

**UJI FITOKIMIA DAN ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN BALANGLA  
(*Litsea cubeba* (Lour.) Pers.) TERHADAP BAKTERI  
*Stapylococcus aureus* DAN *Escherichia coli***

**Elvi Marina<sup>1</sup>, Hetty Manurung<sup>2</sup>, Rudy Agung Nugroho<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Laboratorium Bioprospek, Biokimia, Mikrobiologi dan Genetika Molekuler.

<sup>2</sup>Program Studi Biologi, FMIPA, Universitas Mulawarman

\*Corresponding Author: [elvimarina92@gmail.com](mailto:elvimarina92@gmail.com)

**Abstract**

*Balangla plant (Litsea cubeba (Lour.) Pers.) is an aromatic plant known by Indonesian people because every parts of this plant have fragrance like as citrus plant. This plant is a tree with a trunk diameter between 6-20 cm, and height 5-10 meters. The purpose of this study were to determine the secondary metabolites compound and antibacterial activity on balangla leaf extract ethanol against the growth of S.aureus and E.coli bacteria. Antibacterial test conducted by diffusion wells method with using a completely randomized design (CDR), which consists of 10 treatments specifically 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% and 2 control; chloramphenicol (25%) as a positive control and DMSO as a negative control. Each treatment using 3 repetitions. The results of secondary metabolites compound using qualitative analysis and antibacterial test results use non-parametric analysis Kruskal-Wallis test and continued test using the Mann-Whitney test. Extract ethanol of balangla leaf contain secondary metabolites compounds such as alkaloids, flavonoids, phenolic and steroid which its have antibacterial activities against bacteria test. The results of antibacterial activity of showed that S.aureus largest inhibition zona diameter formed at 100% concentration (15,91±0,950 mm), and the smallest inhibition zona formed at 10% concentration (9,58±0,361 mm). and for E.coli bacteria, have largest inhibition zona was formed at 100% concentration (16,23±0.416 mm), and the smallest inhibition zona formed at 10% concentration (9,63±0,321 mm).*

**Keywords :** *Balangla plant, Phytochemical, Antibacteria, Stapylococcus aureus, Escherichia coli*

**Pendahuluan**

Indonesia memiliki potensi yang sangat besar dalam penyediaan bahan baku tumbuhan obat karena sumber daya tersebut tersimpan di dalam hutan dan belum dimanfaatkan dengan baik. Kekayaan alam tumbuhan obat Indonesia terdiri atas 30.000 jenis tumbuhan dari total 40.000 spesies jenis tumbuhan di dunia, dimana 940 jenis diantaranya merupakan tumbuhan berkasiat obat. Jumlah ini merupakan 90% dari jumlah tumbuhan obat di kawasan Asia [24].

Salah satu tumbuhan obat, yaitu tumbuhan balangla (*Litsea cubeba* (Lour.) Pers) merupakan tumbuhan aromatik yang dikenal oleh masyarakat Indonesia karena semua bagian dari tumbuhan ini berbau harum seperti tanaman jeruk. Tumbuhan ini berupa pohon dengan diameter batang 6-20 cm, serta tinggi pohon 5 – 10 meter. Penyebaran tumbuhan balangla di Indonesia meliputi daerah Jawa, Kalimantan, dan Sumatra [13].

Secara tradisional khususnya masyarakat Kalimantan, Dayak Kenyah, menggunakan tumbuhan balangla untuk pengobatan yaitu sebagai obat penyembuhan batuk pilek, sebagai obat kejang urat, obat sakit kepala, penyakit kulit, pereda rasa sakit dan juga memiliki khasiat sebagai obat diare, obat demam, aromaterapi, bahkan digunakan sebagai bumbu masak (rempah-rempah).

Dari hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa minyak atsiri dan senyawa lainnya merupakan senyawa-senyawa bioaktif yang dapat bersifat antikanker, antioksidan, dan antibakteri. Senyawa antibakteri merupakan senyawa yang memiliki kemampuan mencegah terjadinya pertumbuhan dan reproduksi bakteri. Pada tumbuhan senyawa antibakteri biasanya terdapat pada bagian-

bagian tumbuhan seperti daun, ranting, kulit kayu, dan bagian-bagian lainnya. Antibakteri digunakan untuk menghilangkan bakteri yang berpotensi membahayakan bagi kesehatan dan bersifat patogen seperti bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Bakteri *E. coli* dapat menyebabkan berbagai penyakit tergantung dari tempat infeksiya seperti infeksi kantung kemih dan diare [3]. Sementara bakteri *S.aureus* juga dapat menimbulkan infeksi bernanah. Selain itu bakteri *S.aureus* juga dapat menyebabkan berbagai jenis penyakit seperti: infeksi pada polikel rambut, kelenjar keringat, bisul, infeksi kulit, dan infeksi pada luka [8].

Untuk mengetahui kandungan senyawa kimia yang terdapat pada tumbuhan balangla maka dilakukan uji fitokimia yaitu uji alkaloid, uji flavonoid, uji fenolik, uji saponin, dan uji steroid sedangkan untuk uji antibakteri yang dilihat adalah zona hambat yang terbentuk apakah mampu menghambat pertumbuhan bakteri tersebut. Oleh sebab itu penulis tertarik untuk melakukan penelitian tentang senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada daun tumbuhan balangla dan sifat-sifatnya sebagai antibakteri terhadap bakteri *S.aureus* yang mewakili bakteri gram positif dan bakteri *E.coli* yang mewakili bakteri gram negatif.

Tujuan penelitian ini adalah mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak etanol daun balangla, mengetahui daya antibakteri ekstrak etanol daun balangla terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan bakteri *Escherichia coli*, mengetahui konsentrasi efektif ekstrak etanol daun balangla terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan bakteri *Escherichia coli*.

## Teori/Metodologi

### Deskripsi Umum Tumbuhan Balangla (*Litsea cubeba* (Lour.) Pers.)

Genus *Litsea* terdiri dari tumbuhan luruh dan semak genus ini kira-kira mencakup 400 spesies. Tumbuhan ini merupakan pohon perdu atau pohon kecil. Salah satu spesies dari tumbuhan ini yaitu *Litsea cubeba*. *Litsea cubeba* mempunyai nama lain seperti: kragean (Jawa tengah), kilemo (Jawa barat), Antarasa (Sumatra utara), sedangkan daerah Kalimantan khususnya pada suku Dayak Kenyah dikenal dengan nama balangla. Tumbuhan ini memiliki perawakan berupa pohon dengan ketinggian 5-10 m, sedikit berbulu, daun tunggal, berbentuk memanjang lanset, ujung daun meruncing panjang, permukaan daun mengkilat, panjang daun 7-15

cm. Jika daun diremas berbau lemon menyengat. Buah buni, berbentuk bulat, buah yang masih muda berwarna hijau dan yang sudah kering berwarna hitam [2].

Secara tradisional tumbuhan balangla digunakan sebagai penghangat dan pereda rasa sakit, biji nya dimakan untuk memperbaiki pencernaan, penyembuhan batuk. Di Vietnam dari tumbuhan juga berkasiat untuk pengobatan gangguan mental. Di Taiwan tumbuhan ini digunakan untuk penyembuhan kutu air di telapak kaki dan penyakit kulit dan di Indonesia khususnya masyarakat dayak Kenyah memanfaatkan tumbuhan ini sebagai obat kejang otot, demam, batuk, sakit kepala, sakit perut dan juga digunakan sebagai rempah-rempah [23].

Klasifikasi tumbuhan balangla (*Litsea cubeba* (Lour.) Pers.) menurut buku [14] adalah sebagai berikut :

kingdom	: Plantae
devisi	: Spermatophyta
sub devisi	: Angiospermae
kelas	: Dicotyledoneae
ordo	: Laurales
famili	: Lauraceae
genus	: <i>Litsea</i>
spesies	: <i>Litsea cubeba</i>



Gambar 1. Tumbuhan Balangla (*Litsea cubeba*). Sumber: [12].

### Senyawa Metabolit

Metabolit sekunder adalah senyawa hasil metabolisme yang digolongkan berdasarkan biogenesisnya atau berdasarkan sumber bahan baku dan jalur biosintesisnya. Terdapat dua jenis metabolit yaitu metabolit primer dan metabolit sekunder. Metabolit primer adalah senyawa organik yang merupakan penyusun utama makhluk hidup, seperti polisakarida, protein, lemak, dan asam nukleat. Metabolit

sekunder memanfaatkan metabolit primer pada awal dalam jalur metabolismenya. Metabolit sekunder tidak sangat penting bagi suatu makhluk hidup, tetapi sering berperan sebagai pertahanan makhluk hidup itu sendiri. Metabolit sekunder umumnya terdapat pada tumbuhan dan sebagian terdapat pada mikroba yang tergolong pada sel tumbuhan. Metabolit sekunder tersebut dapat dikelompokkan sebagai berikut: [11].

1. Alkaloid
2. Flavonoid
3. Fenolik
4. Saponin
5. Steroid dan Terpenoid.

### Bakteri

Nama bakteri berasal dari kata "Bakterion" (bahasa Yunani) yang berarti tongkat atau batang. Kata bakteri sekarang dipakai untuk menyebut sekelompok organisme yang bersel satu berkembang biak dengan pembelahan diri dan hanya tampak dengan menggunakan mikroskopis.

Bakteri merupakan sel prokariotik yang khas dan tidak mengandung struktur yang dibatasi oleh membran di dalam sitoplasmanya. Sel-selnya berbentuk bola, batang atau spiral. Bakteri yang khas berdiameter sekitar 0,5 sampai 1,5  $\mu\text{m}$  dan panjangnya 1,5 sampai 2,5  $\mu\text{m}$ . Bakteri juga merupakan organisme bersel satu yang hidup bebas tanpa klorofil dan memiliki *deoksiribonucleic acid* (DNA) dan *ribonucleic acid* (RNA) serta memiliki kemampuan menunjukkan semua proses dasar kehidupan seperti proses tumbuh, metabolisme dan perkembangbiakan [10].

### Bakteri Gram Positif dan Bakteri Gram Negatif

Secara garis besar berdasarkan pengecatan Gram, bakteri dikelompokkan menjadi 2, yaitu bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif. Bakteri Gram positif adalah bakteri yang pada pengecatan Gram akan tahan terhadap alkohol, sehingga tetap mengikat warna cat pertama dan tidak mengikat warna cat kedua dan warna bakteri tetap berwarna ungu. Bakteri Gram negatif adalah bakteri yang pada pengecatan Gram tidak tahan terhadap alkohol, sehingga warna cat yang pertama akan dilunturkan dan bakteri akan mengikat warna yang kedua yang diberikan sehingga bakteri tampak berwarna merah [18].

Berdasarkan bentuk morfologinya bakteri dapat dibagi atas empat golongan, yaitu golongan basil, golongan kokus, golongan vibrio, dan golongan spiril [6]. yaitu kokus berbentuk bulat, apabila tersusun pasangan, dikenal sebagai

diplokokus, basil memiliki bentuk batang, tersusun secara tunggal atau dalam rantai, vibrio adalah bakteri melengkung, spirochaeta atau spiral adalah bakteri yang sangat kecil, lentur dan berbentuk spiral.

### Bakteri *Escherichia coli*

Morfologi dari *Escherichia coli* adalah berbentuk batang pendek (kokus basil), gram negatif, ukuran 0,4-0,7  $\mu\text{m}$  x 1,4  $\mu\text{m}$ , sebagian gerak positif dan beberapa strain mempunyai kapsul. *E.coli* tumbuh baik pada hampir semua media digunakan untuk isolasi kuman enterik, sebagian besar strain *E.coli* tumbuh sebagai koloni yang meragi laktosa. *E.coli* bersifat mikroaerofilik. Beberapa strain bila ditanam *E.coli* merupakan bagian terbesar dari flora normal usus. Bakteri ini pada umumnya tidak menyebabkan penyakit bila masih ada di dalam usus dan baru dapat menyebabkan penyakit bila telah mencapai jaringan di luar traktus intestinalis seperti saluran kencing, paru, saluran empedu, peritoneum dan selaput otak.

### Bakteri *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif, berbentuk kokus dengan diameter 0,7-0,9  $\mu\text{m}$ . bakteri ini dapat hidup secara aerob ataupun anaerob, bersifat non motil dan tidak membentuk spora. Bakteri ini sering ditemukan pada makanan yang mengandung protein tinggi seperti telur dan sosis.

*S.aureus* adalah patogen utama pada manusia. Hampir setiap orang pernah mengalami berbagai infeksi *S.aureus* selama hidupnya, dari keracunan makanan yang berat atau infeksi kulit yang kecil, sampai infeksi kulit yang tidak dapat disembuhkan.

*S.aureus* bertanggung jawab atas banyak masalah infeksi di rumah sakit. Organisme itu mudah tumbuh pada media hara biasa dan walaupun banyak galur memerlukan beberapa asam amino dan satu vitamin B atau lebih, galur-galur ini tidak pandang sebagai bakteri yang sukar dipelihara. Pada preparat yang diwarnai sel-selnya tampak sebagai kelompok kokus yang tidak beraturan. Ketidakteraturan ini segera memberikan namanya yang berasal dari kata Yunani yang berarti "untaian buah anggur.

### **Antibakteri.**

Antibakteri adalah zat atau senyawa yang memiliki kemampuan mencegah terjadinya pertumbuhan dan reproduksi bakteri. Dalam sehari-hari, istilah yang lebih umum dikenal adalah antibiotik. Meskipun antibiotik maupun antibakteri sama-sama menyerang bakteri, namun kedua istilah ini memiliki arti yang berbeda. Zat antibakteri merupakan suatu zat yang digunakan untuk menghilangkan bakteri yang berpotensi membahayakan. Zat antibakteri tidak digunakan sebagai obat untuk manusia maupun hewan, namun dapat ditemukan dalam berbagai produk seperti sabun, deterjen, produk-produk untuk kulit dan kesehatan serta pembersih peralatan rumah tangga.

### **Metodologi Penelitian**

#### **Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2014 sampai Maret 2015. Pembuatan ekstrak etanol daun balangla dilakukan di Laboratorium Bioprospek, uji fitokimia di Laboratorium Biokimia dan uji antibakteri di Laboratorium Mikrobiologi dan Genetika Molekuler, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mulawarman, Samarinda.

#### **Rancangan Penelitian**

Penelitian ini menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 10 perlakuan dan 2 kontrol masing-masing 3 ulangan. Dimana kontrol positif menggunakan kloramfenikol 25%, kontrol negatif menggunakan larutan DMSO dan konsentrasi ekstrak 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%.

#### **Cara Kerja Penelitian.**

Daun diambil di sekitat gunung seribuh kec. Sungai boh kab. malinau, ditimbang berat basah, dicuci kemudian dipotong-potong kecil lalu dikering anginkan. Ditimbang kembali untuk mengetahui berat keringnya, lalu diblender sampai berbentuk serbuk dan dimaserasi dengan alkohol 95% selama 5 hari. Hasil penyaringan diuapkan dengan *rotary evaporator* pada temperatur lebih kurang 40°C sampai menjadi filtrat kental dan diperoleh ekstrak kental daun *daun balangla*.

#### **Uji Fitokimia**

##### **Uji Alkaloid (Uji Dragendorff)**

Ekstrak daun balangla sebanyak 2 ml, lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 5 mL kloroform-amoniak 0,005 M, lalu dihomogenkan. Disaring ke dalam tabung reaksi yang berbeda. Didapatkan hasil residu dan filtrat.

Filtrat ditambahkan dengan beberapa tetes asam sulfat 2M dan dikocok sehingga terbentuk 2 lapisan asam dan basa. Kemudian diambil bagian asam (terdapat pada lapisan atas), ditambahkan dengan beberapa tetes pereaksi Dragendorff. Terbentuknya endapan warna merah kecoklatan menandakan bahwa ekstrak positif mengandung alkaloid [20].

##### **Uji Flavonoid**

Ekstrak kasar balangla sebanyak 2 ml lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi ditambahkan 5 mL air, dididihkan selama kurang lebih 5 menit lalu disaring. Filtrat sebanyak 2 mL ditambahkan 0,05 mg serbuk Mg dan 1 mL HCl pekat, kemudian dikocok hingga homogen. Warna merah, kuning atau jingga yang terbentuk menandakan bahwa larutan ekstrak tersebut positif mengandung flavonoid [11].

##### **Uji Fenolik**

Ekstrak daun balangla sebanyak 2 ml, lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi ditambahkan beberapa tetes FeCl<sub>3</sub> 1% dihomogenkan. Warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam pekat pada ekstrak menandakan bahwa positif mengandung fenolik [11].

##### **Uji Saponin/Uji Forth**

Ekstrak daun balangla sebanyak 2 ml, lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi ditambahkan 5 mL air panas dikocok kuat-kuat selama kurang lebih 10 detik. Apabila terbentuk busa pada ekstrak yang diuji selama kurang lebih 10 menit menandakan ekstrak tersebut positif mengandung saponin. Tinggi busa kurang lebih 1-3 cm, jika ditambahkan 1 tetes HCl 2N busa tersebut tidak hilang [11].

##### **Uji Steroid-Triterpenoid/Uji Libermen Buchard**

Ekstrak daun balangla sebanyak 2 ml, lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan beberapa tetes dietil eter lalu dihomogenkan. Fraksi yang larut dalam dietil eter ditambahkan beberapa tetes asam asetat glasial dan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat lalu dihomogenkan. Terbentuknya warna hijau atau biru menandakan bahwa ekstrak positif mengandung steroid, sedangkan terbentuknya warna merah atau ungu menandakan bahwa ekstrak positif mengandung triterpenoid [11].

### Uji Daya antibakteri Sterilisasi Alat dan Bahan

Cawan petri, tabung reaksi, erlenmeyer, media Mueller Hinton Agar (MHA), dan seluruh alat dan bahan yang akan digunakan disterilisasi di dalam autoklaf selama 15 menit dengan tekanan sebesar 15 dyne per cm<sup>3</sup> (1 atm) dan suhu sebesar 121°C.

### Pembuatan Media MHA (Mueller Hinton Agar)

Ditimbang media MHA sebanyak 22,8 gr, kemudian dilarutkan ke dalam 600 ml aquadest, lalu diaduk menggunakan *magnetic stirrer*, setelah homogen, dipanaskan hingga mendidih. Kemudian disterilkan menggunakan autoclave selama 15 menit pada suhu 121 °C. Larutan dituang ke dalam cawan petri steril dan ditutup, lalu dibiarkan sampai memadat.

### Regenerasi Bakteri

Isolat murni bakteri *S.aureus* dan *E.coli* di ambil dari media subkultur sebanyak 1 ujung ose dengan menggunakan jarum ose yang telah dipijarkan. Kemudian digoreskan pada media miring NA. Selanjutnya diinkubasi selama 20 jam pada suhu 37°C [21].

### Pembuatan suspensi bakteri

Biakan bakteri yang akan digunakan adalah *S.aureus* dan *E.coli* yang sudah diremajakan pada medium agar miring (NA), sebelum dilakukan perlakuan dengan bakteri terlebih dahulu disuspensikan kedalam larutan NaCl 0,9% steril, dengan mengambil 1 ose koloni bakteri *S.aureus* dan *E.coli* dari masing-masing media subkultur lalu *vortex* sampai homogen. Selanjutnya suspensi bakteri dapat digunakan untuk uji antibakteri [21].

### Penanaman Pada Medium MHA

Lidi kapas yang steril dicelupkan pada suspensi bakteri *S.aureus* dan *E.coli*, kemudian diperas dengan cara diputar bagian kapas ke sisi tabung agar cairan tidak menetes dari bagian kapas tersebut. lalu kapas tersebut di *squash* pada permukaan media MHA (*Mueller Hinton Agar*) secara merata sehingga seluruh permukaan tertutup rapat. Setelah suspensi bakteri meresap kedalam media, kemudian dibuat sumuran pada media tersebut menggunakan besi lobang sumur dengan diameter 6 mm, lalu dipipetkan ekstrak daun balangla (*Litsea cubeba* (Lour) Pers.) dengan konsentrasi berbeda yaitu dari 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% dan 100%, serta kontrol positif dan negatif. Lalu petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam.

### Teknik Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan analisis Uji *Kruskal Wallis Test* dengan program *Statistik Packed Social Anda Science* (SPSS 22) Apabila dalam analisi ragam memberikan hasil yang signifikan, maka dilanjutkan dengan Uji *Mann-Whitney Test*.

### Hasil dan Pembahasan

#### Hasil Uji Fitokimia

Berdasarkan hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak etanol daun balangla yaitu Alkaloid, Flavonoid, Fenolik, dan Steroid. Dokumentasi hasil pengujian ekstrak etanol daun balangla pada penelitian ini dapat dilihat pada lampiran 1.

Hasil uji fitokimia ekstrak etanol daun balangla (*Litsea cubeba* (Lour.) Pers.), pada penelitian ini dapat dilihat pada tabel 5.1 sebagai berikut:

Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia Dari Ekstrak Etanol Daun balangla (*Litsea cubeba* (Lour.) Pers.)

No	Jenis Senyawa Metabolit Sekunder	Hasil	Keterangan
1	Alkaloid	+	Menghasilkan warna merah kecoklatan
2	Flavonoid	+	Menghasilkan warna kuning jingga
3	Fenolik	+	Menghasilkan warna hitam pekat
4	Saponin	-	Tidak menghasilkan busa
5	Steroid	+	Menghasilkan warna hijau

Berdasarkan hasil uji, ekstrak daun balangla mengandung senyawa alkaloid. Alkaloid merupakan suatu golongan senyawa organik yang terbanyak ditemukan di alam, hampir seluruh alkaloid berasal dari tumbuh-tumbuhan dan tersebar luas dalam berbagai jenis tumbuhan tingkat tinggi. Menurut [5] fungsi senyawa alkaloid bagi tumbuhan adalah sebagai zat racun untuk melawan serangga atau hewan pemakan tanaman dan sebagai faktor pengatur tumbuh. Adanya kandungan alkaloid pada ekstrak daun balangla menunjukkan bahwa daun balangla berpotensi sebagai antibakteri sehingga efektif untuk menyembuhkan beberapa penyakit. Hal ini didukung oleh

penelitian [9] yang menyatakan bahwa senyawa alkaloid diisolasi dari *Litsea cubeba* ternyata aktif sebagai antibakteri.

Dari hasil pengujian, ekstrak daun balangla mengandung senyawa flavonoid. Senyawa flavonoid merupakan kelompok senyawa fenol yang mempunyai kecenderungan dapat mendenaturasi protein yang menyebabkan aktivitas metabolisme sel bakteri berhenti. Hal inilah menyebabkan senyawa ini mampu menghambat pertumbuhan bakteri.

Dari hasil pengujian, ekstrak daun balangla mengandung senyawa fenolik. Menurut [20] fenolik merupakan senyawa yang banyak ditemukan di dalam tumbuhan dan mudah larut dalam air. Fungsi senyawa fenol pada tumbuhan antara lain yaitu membantu penyerbukan, sebagai pertahanan terhadap serangan dan racun terhadap herbivora dan insektisida. Menurut [22] Senyawa fenol juga merupakan salah satu antibakteri yang bekerja dengan mengganggu fungsi membran sitoplasma.

Pada uji steroid ekstrak daun balangla mengandung senyawa steroid. Menurut [15], steroid adalah molekul yang larut dalam lemak. Fungsi dari steroid yaitu dapat merangsang proses pembungaan, dalam pengobatan dapat berguna sebagai antibiotik diantaranya anti jamur, bakteri dan virus. Mekanisme steroid sebagai antibakteri berhubungan dengan membran lipid dan sensitivitas terhadap komponen steroid yang menyebabkan lisis pada liposom.

### Uji Antibakteri

Hasil uji antibakteri pada ekstrak daun balangla dengan kelompok perlakuan 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, dan 100% terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan bakteri *Escherichia coli* disajikan pada Tabel 5.2 dan Tabel 5.3 berikut:

Tabel 2. Diameter Zona Hambat (mm) dari perlakuan Ekstrak Etanol Daun Balangla (*Litsea cubeba* (Lour.) Pers.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

Kelompok Uji	Rata-rata Zona Hambat (mm) <i>Staphylococcus aureus</i>	Kekuatan Antibakteri	Keterangan
Kontrol Positif	18.33±0.100 <sup>d</sup>	Kuat	≥ 10-20 mm
10%	9.58±0.361 <sup>b</sup>	Sedang	≥ 5-10 mm
20%	10.71±0.621 <sup>b</sup>	Kuat	≥ 10-20 mm
30%	11.36±0.419 <sup>b</sup>	Kuat	≥ 10-20 mm
40%	12.40±0.404 <sup>b</sup>	Kuat	≥ 10-20 mm
50%	12,71±0.707 <sup>b</sup>	Kuat	≥ 10-20 mm

60%	13.06±0.292 <sup>b</sup>	Kuat	≥ 10-20 mm
70%	13.63±0.275 <sup>b</sup>	Kuat	≥ 10-20 mm
80%	14.03±0.812 <sup>b</sup>	Kuat	≥ 10-20 mm
90%	13.80±0.694 <sup>b</sup>	Kuat	≥ 10-20 mm
100%	15.91±0.950 <sup>b</sup>	Kuat	≥ 10-20 mm
Kontrol Negatif	0 <sup>a</sup>	Lemah	≤ 5 mm

Keterangan:

- Nilai rata-rata diameter zona hambat dan standar deviasi merupakan rerata dari 3 ulangan
- Angka yang diikuti huruf kecil menunjukkan tidak nilai yang tidak berbeda nyata pada uji Mann-Whitney
- Kontrol Positif (+) Kloramfenikol 25% dan kontrol negatif (-) larutan DMSO

Tabel 2. menunjukkan diameter zona hambat bakteri *S.aureus* pada kelompok perlakuan kontrol negatif adalah 0, sedangkan pada kontrol positif adalah 18.33 mm dan pada kelompok perlakuan ekstrak daun balangla 10%, 20%, 30%,40%,50%, 60%, 70%, 80%, 90%, dan 100% masing-masing memiliki zona hambat sebesar 9.58 mm, 10.71 mm, 11.36 mm, 12.40 mm, 12.71 mm, 13.06 mm, 13.63 mm, 14.03 mm, 13.80 mm, dan 15.91 mm.

Tabel 3. Diameter Zona Hambat (mm) dari Perlakuan Ekstrak Etanol Daun Balangla (*Litsea cubeba* (Lour.) Pers.) terhadap Bakteri *Escherichia coli*

Kelompok Uji	Rata-rata Zona Hambat (mm) <i>Escherichia coli</i>	Kekuatan Antibakteri	Keterangan
Kontrol Positif	18.63±0.189 <sup>d</sup>	Kuat	≥ 10-20 mm
10%	9.63±0.321 <sup>b</sup>	Sedang	≥ 5-10 mm
20%	10.65±0.754 <sup>b</sup>	Kuat	≥ 10-20 mm
30%	11.07±0.404 <sup>b</sup>	Kuat	≥ 10-20 mm
40%	12.41±0.189 <sup>b</sup>	Kuat	≥ 10-20 mm
50%	13.62±0.112 <sup>b</sup>	Kuat	≥ 10-20 mm
60%	13.16±0.689 <sup>b</sup>	Kuat	≥ 10-20 mm
70%	14.00±0.377 <sup>b</sup>	Kuat	≥ 10-20 mm
80%	14.56±0.665 <sup>b</sup>	Kuat	≥ 10-20 mm
90%	15.08±0.320 <sup>b</sup>	Kuat	≥ 10-20 mm
100%	16.23±0.416 <sup>b</sup>	Kuat	≥ 10-20 mm
Kontrol Negatif	0 <sup>a</sup>	Lemah	≤ 5 mm

Keterangan:

- Nilai rata-rata diameter zona hambat dan standar deviasi merupakan rerata dari 3 ulangan
- Angka yang diikuti huruf kecil menunjukkan tidak nilai yang tidak berbeda nyata pada uji Mann-Whitney

Berdasarkan tabel 3 diameter zona hambat yang dihasilkan oleh ekstrak etanol daun balangla dengan metode sumuran terhadap bakteri *Escherichia coli* perlakuan kontrol negatif adalah 0. Sedangkan pada kontrol positif adalah 18.58 mm, dan pada kelompok perlakuan ekstrak etanol daun balangla 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, dan 100% % masing-masing memiliki zona hambat sebesar 9.63 mm, 10.65 mm, 11.07 mm, 12.41 mm, 13.62 mm, 13.16 mm, 14.00 mm, 14.56 mm, 15.08 mm, dan 16.23 mm. Dokumentasi hasil pengujian ekstrak etanol daun balangla pada penelitian ini dapat dilihat pada lampiran 2.

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, larutan DMSO (*Dimetilsulfoksida*) sebagai kontrol negatif tidak menunjukkan pengaruh pada pertumbuhan bakteri *S.aureus* dan bakteri *E.coli*. Selain itu, pelarut ini mampu melarutkan semua senyawa yang bersifat polar, nonpolar dan semipolar. Hal ini juga telah dibuktikan oleh [19], yang menyatakan bahwa hasil diameter penghambatan DMSO terhadap bakteri-bakteri ujinya adalah nol, sehingga pelarut ini merupakan pelarut ekstrak yang baik karena tidak memberikan pengaruh dalam aktivitas penghambatan bakteri. Kemudian kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah kloramfenikol 25%. Kontrol positif ini sebagai pembandingan terhadap aktivitas bakteri.

Ekstrak daun balangla memiliki daya antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *S.aureus* dan bakteri *E.coli*. Hal tersebut ditunjukkan oleh adanya zona bening atau zona hambat yang terbentuk disekitaran lubang sumuran yang tidak ditumbuhi bakteri. Diameter zona hambat yang dihasilkan pada penelitian ini menunjukkan bahwa pengukuran zona hambat masing-masing perlakuan pada bakteri *S.aureus* (Gram positif) dan bakteri *E.coli* (Gram negatif) diperoleh rata-rata zona hambat yang berbeda. Diameter zona hambat yang terendah pada bakteri *S.aureus* adalah pada konsentrasi 10% dengan zona hambat 9.58 mm dan tertinggi pada konsentrasi 100% dengan zona hambat 15.91 mm. Sedangkan pada bakteri *E.coli* diameter zona hambat terendah adalah pada konsentrasi 10% dengan diameter 9.63 mm dan zona hambat tertinggi pada konsentrasi 100% dengan diameter 16.23 mm.

Menurut [1] semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang diberikan maka zona hambat yang dihasilkan juga semakin besar. Tetapi pada penelitian ini terdapat penurunan diameter luas zona hambat pada beberapa konsentrasi yang lebih besar, seperti pada bakteri *S.aureus* saat konsentrasi 80% ke 90%. Hal serupa dialami juga oleh [7], yaitu diameter zona hambat tidak selalu naik sebanding dengan naiknya konsentrasi zat antibakteri, kemungkinan ini terjadi karena perbedaan kecepatan difusi senyawa antibakteri pada media agar. Faktor lain yang dapat mempengaruhi ukuran zona hambat menurut [21], antara lain adalah kekeruhan suspensi bakteri, waktu peresapan atau pengeringan ke dalam media dan tebalnya media agar.

Berdasarkan hasil penelitian, zona hambat yang diperoleh dari ekstrak etanol daun balangla terhadap bakteri *S.aureus* dan *E.coli* menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun balangla ini memiliki aktivitas antibakteri antara sedang dan kuat. Dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 4. Kriteria kekuatan daya antibakteri menurut [4] sebagai berikut.

Diameter Zona Hambat (mm)	Kategori
≤ 5 (mm)	Lemah
5-10 (mm)	Sedang
10-20 (mm)	Kuat
≥ 20 (mm)	Sangat Kuat

Zona hambat yang terbentuk pada bakteri *S.aureus* dan *E.coli* terhadap semua perlakuan ekstrak etanol daun balangla yang mengandung senyawa metabolit dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Hal ini didukung oleh penelitian [17], ekstrak akar dari *Litsea spathulata* dapat menghambat bakteri *E.coli* selain itu, penelitian dari [16], juga menyatakan bahwa *Litsea cubeba* memiliki aktivitas terhadap beberapa bakteri perusak makanan dan bakteri patogen.

Kemampuan ekstrak daun balangla dalam menghambat bakteri disebabkan karena kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada daun balangla seperti alkaloid, flavonoid, fenolik, dan steroid. Adanya senyawa alkaloid pada ekstrak daun balangla ini, mampu menghambat pertumbuhan kedua bakteri yang digunakan. Mekanisme penghambatan pertumbuhan bakteri oleh senyawa alkaloid yaitu dapat mengganggu terbentuknya komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga dapat menyebabkan bakteri menjadi lisis. Selain adanya kandungan alkaloid, ekstrak daun balangla memiliki potensi sebagai antibakteri karena mengandung senyawa flavonoid. Flavonoid memiliki kemampuan sebagai antioksidan yang melindungi tubuh dari radikal bebas sehingga memiliki potensi sebagai zat antibakteri yang baik.

Pada uji *Kruskal Wallis* nilai signifikan bermakna jika  $p < 0,05$ , pada penelitian ini hasil uji *Kruskal Wallis* pada bakteri *S.aureus* didapatkan nilai signifikan 0,000 yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan. Demikian juga pada perlakuan ekstrak daun balangla terhadap bakteri *E.coli* juga menunjukkan perbedaan signifikan dengan nilai signifikansi 0,000  $p < 0,05$  maka dapat dinyatakan berbeda signifikan antar kelompok perlakuan. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan nyata diameter zona hambat pada pemberian konsentrasi ekstrak terhadap bakteri pengujian

Dari hasil analisis statistik *Mann-Whitney* didapatkan hasil penelitian yang diperoleh pada bakteri *S.aureus* dan bakteri *E.coli* terhadap setiap perlakuan konsentrasi maka dapat disimpulkan bahwa Kontrol negatif (k-) dengan perlakuan ekstrak dari semua perlakuan memiliki nilai signifikan yaitu  $0.037 < 0.050$  dinyatakan memiliki pengaruh yang signifikan.

Dengan diketahuinya efektivitas dari ekstrak daun balangla sebagai antibakteri terhadap bakteri *S.aureus* dan *E.coli* diasumsikan bahwa daun balangla dapat dimanfaatkan sebagai salah satu alternatif obat tradisional sebagai obat anti-diare.

#### Penutup Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian tentang uji fitokimia dan antibakteri ekstrak etanol daun balangla terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa:

Senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak etanol daun balangla yaitu alkaloid, flavonoid, fenolik, dan steroid. Ekstrak daun balangla mempunyai daya antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan kategori antara sedang dan kuat. Pada bakteri *Staphylococcus aureus* memiliki kisaran rata-rata diameter hambatan 9,58 mm sampai dengan 15,9 mm. dan pada bakteri *Escherichia coli* memiliki kisaran rata-rata diameter zona hambatan 9,63 mm sampai dengan 16,32 pada konsentrasi dari 10% sampai 100%. Konsentrasi terbaik ekstrak daun balangla pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan bakteri *Escherichia coli* adalah 100% yang ditunjukkan dengan diameter zona bening sebesar 15.91 mm dan 16.23 mm.

#### Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan banyak terimakasih kepada pembimbing yang selalu memberikan masukan dan sarannya selama penelitian. Kepada kepala Laboratorium Jurusan Biologi atas fasilitas yang diberikan untuk melakukan penelitian ilmiah dan kepada teman-teman mahasiswa Biologi atas kebersamaan dan segala dukungannya.

#### Pustaka

- [1] Ajizah, A., 2004. Sensitivitas *Salmonella thypimurium* Terhadap Ekstrak Daun *Psidium guajava* L. *Jurnal Bioscientiae*. 1 (1): 31-38.
- [2] Baker, P.J., 1997. Seedling establishment and growth across forest type in an evergreendeciduous forest mosaic in western Thailand. *Nat. Hist. Bull. Siam Soc.* 4(5):17-41.
- [3] Books, F.G., Butel, J.S., dan Morse, S.A. 2001. *Mikrobiologi Kedokteran (Edisi Terjemahan)*. Selemba medika. Jakarta.
- [4] Davis, W.W., dan Stout, T.R. 1971. *Disc Plate Methods of Microbiological Antibiotic Assay*. *Microbiology* 22: 659-665.



- [5] Diansara, G. 2009. Uji Fitokimia, Uji Toksisitas Larva Udang (*Brine shrimp lethality test*) Dan Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Metabolit Sekunder Daun Jarak Cina (*Jatropha multifida* L.) Skripsi Sarjana Kimia Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Mulawarman. Samarinda.
- [6] Dwidjosaputro, D. 2005. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Djambatan. Jakarta.
- [7] Elifah, E. 2010. Uji Antibakteri Fraksi Aktif Ekstrak Metanol Daun Senggani (*Melastoma candidum*, D.Don) Terhadap *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis* Serta Profil Kromatografi Lapis Tipisnya. Skripsi FMIPA UNS: Surakarta.
- [8] Entjang, I. 2003. *Mikrobiologi & Parasitologi untuk Akademi Keperawatan dan Sekolah Tenaga Kesehatan yang Sederajat*. PT. Citra Aditya Bakti. Bandung.
- [9] Feng, T., Xu, Y., Cay, X.N., Du, Z.Z., Luo, X.D. 2009. Antimicrobially Active Isoquinoline Alkaloids from *Litsea cubeba*, *Planta med.*, 75: 76-79.
- [10] Gupte, S. 1990. *Mikrobiologi Dasar Edisi Ketiga*. Penerbit Binapura Aksara. Jakarta.
- [11] Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia (Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan)*. (diterjemahkan oleh Kosasih P. dan Iwang S.) ITB, Bandung.
- [12] Heryati, Y., N. Mindawati, A.S., Kosasih. 2009. Prospek Pengembangan Lemo (*Litsea cubeba* L. Persoon) Di Indonesia. *Jurnal Tekno Hutan tanaman. Pusat penelitian Hutan Tanaman*, 2(1):9-17.
- [13] Heyne, K. 1987. *Tumbuhan berguna Indonesia (Terjemahan)*. Buku I-IV. Badan Litbang Kehutanan, Departemen kehutanan RI. Jakarta.
- [14] Keng, H. 1978. *Orders dan Families of Malayans Seed Plants*. Singapore University Press. Singapore.
- [15] Lehninger, A.T. 1990. *Dasar-Dasar Biokimia*. Jilid 1 Erangga. Jakarta.
- [16] Mulia, L. 2000. Kajian Aktivitas Antimikroba Buah Andaliman (*Zanthoxylumacantopodium*) dan Antarasa (*Litsea cubeba*). Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor.
- [17] Munawar dan Elfita. 2007. Penelusuran Aktivitas Antibakteri Dari Kulit Akar Tumbuhan Medang Seluang (*Litsea spathulata*) terhadap Bakteri Uji *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae*. *Jurnal Biosfera*, Vol. 24(1):8-10.
- [18] Pelczar, M.J., dan Chan, E.C.S. 2005. *Dasar-Dasar Mikrobiologi jilid 1 (Edisi Terjemahan)*. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta.
- [19] Reapinam, E. 2007, Kajian Aktivitas Antimikroba Ekstrak Kulit Kayu Mesoyi (*Cryptocaria massoia*) Terhadap Bakteri Patogen dan Pembusuk Makanan. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- [20] Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Penerbit ITB. Bandung.
- [21] Soemarno. 2000. *Isolasi dan Identifikasi Bakteri Klinik. Akademik Analisis Kesehatan Yogyakarta*. Yogyakarta.
- [22] Volk, W. A. dan Wheeler, M.F. 1990. *Dasar Mikrobiologi. Edisi Kelima. Jilid 2. Erlangga. Jakarta*.
- [23] Wiart, C. 2006. Ethnopharmacology of medicinal plants: Asia and Pacific. Humana Press inc. p: 44-45.
- [24] Wijayakusuma, H. M. K. 2007. *Penyembuhan Dengan Mengkudu*. Penerbit Sarana Pustaka Alfiat. Jakarta.

