, methanol solvent with 70% concentration of 100% was effectively inhibited B. subtilis bacteria with an average diameter of 23.31mm.*

### Abstrak

Daging buah ketapang (*Terminalia catappa*) kurang dimanfaatkan oleh masyarakat, padahal dalam daging buah ketapang terkandung senyawa metabolit sekunder yang dapat digunakan sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan efektivitas antibakteri pada jenis pelarut dan tingkat konsentrasi ekstrak buah ketapang yang efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis*. Penelitian ini menggunakan desain Rancangan Acak Kelompok (RAK) 2 faktor. Faktor pertama yaitu jenis pelarut: akuades dan metanol 70%. Faktor kedua yaitu konsentrasi ekstrak: 100% dan 50%. Kedua faktor tersebut digunakan untuk menguji pertumbuhan dari biakan bakteri *E. coli* dan *B. subtilis* dengan metode difusi cakram. Adanya efektivitas antibakteri ekstrak buah ketapang pada biakan bakteri *E. coli* dan *B. subtilis* ditandai dengan munculnya zona bening. Pengambilan data berupa mengukur diameter zona bening yang terbentuk di sekeliling *paperdisc*. Data kemudian dianalisis menggunakan Two Way ANOVA. Hasil ANOVA menunjukkan pelarut akuades dan metanol 70% di konsentrasi 100% dan 50% mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *B. subtilis*. Berdasarkan pengukuran diameter zona bening, pelarut metanol 70% di konsentrasi 100% sangat efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *B. subtilis* dengan diameter rata-rata 23,31 mm.

© 2022 Universitas Negeri Semarang

<sup>1)</sup> Alamat korespondensi:

Gedung D6 Lt.1 Jl Raya Sekaran Gunugpati, Semarang

E-mail: Iwed\_pramesti@mail.unnes.ac.id

p-ISSN 2252-6277

e-ISSN 2528-5009

## PENDAHULUAN

*Terminalia catappa* atau disebut ketapang dikenal sebagai tumbuhan obat yang memiliki persebaran di daerah tropis maupun subtropis (Silva *et al.*, 2015). Bagian dari tumbuhan ketapang diketahui dapat dimanfaatkan baik dari daun, batang, akar, hingga bijinya. Daun ketapang telah banyak diketahui dapat digunakan sebagai obat antidiabetik, antibakteri, antifungi, dan lainnya (Jony *et al.*, 2013). Daun ketapang diketahui memiliki senyawa metabolit sekunder yang berperan dalam menghambat pertumbuhan bakteri atau disebut sebagai antibakteri. Senyawa metabolit sekunder yang ditemukan dalam daun ketapang di antaranya senyawa fenol, tanin, flavonoid, dan terpenoid (Rajesh *et al.*, 2016). Hingga saat ini ekstrak daun ketapang telah dimanfaatkan untuk meningkatkan ekonomi masyarakat dengan cara menggunakan ekstrak daun ketapang sebagai alternatif antibiotik pada ikan.

Biji ketapang juga memiliki senyawa aktif yang berguna sebagai antioksidan (Marques *et al.*, 2012). Selain digunakan sebagai antioksidan, biji ketapang memiliki kandungan nutrisi yang tinggi seperti asam lemak (asam palmitat, asam oleat, asam linoleat, asam stearat, dan asam miristat), protein, serat, karbohidrat, serta berbagai mineral seperti kalsium, magnesium, kalium, dan natrium (Maghfiroh *et al.*, 2014). Selain itu, biji ketapang memiliki rasa yang sama dengan almond sehingga biji ketapang banyak dimanfaatkan sebagai bahan makanan. Berdasarkan penelitian Budi (2015), biji ketapang memiliki kandungan protein yang tinggi sehingga dapat dijadikan sebagai pengganti kacang kedelai. Pengganti bahan dasar ini diharapkan dapat menekan impor kacang kedelai dari luar negeri. (Budi (2015) menjelaskan bahwa biji ketapang dapat digunakan sebagai bahan dasar pembuatan tahu, sedangkan (Maghfiroh *et al.* (2014) menjelaskan bahwa biji ketapang juga dapat dimanfaatkan sebagai bahan dasar pembuatan susu.

Pada pemanfaatan biji ketapang, daging buah ketapang dibuang sehingga kurang dimanfaatkan. Menurut Barrwick (2004) daging buah dapat dikonsumsi dan memiliki rasa yang manis ketika buah belum masak. Selain itu daging buah ketapang mengandung senyawa metabolit sekunder diantaranya seperti tanin, flavonoid dan terpenoid (Krishnaveni & Dhanalakshmi, 2015). Teridentifikasinya senyawa tersebut mendorong untuk dilakukannya penelitian lebih lanjut mengenai potensi lain yang terkandung pada buah ketapang.

Dalam rangka menggali potensi buah ketapang maka perlu dilakukan proses pengambilan senyawa aktif yang ada di dalam buah. Salah satu metode yang dapat digunakan untuk pengambilan senyawa aktif tersebut adalah metode ekstraksi. Ekstraksi merupakan suatu cara yang digunakan untuk memisahkan suatu zat berdasarkan perbedaan kelarutan menggunakan pelarut yang sesuai. Mekanisme dalam proses ekstraksi ini memanfaatkan perbedaan konsentrasi di dalam sel tumbuhan dan di luar sel tumbuhan untuk mendapatkan senyawa metabolit sekunder pada suatu simplisia (Mukhtarini, 2011). Senyawa aktif yang terdapat pada sel tumbuhan kebanyakan memiliki sifat polar sehingga lebih mudah dalam menentukan pelarut yang digunakan.

Pada umumnya pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi ini menggunakan pelarut yang mudah didapatkan dan tidak mudah menguap atau memiliki titik didih yang tinggi. Jenis pelarut tersebut yaitu akuades dan metanol. Kedua pelarut tersebut selain mudah didapatkan, memiliki harga yang ekonomis, serta

memiliki polaritas yang sama dengan sifat senyawa metabolit sekunder pada buah ketapang.

Wright *et al.* (2016) menyatakan bahwa senyawa antibakteri yang terdapat dalam buah ketapang dapat diekstraksi dengan sempurna menggunakan pelarut akuades. Pada penelitian yang dilakukan oleh Rajesh *et al.* (2016) memberikan hasil bahwa ekstraksi buah ketapang dengan pelarut akuades kurang efektif dalam melarutkan senyawa metabolit sekunder, sedangkan penggunaan pelarut metanol dapat menghasilkan ekstrak buah ketapang yang sempurna. Menurut Rajesh *et al.* (2016) hal ini dikarenakan ekstraksi menggunakan pelarut akuades hanya dapat melarutkan senyawa aktif berupa terpenoid dan flavonoid, sedangkan pelarut metanol dapat melarutkan senyawa aktif berupa saponin, terpenoid, steroid, flavonoid, dan tanin. Holil & Griana (2020) menyatakan bahwa metanol merupakan pelarut yang paling efektif untuk digunakan dalam proses ekstraksi suatu simplisia, karenakan dapat mengekstraksi senyawa metabolit sekunder lebih banyak daripada pelarut akuades. Pelarut metanol dapat melarutkan senyawa metabolit sekunder di antaranya yaitu fenol, flavonoid, alkaloid, tanin, terpenoid, dan saponin. sedangkan akuades hanya dapat melarutkan flavonoid, tanin, fenol, dan saponin.

Berdasarkan uraian permasalahan tersebut perlu dibuktikan adanya kandungan senyawa metabolit sekunder yang berfungsi sebagai antibakteri pada buah ketapang dengan cara mengikat senyawa-senyawa tersebut menggunakan pelarut akuades dan metanol. Tujuan penggunaan kedua jenis pelarut tersebut yaitu untuk melihat tingkat keefektivitannya dalam mengikat senyawa antibakteri yang terkandung pada daging buah ketapang.

## METODE

Serbuk buah ketapang diperoleh dari koleksi Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang. Penelitian ini dilakukan pada bulan Maret–April 2021 di Laboratorium Mikrobiologi, FMIPA Universitas Negeri Semarang. Sampel yang akan digunakan dalam penelitian ini yaitu buah ketapang dewasa yang belum masak berwarna hijau dan bertekstur keras. Variabel bebas meliputi jenis pelarut yaitu akuades dan metanol 70% dan tingkat konsentrasi yaitu 100% dan 50%. Variabel terikat yaitu ukuran diameter zona bening di sekitar *paperdisc*, serta variabel kontrol yaitu suhu inkubasi. Penelitian ini menggunakan desain Rancangan Acak Kelompok (RAK) 2 faktor berupa jenis pelarut dan tingkat konsentrasi. Setiap perlakuan uji antibakteri ekstrak buah ketapang terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis* diulang sebanyak 2 kali.

### Preparasi Sampel

Serbuk ketapang koleksi Laboratorium Mikrobiologi, Universitas Negeri Semarang disortir kembali dengan menggunakan penyaring. Penelitian ini menggunakan sampel buah ketapang dewasa yang belum matang. Buah ketapang muda yang berada pada fase pematangan memiliki aktivitas enzim lebih tinggi dari pada buah yang telah matang. Enzim ini mengaktifkan senyawa flavonoid dan senyawa fenolik yang berfungsi dalam pembentukan warna pada buah (Maduwanthi & Marapana, 2019), serta terdapat senyawa tanin yang digunakan sebagai astringen (Puspitasari, 2011). Puspitasari (2011) menjelaskan bahwa

astringen pada tumbuhan berguna untuk mengecilkan pori-pori, sehingga dapat digunakan sebagai antibakteri. Mekanisme antibakteri pada senyawa astringen yaitu dengan cara mengerutkan dinding sel bakteri sehingga menyebabkan permeabilitas pada dinding sel.

Daging ketapang tersebut kemudian dikeringanginkan dan dikeringkan menggunakan oven. Tujuan dari pengeringan bertingkat tersebut yaitu agar sampel daging buah ketapang lebih tahan lama disimpan karena kadar air yang terkandung dalam daging buah ketapang berkurang. Buah yang mengandung kadar air yang cukup bahkan memiliki kadar air yang tinggi rentan terhadap infeksi bakteri dan jamur. Daging buah ketapang yang telah kering, kemudian dihancurkan hingga berbentuk serbuk. Serbuk ketapang disaring untuk memisahkan serbuk halus dan serbuk kasar. Serbuk kasar kemudian dihaluskan kembali menggunakan blender. Tujuan dihaluskannya serbuk ketapang yaitu untuk memperluas daerah resapan pelarut dalam proses mengikat senyawa aktif yang terkandung pada daging buah ketapang. Selanjutnya serbuk buah ketapang diekstraksi menggunakan pelarut akuades dan metanol 70% dengan perbandingan 1:10

### **Ekstraksi Sampel**

Serbuk ketapang yang telah ditimbang serta dibagi menjadi dua bagian, kemudian dilarutkan dengan pelarut akuades dan metanol 70% dengan perbandingan serbuk dan pelarut yaitu 1:10. Larutan ekstrak buah ketapang dipekatkan dengan *waterbath* pada suhu 60-70°C selama 1 jam dan kemudian disaring dengan kertas saring. Ekstrak yang diperoleh kemudian dievaporasi menggunakan oven hingga terbentuk ekstrak dengan konsentrasi semi solid. Sediaan ekstrak buah ketapang ini sebagai sediaan pekat yang akan digunakan sebagai sampel ekstrak buah ketapang dengan konsentrasi 100%, sedangkan ekstrak buah ketapang dengan konsentrasi 50% dilakukan dengan pengenceran. Sediaan pekat ekstrak buah ketapang akuades dan ekstrak buah ketapang metanol diencerkan dengan ditambahkan akuades hingga mencapai konsentrasi 50%.

### **Penyiapan Kultur Bakteri Uji**

Sebelum dilakukan penanaman bakteri, alat dan bahan yang digunakan disterilkan terlebih dahulu menggunakan *autoclave*. Sediaan bakteri *E. coli* dan *B. subtilis* koleksi dari Laboratorium PAU Pangan dan Gizi UGM diremajakan terlebih dahulu ke dalam media *Nutrient Agar* (NA) yang baru dengan metode *streak plate*. Media yang telah diberi bakteri kemudian diinkubasi selama 24 jam. Bakteri yang telah diinkubasi, dilanjutkan dengan pengecatan gram. Pada penelitian ini bakteri *E. coli* IFO 3301 dan *B. subtilis* IFO 3335 berasal dari Laboratorium Mikrobiologi Pangan PAU Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Sebelum dilakukan kultur pada bakteri tersebut, terlebih dahulu dilakukan tahap peremajaan bakteri pada media NA. Tujuan dari peremajaan bakteri ini yaitu agar bakteri mendapatkan nutrisi dari media yang baru dan mengembalikan ke dalam fase pertumbuhannya.

### **Uji Antibakteri**

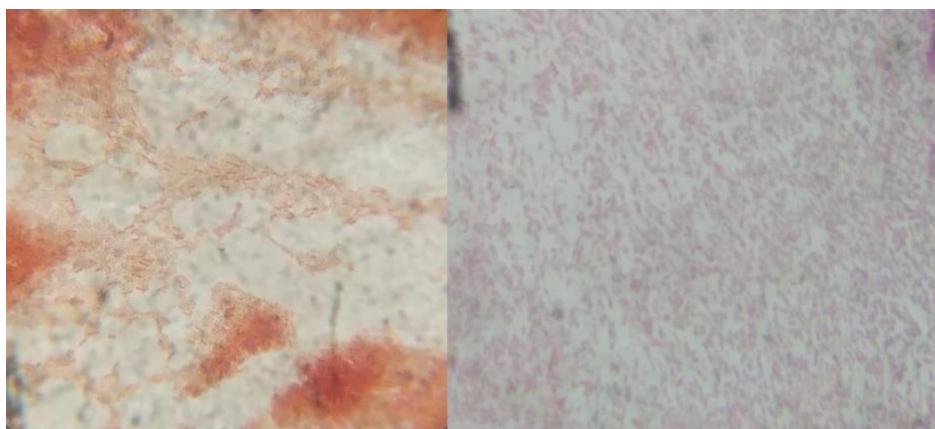
*Paperdisc* sebanyak 16 lembar direndam ke dalam ekstrak buah ketapang akuades dan ekstrak buah ketapang metanol dengan konsentrasi 100% dan 50% serta 16 lembar *paperdisc* direndam ke dalam kontrol positif

dan kontrol negatif selama 1 jam. *Paperdisc* yang telah direndam kemudian dikeringanginkan selama 30 menit. Selanjutnya biakan kultur bakteri *E. coli* dan *B. subtilis* dipindahkan ke dalam media cair Nutrient Brooth (NB) dan dituangkan ke dalam media NA dengan metode *pour plate*. Setelah itu, *paperdisc* yang telah diberi ekstrak buah ketapang diletakkan di atas media biakan dan diberi label setiap sampel uji. Media bakteri kemudian ditutup kembali dan diinkubasi selama 24 jam. Setelah masa inkubasi, biakan bakteri *E. coli* dan *B. subtilis* yang diuji antibakteri ekstrak buah ketapang diamati adanya zona bening yang terbentuk di sekitar *paperdisc*. Zona bening yang terbentuk kemudian diukur diameternya dengan menggunakan jangka sorong.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Fase pertumbuhan bakteri merupakan fase pembelahan sel bakteri melalui beberapa fase atau tahap. Fase pertumbuhan pada bakteri terdiri dari empat fase yaitu fase lag, log, stasioner, dan kematian (Wahyuningsih & Zulaika, 2019). Dalam peremajaan bakteri ini diharapkan bakteri dapat beradaptasi dengan baik dengan media baru sehingga dapat mengalami fase logaritmik atau eksponensial kembali. Bakteri dalam lingkungan yang kurang menguntungkan seperti nutrisi pada media yang rendah, pH terlalu asam atau terlalu basa, suhu rendah, maka akan mengalami fase dormansi (fase tidur), seperti pada bakteri *B. subtilis* yang akan membentuk endospora ketika kondisi lingkungan tidak menguntungkan untuk tumbuh. Dalam kondisi dormansi tersebut akan bertahan hingga bertahun-tahun lamanya dan akan berkembangbiak kembali ketika kondisi lingkungan tumbuhnya menguntungkan.

Tahap peremajaan bakteri ini dilakukan dengan menggunakan metode *streak plate* pada media NA dan diinkubasi selama 24 jam. Setelah diinkubasi selama 24 jam, selanjutnya akan dilakukan pengecatan gram guna untuk mengidentifikasi jenis bakteri. Berikut merupakan gambar hasil pengecatan gram pada bakteri *E. coli* dan *B. subtilis*.



**Gambar 1.** Pengecatan gram, bakteri gram negatif (kiri) bakteri gram positif (kanan)

Bakteri gram negatif terlihat berwarna merah, sedangkan bakteri positif menunjukkan warna ungu (Gambar 1). Hal ini dikarenakan bakteri gram positif memiliki lapisan peptidoglikan yang dapat mengikat zat warna *crystal violet*, sedangkan bakteri gram negatif tersusun atas lapisan lipid sehingga tidak dapat mempertahankan zat warna pertama yaitu *crystal violet* (Mardalena, 2016). Setelah bakteri *E. coli* dan *B.*

*subtilis* mengalami fase pertumbuhan dan tidak dalam keadaan dormansi maka dilanjutkan dengan kultur bakteri untuk kemudian dilakukan uji antibakteri ekstrak buah ketapang menggunakan metode *spread plate*.

## Ekstraksi Buah Ketapang

Metode maserasi merupakan metode perendaman serbuk simplisia menggunakan pelarut organik dengan temperatur suhu ruang. Tujuan dari penggunaan metode maserasi ini yaitu untuk memperoleh senyawa aktif yang terkandung dalam serbuk buah ketapang. Penggunaan *waterbath* dengan suhu 60°C-80°C bertujuan untuk mempercepat proses pengikatan senyawa aktif dengan pelarut yang digunakan sehingga akan terpisah antara senyawa aktif dengan serbuk simplisia. Mekanisme kerja maserasi berupa difusi zat, yaitu senyawa aktif pada serbuk buah ketapang akan bergerak menuju ke luar sel yang diakibatkan oleh perbedaan konsentrasi di dalam sel dan di luar sel (Lukman, 2016).

Proses maserasi ekstrak buah ketapang kemudian diulang sebanyak 3 kali sesuai dengan pelarut yang digunakan, agar mendapatkan senyawa metabolit sekunder pada buah ketapang semaksimal mungkin. Hasil yang diperoleh setelah proses filtrasi yaitu sebanyak 1,4 liter filtrat dari pelarut akuades dan sebanyak 1,35 liter dari pelarut metanol 70%. Filtrat ekstrak buah ketapang selanjutnya dilakukan pemekatan dengan menggunakan oven hingga diperoleh konsentrasi ekstrak semi solid. Perbandingan total filtrat dan hasil pemekatan dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Hasil Ekstraksi Buah Ketapang

Pelarut	Berat Serbuk Buah Ketapang (gr)	Total Pelarut (ml)	Berat Ekstrak Pekat (gr)
EA	50	1400	36,35
EM	50	1350	4,47

\*EA: Ekstrak buah ketapang pelarut akuades

EM: Ekstrak buah ketapang pelarut metanol 70%

Perbandingan ekstrak buah ketapang setelah mengalami pemekatan yaitu sebagai berikut, pelarut akuades memiliki jumlah ekstrak pekat lebih banyak dari pada pelarut metanol yaitu sebesar 36,35 gr sedangkan ekstrak pekat pelarut metanol 70% sebanyak 4,47 gr. Hal ini dapat terjadi ketika pelarut akuades mampu mengikat senyawa aktif lebih banyak daripada pelarut metanol. Namun berdasarkan tinggi rendahnya titik didih suatu pelarut dapat mempengaruhi efektivitas senyawa aktif tersebut. Beberapa senyawa aktif yang terkandung dalam simplisia memiliki kerentanan terhadap suhu tinggi (termolabil), sehingga dapat menyebabkan kerusakan pada senyawa aktif tersebut (Chairunnisa *et al.*, 2019)

Pada proses pemekatan ekstrak ini menggunakan oven dengan suhu 80°C untuk menjaga kestabilan senyawa aktif pada ekstrak. Senyawa aktif dapat mentoleransi suhu dari 0-90°C untuk menjaga kestabilan senyawa aktif pada senyawa simplisia, sedangkan pada suhu >90°C senyawa aktif akan mengalami degradasi (Dewata *et al.*, 2017). Dalam proses pemekatan waktu yang dibutuhkan untuk setiap pelarut berbeda. Pada pelarut akuades membutuhkan waktu yang lebih lama dari pelarut metanol. Pelarut metanol hanya membutuhkan waktu 5 hari untuk proses pemekatan, sedangkan pelarut akuades membutuhkan

waktu 7 hari namun masih belum menunjukkan konsentrasi ekstrak yang semi solid. Pada waktu 7 hari pemekatan tersebut, kondisi ekstrak mengalami perubahan warna yaitu menjadi coklat pekat berbeda dengan methanol yang masih berwarna hijau kecoklatan pekat, sehingga pada hari ke-7 pemekatan ekstrak buah ketapang pelarut akuades dihentikan. Menurut Chairunnisa *et al.* (2019), tidak hanya suhu, waktu juga dapat mempengaruhi kualitas ekstrak, sehingga pada penelitian ini ekstrak buah ketapang pelarut akuades tidak mencapai konsentrasi semi solid untuk menjaga adanya kerusakan pada senyawa aktif.

### Pengujian Efektivitas Antibakteri

Hasil penelitian tentang uji efektivitas antibakteri ekstrak buah ketapang terhadap bakteri *E. coli* dan *B. subtilis* yang digunakan sebagai sampel bakteri gram negatif dan bakteri gram positif didapatkan hasil bahwa semua jenis pelarut dan tingkat konsentrasi ekstrak buah ketapang mampu menghambat pertumbuhan kedua jenis bakteri tersebut

Hasil pengukuran zona bening pada biakan bakteri *coli* dan *B. subtilis* yang telah diinkubasi selama 24 jam dapat dilihat pada Tabel 2 dan Tabel 3.

**Tabel 2.** Hasil Pengukuran Zona Bening untuk Bakteri *E. coli*

Pelarut	Perlakuan	Diameter Zona Bening (mm)		Mean (mm)
		Ulangan 1	Ulangan 2	
EA	K+	30,34	29,79	30,06
	K-	0,66	0,21	0,43
	100%	5,42	4,39	4,90
	50%	1,39	3,24	2,31
	EM	41,83	36,02	38,92
EM	K+	0,61	0,63	0,62
	100%	<b>21,86</b>	<b>19,49</b>	<b>20,67</b>
	50%	17,33	16,62	16,97

\*K+ : Kontrol positif, K- : Kontrol negatif

\*EA : Ekstrak buah ketapang akuades

\*EM : Ekstrak buah ketapang metanol

Berdasarkan Tabel 2 hasil pengukuran zona bening pada biakan bakteri *E. coli* menunjukkan tingkat efektivitas antibakteri paling tinggi yaitu menggunakan pelarut metanol 70% di konsentrasi ekstrak 100% diameter zona bening rata-rata sebesar 23,31 mm. Sementara pada pelarut akuades memiliki diameter zona bening rata-rata pertumbuhan bakteri *E. coli* sebesar 4,90 mm.

Perbandingan antara ekstrak buah ketapang pelarut metanol dengan kontrol positif menunjukkan tingkat efektivitas yang hampir sama dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dengan diameter zona bening rata-rata kontrol positif yaitu 38,92 mm, sedangkan perbandingan ekstrak buah ketapang pelarut akuades dengan kontrol positif menunjukkan ekstrak buah ketapang pelarut akuades kurang efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri dengan diameter zona bening rata-rata kontrol positif 30,06 mm. Dengan demikian uji efektivitas antibakteri pada ekstrak buah ketapang dengan pelarut metanol mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* daripada ekstrak buah ketapang pelarut akuades.

Pada hasil pengukuran zona bening aktivitas antibakteri ekstrak buah ketapang pelarut akuades dan metanol terhadap pertumbuhan bakteri *B. subtilis* menunjukkan hasil yang sama dengan uji efektivitas antibakteri

ekstrak buah ketapang pada bakteri *E. coli* yaitu ekstrak buah ketapang pelarut metanol memiliki efektivitas antibakteri yang lebih baik daripada ekstrak buah ketapang pelarut akuades. Hasil pengukuran tersebut dapat dilihat pada Tabel 3-

**Tabel 3.** Hasil Pengukuran Zona Bening untuk Bakteri *B. subtilis*

Pelarut	Perlakuan	Diameter Zona Bening (mm)		Mean (mm)
		Ulangan 1	Ulangan 2	
EA	K+	39,92	42,83	41,37
	K-	0,51	0,55	0,53
	100%	7,58	7,04	7,31
	50%	2,11	3,33	2,72
EM	K+	43,88	37,18	40,53
	K-	1,17	2,08	1,622
	<b>100%</b>	<b>21,53</b>	<b>25,10</b>	<b>23,31</b>
	50%	13,06	6,76	9,91

\*K+ : Kontrol positif, K- : Kontrol negatif

\*EA : Ekstrak buah ketapang akuades

\*EM : Ekstrak buah ketapang metanol

Ekstrak buah ketapang pelarut metanol 70% konsentrasi 100% memiliki efektivitas paling besar dalam menghambat pertumbuhan bakteri *B. subtilis* dengan diameter zona bening rata-rata pertumbuhan sebesar 23,31 mm, sedangkan dengan ekstrak buah ketapang pelarut akuades konsentrasi 100% dengan diameter zona bening rata-rata pertumbuhan bakteri sebesar 7,31 mm (Tabel 3). Sementara itu, perbandingan antara kontrol positif dengan ekstrak buah ketapang terlihat bahwa kontrol positif memiliki efektivitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri *B. subtilis* lebih baik daripada ekstrak buah ketapang pelarut metanol maupun ekstrak buah ketapang pelarut akuades.

Kontrol positif memiliki tingkat efektivitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri yang sangat baik, karena kontrol positif merupakan larutan kloramfenikol 1%. Kloramfenikol merupakan antibiotik dengan spektrum luas yang paling efektif terhadap beberapa jenis bakteri gram negatif dan bakteri gram positif dengan mekanisme kerja menghambat sintesis protein dan memiliki sifat bakteriostatik (Dian *et al.*, 2015), sehingga dapat memiliki hasil yang sempurna dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli* dan *B. subtilis* dibandingkan dengan ekstrak buah ketapang.

Rata-rata diameter zona bening pada bakteri *E. coli* dan *B. subtilis* yang diukur setelah inkubasi selama 24 jam menunjukkan adanya sedikit perbedaan. Selain itu ekstrak dengan pelarut akuades dan metanol 70% juga menunjukkan perbedaan yang nyata. Adanya zona bening yang muncul pada biakan bakteri *E. coli* dan *B. subtilis* menunjukkan bahwa ekstrak buah ketapang pelarut akuades dan ekstrak buah ketapang pelarut metanol bersifat bakteriosida. Sifat bakteriosida ditandai dengan adanya zona bening yang terbentuk, disebabkan oleh kemampuan antibakteri dalam menghambat aktivitas metabolisme sel bakteri (Pelczar & Chan, 1986).

Berdasarkan tingkat resistensi bakteri terhadap senyawa antibakteri dalam menghambat pertumbuhannya dapat diklasifikasikan menjadi lebar diameter zona hambat pertumbuhan bakteri yaitu <8 mm sangat lemah, 8-14 lemah, 14-18 sedang, 18-20 kuat, dan >20 sangat kuat (Davis & Stott, 1971). Berdasarkan hasil yang ditunjukkan pada uji antibakteri dengan ekstrak buah ketapang menggunakan *paperdisc* membuktikan bahwa pelarut akuades dan metanol 70% memiliki kemampuan dalam mengikat senyawa metabolit sekunder pada buah ketapang yang berfungsi sebagai antibakteri. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin tinggi pula kemampuan antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif dan bakteri gram positif.

Senyawa metabolit sekunder yang digunakan sebagai antibakteri pada ekstrak buah ketapang yaitu flavonoid, terpenoid, saponin, alkaloid, dan tanin (Poongulali & Sundararaman, 2016). Hasil yang diperoleh pada Tabel 4.2 dan 4.3 menunjukkan bahwa pelarut metanol 70% lebih efektif dalam mengikat senyawa metabolit sekunder dalam buah ketapang. Hal ini dikarenakan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam buah ketapang memiliki sifat polar, sedangkan pelarut yang digunakan yaitu larutan akuades dan metanol dimana kedua pelarut ini merupakan pelarut polar dengan sifat yang berbeda yaitu pelarut metanol memiliki sifat universal yang berarti dapat mengikat senyawa polar, semipolar, maupun nonpolar (Suryani *et al.*, 2015) sehingga kemampuan dalam mengikat senyawa metabolit sekunder tersebut lebih baik daripada pelarut akuades.

Menurut Hidayah *et al.* (2017), pelarut dapat mengikat senyawa aktif pada suatu simplisia jika memiliki tingkat kepolaran yang sama melalui proses ekstraksi, serta diperlukannya suatu pengetahuan akan selektivitas suatu pelarut terhadap zat tertentu. Tampemawa *et al.* (2016) juga menyatakan bahwa terpenoid, flavonoid, tanin, dan steroid yang terkandung dalam buah ketapang memiliki kemampuan sebagai antibakteri dan bersifat polar sehingga perlu digunakan suatu pelarut yang memiliki sifat polar pula, seperti metanol dan akuades. Pelarut metanol 70% mampu mengikat senyawa metabolit sekunder dalam buah ketapang yang digunakan sebagai antibakteri seperti flavonoid, steroid, dan tanin (Istarina *et al.*, 2015).

Hasil penelitian ini menunjukkan efektivitas ekstrak buah ketapang pelarut metanol 70% dan akuades dalam menghambat pertumbuhan bakteri *B. subtilis* (bakteri gram positif) lebih baik daripada bakteri *E. coli* (bakteri gram negatif). Hal ini dikarenakan pelarut metanol 70% mampu mengikat senyawa aktif yang memiliki aktivitas antibakteri seperti terpenoid, steroid, tanin dan flavonoid dengan lebih baik dari pada pelarut akuades.

Kemampuan pelarut metanol dalam mengikat senyawa aktif ekstrak buah ketapang selain didasarkan pada sifatnya yang universal juga pada polaritas atau dapat pula disebut sebagai konstanta dielektrik (Verdiana *et al.*, 2018). Konstanta dielektrik dapat dikatakan sebagai gaya tolak menolak antaradua partikel bermuatan listrik dalam suatu molekul, sehingga semakin tinggi konstanta dielektriknya maka semakin polar sifat larutan. Senyawa aktif tersebut tergolong senyawa polar sehingga dapat dengan mudah menembus dinding sel bakteri *B. subtilis* (bakteri gram positif). Salamah dan Widayarsi (2015) menyatakan bahwa metanol merupakan pelarut universal, disebut demikian sebab metanol dapat menarik beberapa senyawa pada suatu bahan tertentu yang memiliki sifat polar maupun nonpolar. Selain itu Verdiana (2018) mengatakan

bahwa metanol adalah pelarut polar-protik yang berarti dapat mendonorkan ion OH. Karena metanol 70% tersebut mengandung akandes sebanyak 30% menyebabkan metanol teknis lebih polar dibandingkan akandes, sehingga lebih mudah dalam berinteraksi dengan gugus fungsional yang bersifat polar pada proses ekstraksi.

Pada dinding sel bakteri *B. subtilis* mengandung peptidoglikan. Peptidoglikan merupakan suatu komponen penyusun dinding sel yang memiliki kandungan karbohidrat dan protein di dalamnya (Febrianasari, 2018). Kedua senyawa tersebut termasuk ke dalam senyawa polar, ketika ekstrak buah ketapang yang merupakan senyawa polar diletakkan dalam biakan bakteri *B. subtilis* (bakteri gram positif) maka ekstrak tersebut dengan mudah berdifusi ke dalam sel bakteri, sedangkan bakteri *E. coli* (bakteri gram negatif) memiliki struktur dinding sel berupa lapisan lipopolisakarida (Iguchi *et al.*, 2015). Dinding lipopolisakarida memiliki sifat non polar, hal ini karena dinding lipopolisakarida tersusun atas lipid pada lapisan terluarnya sehingga lebih sulit untuk ekstrak metanol maupun akandes menembus dinding sel bakteri. Hal ini sejalan dengan prinsip *like dissolve like* yang menyatakan bahwa senyawa polar akan berikatan dengan senyawa polar lainnya dan sebaliknya (Arsa & Achmad, 2020).

Ekstrak buah ketapang yang dapat menembus dinding sel bakteri kemudian akan masuk ke dalam sitoplasma dan menyebabkan lisis sel pada bakteri. Kerusakan sel bakteri disebabkan oleh adanya kandungan senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak buah ketapang diantaranya seperti flavonoid, tanin, steroid, dan terpenoid (Tampemawa *et al.*, 2016). Senyawa flavonoid diketahui dapat menyebabkan kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri. Terdapat tiga mekanisme penghambatan pada senyawa flavonoid di antaranya yaitu penghambatan sintesis asam nukleat, penghambatan fungsi membran sitoplasma serta penghambatan metabolisme energi (Xie *et al.*, 2014). Menurut Wright *et al.* (2016) senyawa tanin dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara mengikat protein pada bakteri seperti prolin dan asam lipoteikoat serta sebagai sebagai inhibitor metabolisme sel. Selain itu tanin akan berinteraksi dengan oksidoreduktase sitoplasma dan mengganggu dinding sel bakteri. Menurut Istarina *et al.* (2015) steroid dikenal sebagai senyawa antibakteri yang menyebabkan lisis sel bakteri dengan mengikat protein, lipid, ataupun karbohidrat pada membran sel, sehingga permeabilitas membran menghilang. Ngajow *et al.* (2013) mengatakan bahwa mekanisme antibakteri terpenoid belum diketahui dengan pasti, namun aktivitas antibakteri terpenoid ini melibatkan lisis membran oleh senyawa lipofilik. Menurut Leon *et al.* (2010) senyawa terpenoid dan fenol memiliki target utama dalam lisis sel yaitu membran sitoplasma yang mengacu pada sifat alaminya yaitu hidrofobik.

Selain senyawa tanin, terpenoid, steroid, dan flavonoid juga terdapat senyawa alkaloid dan saponin yang juga merupakan senyawa antibakteri, senyawa ini juga ditemukan dalam ekstrak buah ketapang (Jony *et al.*, 2013). Senyawa alkaloid dapat menyebabkan kematian sel bakteri tertentu dengan cara mengganggu senyawa penyusun peptidoglikan pada dinding sel bakteri, sehingga dinding sel mengalami kerusakan (Harborne, 1987 dalam Istarina *et al.*, 2015). Mekanisme antibakteri pada saponin yaitu dengan cara menurunkan tegangan permukaan yang mengakibatkan naiknya permeabilitas sel sehingga senyawa intraseluler pada sel bakteri akan keluar (Febrianasari, 2018).

## SIMPULAN

Jenis pelarut akuades dan metanol 70% berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis*. Pada konsentrasi 100% ekstrak buah ketapang juga mempengaruhi luasnya diameter zona bening yang terbentuk dari biakan bakteri *E. coli* dan *B. subtilis* dari pada konsentrasi 50%, sedangkan dalam penelitian tersebut ekstrak buah ketapang metanol 70% (EM) konsentrasi 100% sangat efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *B. subtilis*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Arsa, A. K., & Achmad, Z. (2020). Ekstraksi minyak atsiri dari rimpang temu ireng (*Curcuma aeruginosa* Roxb) dengan pelarut etanol dan n-heksana. *Jurnal Teknologi Technoscientia*, 13(1), 83–94.
- Barwick, M. (2004). *Tropical and Subtropical Trees*. London, Inglaterra: Thames and Hudson. 483p.
- Budi, A. C. (2015). Pemanfaatan biji ketapang (*Terminalia catappa*) sebagai bahan dasar tahu dengan substansi kacang kedelai dan bahan penggumpal asam cuka dan batu tahu untuk meningkatkan ketahanan pangan. *Unnes*, 1–275.
- Chairunnisa, S., Wartini, N. M., & Suhendra, L. (2019). Pengaruh suhu dan waktu maserasi terhadap karakteristik ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana* L.) sebagai sumber saponin. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 7(4), 551-560. <https://doi.org/10.24843/jrma.2019.v07.i04.p07>
- Davis, W. W., & Stout, T. R. (1971). Disc plate method of microbiological antibiotic assay. II. Novel procedure offering improved accuracy. *AppliedMicrobiology*, 22(4), 666–670. <https://doi.org/10.1128/am.22.4.666-670.1971>
- Dewata, I. P., Wipradyadewi, P. A. S., & Widarta, I. W. R. (2017). Pengaruh suhu dan lama penyeduhan terhadap aktivitas antioksidan dan sifat sensoris teh herbal herbal daun alpukat (*Persea americana* Mill). *Jurnal ITEPA*, 6(2), 30–39.
- Dian, R., Fatimawali., & Budiarso, F. (2015). Uji resistensi bakteri *Escherichia coli* yang diisolasi dari plak gigi terhadap merkuri dan antibiotik kloramfenikol. *Jurnal E-Biomedik*, 3(1). <https://doi.org/10.35790/ebm.3.1.2015.6607>
- Febrianasari, F. (2018). Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun kirinya terhadap *Staphylococcus aureus*. *Skripsi* Universitas Sanata Darma Yogyakarta. <http://repository.usd.ac.id/id/eprint/30997>
- Hidayah, N., Mustikaningtyas, D., & Bintari, S. H. (2017). Aktivitas antibakteri infusa simplisia *Sargassum muticum* terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *Life Science*, 6(2), 49–54.
- Holil, K., & Griana, T. P. (2020). Analisis fitokimia dan aktivitas antioksidan ekstrak daun kesambi (*Schleira oleosa*) Metode DPPH. *Journal of Islamic Pharmacy*, 5(1), 28-32. <https://doi.org/10.18860/jip.v5i1.9387>
- Iguchi, A., Iyoda, S., Kikuchi, T., Ogura, Y., Katsura, K., Ohnishi, M., Hayashi, T., & Thomson, N. R. (2015). A complete view of the genetic diversity of the *Escherichia coli* O-antigen biosynthesis gene cluster. *DNA Research*, 22(1), 101–107. <https://doi.org/10.1093/dnare/dsu043>
- Istarina, D., Khotimah, S., & Turnip, M. (2015). Aktivitas antibakteri ekstrak metanol buah ketapang (*Terminalia catappa* Linn.) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus epidermidis* dan *Salmonella typhi*. *Jurnal Protobiont*, 4(3), 98–102.
- Jony, M., Al, F. A., & Kumar, B. R. (2013). A comprehensive review on pharmacological activity of *Terminalia catappa* (Combretaceae) - an update. *Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development*, 1(2), 65–70.
- Krishnaveni, M., & Dhanalakshmi, R. (2015). Phytonutrient analysis in *Terminalia catappa* fruit, flesh, nut, shell. *International Journal of Current Pharmaceutical Review Research*, 6(1), 28-35.
- Leon, L.D., M.R. Lopez., dan L. Moujir. (2010). Antibacterial properties of zeylasterone a triterpenoid isolated from *Maytenus blepharocles* against *Staphylococcus aureus*. *Microbiological Research*. 12: 2-10.
- Lukman, A. (2016). Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun kemangi (*Ocimum sanctum*, L.) terhadap bakteri patogen dengan Metode KLT Bioautografi. *Skripsi* Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar. <http://repository.uin-alauddin.ac.id/id/eprint/1107>

- Maduwanthi, S. D. T., & Marapana, R. A. U. J. (2019). Induced ripening agents and their effect on fruitquality of banana. *International Journal of Food Science*, 1-9. <https://doi.org/10.1155/2019/2520179>
- Maghfiroh, Wijaya, A. A., Sa'adah, E., Valla, M. I. A., & Romadhon, F. (2014). Karakteristik sensoris susu ketapang (*Terminalia catappa* L.) substitusi susu kedelai *high protein*. *Agrointek*, 8(2), 69–74.
- Mardalena, M. (2016). Fase pertumbuhan isolat bakteri asam laktat (BAL) tempoyak asal Jambi yang disimpan pada suhu kamar. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia*, 11(1), 58–66. <https://doi.org/10.31186/jspi.id.11.1.58-66>
- Marques, M. R., Paz, D. D., Batista, L. P. R., Barbosa, C. de O., Araújo, M. A. M., & Moreira-Araújo, R. S. dos R. (2012). An in vitro analysis of the total phenolic content, antioxidant power, physical, physicochemical, and chemical composition of *Terminalia catappa* Linn fruits. *Food Science and Technology*, 32(1), 209–213. <https://doi.org/10.1590/s0101-20612012005000023>
- Mukhtarini. (2011). Ekstraksi, pemisahan senyawa, dan identifikasi senyawa aktif. *Jurnal Kesehatan*, 7(2), 361–367.
- Ngajow, M., Abidjulu, J., & Kamu, V. S. (2013). Pengaruh antibakteri ekstrak kulit batang matoa (*Pometia pinnata*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*. *Jurnal MIPA*, 2(2), 128–132.
- Omotayo, M. A., Akoro, S. M., Avungbeto, M. O., & Uwakwe, H. (2017). Evaluation of free radical scavenging and antibacterial activity of *Acalypha wilkesiana* and *Terminalia catappa* methanolic leaf extracts. *Microbiology Research Journal International*, 19(3), 1-9.
- Pelczar, M.J., & Chan, E. C. S., (1986). *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Diterjemahkan oleh Ratna Siri Hadioetomo dkk. Jakarta: UI-Press. Hal. 190-191.
- Poongulali, S., & Sundararaman, M. (2016). Antimycobacterial, anticandidal and antioxidant properties of *terminalia catappa* and analysis of their bioactive chemicals. *International Journal of Pharmacy and Biological Sciences Research*, 6(2), 69–83.
- Puspitasari, L. (2011). Penetapan jenis tanin dan kadar tanin total pada kulit buah dan biji bungur (*Lagerstroemia speciosa* L.) Pers secara kolorimetri dengan pereaksi Biru Prusia. *Skripsi* Universitas Surabaya. <http://digilib.ubaya.ac.id/pustaka.php/222562>
- Rajesh, B. R., Potty, V. P., & Sreelekshmy, S. G. (2016). Study of total phenol, flavonoids, tannin contents, and phytochemical screening of various crude extracts of *Terminalia catappa* leaf, stem bark and fruit. *International Journal of Applied and Pure Science and Agriculture (IJAPSA)*, 2(6), 291–296.
- Silva, L. P., De Angelis, C. D., Bonamin, F., Kushima, H., José Mininel, F., Dos Santos, L. C., Delella, F. K., Felisbino, S. L., Vilegas, W., MacHado Da Rocha, L. R., Dos Santos Ramos, M. A., Bauab, T. M., Toma, W., & Hiruma-Lima, C. A. (2015). *Terminalia catappa* L.: A medicinal plant from The Caribbean Pharmacopeia with anti-*Helicobacter pylori* and antiulcer action in experimental rodent models. *Journal of Ethnopharmacology*, 159, 285–295. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.11.025>
- Suryani, N.C., Permana, D.G.M., Jambe, A.A.G.N.A. (2015). Pengaruh jenis pelarut terhadap kandungan total flavonoid dan aktivitas antioksidan ekstrak daun matoa (*Pometia pinnata*). ITEPA, *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*, 5(1)
- Tampemawa, P. V., Pelealu, J. J., & Kandou, F. E. F. (2016). Uji efektivitas ekstrak daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) terhadap Bakteri *Bacillus amyloliquefaciens*. *Pharmacon*, 5(1), 308–320. <https://doi.org/10.35799/pha.5.2016.11324>
- Udotong, J. I. R., & Bassey, M. I. (2015). Evaluation of the chemical composition, nutritive value and antinutrients of *Terminalia catappa* L. fruit (Tropical Almond ). *International Journal of Engineering and Technical Research (IJETR)*, 3(9), 96–99.
- Verdiana, M., Widarta, I. W. R., Gede, I. D., & Permana, M. (2018). Pengaruh jenis pelarut pada ekstraksi menggunakan gelombang ultrasonik terhadap aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah lemon (*Citrus limon*, L., Burm F.). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 7(4), 213-222. doi:10.24843/itepa.2018.v07.i04.p08

- Wahyuningsih, N., & Zulaika, E. (2019). Perbandingan pertumbuhan bakteri selulolitik pada media Nutrient Broth dan Carboxy Methyl Cellulose. *Jurnal Sains dan Seni ITS*, 7(2), 7–9. <https://doi.org/10.12962/j23373520.v7i2.36283>
- Wright, M. H., Arnold, M. S. J., Lee, C. J., Courtney, R., Greene, A. C., & Cock, I. E. (2016). Qualitative phytochemical analysis and antibacterial activity evaluation of Indian *Terminalia spp.* against the pharyngitis causing pathogen *Streptococcus pyogenes*. *Pharmacognosy Communications*, 6(2), 85-92.
- Xie, Y., Yang, W., Tang, F., Chen, X., & Ren, L. (2014). Antibacterial activities of flavonoids : structure-activity relationship and antibacterial activities of flavonoids: Structure-activity relationship and mechanism. <https://doi.org/10.2174/0929867321666140916113443>