

JURNAL METAMORFOSA

Journal of Biological Sciences

eISSN: 2655-8122

<http://ojs.unud.ac.id/index.php/metamorfosa>

Potensi Ekstrak Daun Dewandaru (*Eugenia uniflora* L.) Sebagai Pengendali Bakteri *Bacillus cereus* ATCC 11778 Penyebab Diare

Potential Of Dewandaru Leaf Extract (*Eugenia uniflora* L.) As Bacterial Control Agent Of *Bacillus cereus* ATCC 11778 CAUSE Of Diarrhea

Putu Cindy Arista^{1*}, Retno Kawuri², I.B. Gede Darmayasa²

¹ Program Magister, Program studi Ilmu Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana Denpasar, Jalan Sudirman Denpasar

² Program studi Ilmu Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana Denpasar, Jalan Sudirman Denpasar

*Email: cindyarista99@yahoo.com

INTISARI

Eugenia uniflora L. merupakan tanaman obat tradisional untuk mengobati penyakit diare. Eksplorasi bahan alam yang mengandung senyawa antibakteri dalam mengatasi berbagai penyakit infeksi yang tidak menimbulkan efek resistensi yang berat seperti penggunaan antibiotika. Penelitian bertujuan mengetahui potensi ekstrak daun dewandaru sebagai pengendali bakteri *Bacillus cereus* ATCC 11778 penyebab diare dan mengetahui senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak daun dewandaru. Metode yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 7 perlakuan konsentrasi ekstrak daun dewandaru yaitu 1%, 2%, 3%, 4%, 5% (b/v), kontrol positif (*amoxicillin*), dan kontrol negatif (etanol). Penentuan daya hambat ekstrak daun dewandaru terhadap *B. cereus* ATCC 11778 ditunjukkan dengan adanya daerah bening disekitar kertas cakram menggunakan metode Kirby Bauer. Penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun dewandaru pada konsentrasi tertinggi (5%) mampu menghasilkan diameter zona hambat sebesar 7,15 mm terhadap *B. cereus* ATCC 11778. Hasil uji fitokimia menunjukkan ekstrak daun dewandaru mengandung senyawa saponin, tannin, terpenoid, dan flavonoid. Analisis GCMS terhadap fraksi aktif ekstrak daun dewandaru (Fraksi II) menghasilkan sepuluh senyawa yang bersifat antibakteri. Ekstrak etanol daun dewandaru mampu menghambat pertumbuhan *B. cereus* ATCC 11778 secara *in vitro*. Konsentrasi ekstrak daun dewandaru 1% merupakan konsentrasi minimal sebagai antibakteri *B. cereus* ATCC 11778. Terdapat 10 senyawa aktif sebagai antibakteri *B. cereus* ATCC 11778 yang terkandung dalam ekstrak daun dewandaru, diantaranya *Dodecanoic acid*, *Tridecanoic acid*, *Hexadecanoic acid*, *Octadecanoic acid*, *8-Nitro-11-dodecanolide*, *Oxiraneoctanoic acid*, *Oxiraneoctanoic acid*, *9-Octadecenoic acid*, *9-Octadecenoic acid*, dan *1.2-Benzenedicarboxylic acid*.

Kata kunci: Antibakteri, Zona hambat, Senyawa Aktif.

ABSTRACT

Eugenia uniflora L. is a medical plant that can be used as a traditional medicine for diarrhea. Exploration of antibacterial compounds from natural material can resolve various diseases that do not give effects of resistance such as the use of antibiotics. Research purposes are to know the potential of dewandaru leaf extract as an agent bacteria control of *Bacillus cereus* ATCC 11778 that causes diarrhea

and to determine the active compounds contained in dewandaru leaf extract. The method used was a Complete Randomized Design (CRD) with 7 treatments for the concentration of the dewandaru leaf extract of 1%, 2%, 3%, 4%, 5% (b/v), positive control (*amoxicillin*), and negative control (ethanol). Determination of inhibition of dewandaru leaf extract against *B. cereus* ATCC 11778 is characterized by the formation of the clear zone around paper discs using the *Kirby-Bauer* method. The results showed that dewandaru leaf extract at the highest concentration (5%) was able to produce inhibition zone diameter of 7.15 mm against *B. cereus* ATCC 11778. Phytochemical test results showed ethanol extract dewandaru leaf contain tannin, saponin, terpenoid, and flavonoid as active compounds. GCMS analysis of the active fraction of dewandaru leaf extract (Fraction II) produced ten antibacterial compounds. The conclusion of this study, ethanol extract of dewandaru leaf was able to inhibit the growth of *B. cereus* ATCC 11778 in vitro. Concentration dewandaru leaf extract 1% is a minimal concentration as an antibacterial against *B. cereus* ATCC 11778. GCMS analysis of dewandaru leaf extract consists of 10 antibacterial compounds such as *Dodecanoic acid*, *Tridecanoic acid*, *Hexadecanoic acid*, *Octadecanoic acid*, *8-Nitro-11-dodecanolide*, *Oxiraneoctanoic acid*, *Oxiraneoctanoic acid*, *9-Octadecenoic acid*, *9-Octadecenoic acid*, and *1,2-Benzenedicarboxylic acid*.

Keyword: Antibacterial, Inhibition zone, Active Compounds.

PENDAHULUAN

Penyakit diare didefinisikan sebagai buang air besar dengan feses tidak berbentuk (*unformed stools*) atau cair dengan frekuensi lebih dari 3 kali dalam 24 jam (Amin, 2015). Penyebab diare ada dua jenis, yaitu diare infeksi maupun non infeksi, penyebab diare terbanyak adalah diare infeksi yang salah satunya disebabkan oleh *Bacillus cereus* (Zein, 2004).

Penggunaan antibiotik merupakan salah satu upaya penanganan penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri. Antibiotik memiliki kontribusi yang signifikan dalam membatasi morbiditas dan mortalitas. Penggunaan antibiotik yang kurang tepat dapat menimbulkan terjadinya resistensi bakteri terhadap antibiotik yang digunakan (Desrini, 2015).

Eksplorasi senyawa antibakteri dari bahan alam dapat mengatasi berbagai penyakit infeksi yang tidak menimbulkan efek resistensi yang berat seperti penggunaan antibiotika. Salah satunya adalah pemanfaatan daun dewandaru (*E. uniflora* L.) sebagai obat diare. Penelitian dan pemanfaatan daun dewandaru dalam bidang kesehatan telah banyak dilakukan. Daun dewandaru digunakan sebagai antidiare, diuretik, antirematik, anti-febrile, antidiabetik, dan analgesik (Santos *et al.*, 2010; Siharis, 2017). Kandungan daun dewandaru terdiri dari antioksidan, flavonoid, tannins, fenol (*ellagic*

acid, *gallic acid* dan *rutin*), serta beberapa mineral (A, C, E, S, Ca, and Fe) (Costa *et al.*, 2009; Schumacher *et al.*, 2015). Menurut Wahyuddin *et al.* (2017) melaporkan ekstrak etanol daun dewandaru (*E. uniflora* L.) memiliki potensi sebagai antibakteri terhadap *Streptococcus pneumoniae* dan *Shigella dysenteriae*.

BAHAN DAN METODE

Jenis penelitian eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Bahan dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol daun dewandaru. Bahan untuk uji aktifitas antibakteri adalah bakteri *B. cereus* ATCC 11778, *Blood Agar Plate* dan *Mueller Hinton Agar*, *amoxicillin discs* 25 µg sebagai kontrol positif. Bahan untuk reidentifikasi bakteri *B. cereus* ATCC 11778 terdiri dari media *Sulfide Indole Motility* (SIM), H₂O₂ 3% untuk uji katalase, kristal violet, safranin. Untuk pengujian fitokimia digunakan HCl 2N untuk pemeriksaan Alkaloid dan Saponin, Asam Asetat Glasial + HCl pekat untuk steroid dan terpenoid, FeCl₃ 1%, HCl 2M untuk pemeriksaan tanin, Mg + HCl (E.Merck) untuk uji flavonoid. Bahan uji Kromatografi kolom untuk fase diam menggunakan Silika gel Gf₂₅₄ (E.Merck). Larutan sebagai fase gerak adalah heksan, etil asetat, etanol. Pengembang

kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan heksan, etil asetat.

Peralatan yang digunakan antara lain alat maserasi, kertas saring Whatman No.1, neraca analitik, pipet mikro, kertas cakram (*blank discs* Oxoid), jangka sorong, *Biological Safety Cabinet* (Biosafety BH 2000), Inkubator (Memert), *Vacuum Rotary Evaporator* (Buchi), *laminar air flow*, bejana pengembang, lampu UV _{254nm}, *Gas Chromatography Mass Spectrometry* (GCMS-QP2010S SHIMADZU).

Pembuatan ekstrak daun dewandaru (*Eugenia uniflora* L.)

Daun dewandaru yang dipilih dalam penelitian ini yaitu daun yang berwarna hijau tua yang terletak 1-5 dari pangkal tangkai daun tanaman. Daun dewandaru yang telah dipilih kemudian dibersihkan, dipotong kecil-kecil dan dikeringanginkan dan tidak terkena sinar matahari secara langsung. Potongan daun yang sudah kering, kemudian dihaluskan menggunakan *blender*. Daun yang sudah menjadi serbuk disaring dengan penyaring berukuran 0,2 Mesh (Maliana *et al.*, 2013). Selanjutnya, serbuk daun dewandaru (100 gram) dimaserasi dengan 1000 mL etanol selama 3 hari (\pm 72 jam) pada suhu 20-25°C. Filtrat diperoleh dengan cara menyaring dengan kertas saring *Whatman* No.1. Filtrat yang diperoleh diuapkan dengan *vacuum rotary evaporator* (Iwaki, Japan) suhu 40 °C, sehingga diperoleh ekstrak kasar.

Uji fitokimia

Uji alkaloid dengan HCl 2 N kemudian ditambahkan pereaksi Meyer, Wagner, Dragendorff, dan Bouchardat. Uji flavonoid dilakukan dengan penambahan HCl pekat dan 0,2 bubuk Mg. Uji saponin menggunakan ekstrak ditambahkan air yang dikocok kuat. Hasil positif ditandai dengan terbentuk busa stabil yang dapat bertahan selama 10 menit. Uji triterpenoid atau steroid menggunakan ekstrak ditambahkan pereaksi *Liebermann-Burchard*. Pengujian tanin dengan ekstrak ditambahkan larutan FeCl₃ 1% dan HCl 2 M (Marlida *et al.*, 2012; Maimulyanti, 2015; Najoan *et al.*, 2016; Sundu, *et al.*, 2018).

Pembuatan suspensi bakteri *Bacillus cereus* ATCC 11778

Strain murni *B. cereus* ATCC 11778 diinokulasikan pada media *Blood Agar Plate* (BAP) dengan metode gores kuadran, diinkubasi selama \pm 18-24 jam, suhu 37 °C. Koloni kemudian diambil dengan ose steril dan dimasukkan ke dalam tabung yang berisi larutan NaCl fisiologis 0,9% (5 mL). Suspensi *B. cereus* ATCC 11778 dibuat setara dengan standar kekeruhan *Mc Farland* 0,5%.

Prosedur identifikasi dan konfirmasi *Bacillus cereus* ATCC 11778

Identifikasi dan konfirmasi *B. cereus* ATCC 11778 dilakukan pengujian gram dilakukan dengan menggunakan teknik steril. Prosedur untuk uji katalase koloni bakteri diteteskan 1-2 tetes H₂O₂ 3%, diamati terbentuk atau tidaknya gelembung udara. Terbentuknya gelembung-gelembung gas menandakan hasil uji katalase positif (Cappuccino, 2013). Uji Motilitas dilakukan dengan menusukkan isolat bakteri *B. cereus* ATCC 11778 ke dalam media SIM pada tabung reaksi dengan jarum ose tusuk steril dan diinkubasi selama 24 jam, suhu 37°C (Yulvizar, 2013).

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun dewandaru terhadap bakteri *B. cereus* ATCC 11778

Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun dewandaru terhadap bakteri *B. cereus* ATCC 11778 dilakukan dengan metode *Kirby bauer*. Media MHA (10 mL) pada cawan Petri yang telah padat diinokulasikan dengan suspensi bakteri *B. cereus* ATCC 11778 dengan standar kekeruhan *Mc Farland* 0,5%. Masing – masing kertas cakram diinjeksikan sebanyak 20 μ L ekstrak daun dewandaru dengan konsentrasi 1%, 2%, 3%, 4%, 5% (b/v), kontrol negatif etanol 96% diinjeksikan sebanyak 20 μ L dan ditunggu hingga kertas cakram benar-benar kering selama \pm 30-60 menit, kontrol positif menggunakan *Amoxicillin discs* 25 μ g. Selanjutnya masing-masing kertas cakram ditempelkan pada media MHA dan sudah diinokulasikan dengan bakteri *B. cereus* ATCC 11778. Selanjutnya, diinkubasi selama \pm 18-24

jam pada suhu 37 °C. Pengujian *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dilakukan dengan menurunkan konsentrasi ekstrak hingga memperoleh konsentrasi terkecil yang mampu menimbulkan daya hambat terhadap bakteri uji.

Partisi dan identifikasi fraksi aktif

Ekstrak kental etanol daun dewandaru dipartisi dengan menggunakan etanol dan heksan. Pemisahan dan pemurnian terhadap ekstrak aktif senyawa antibakteri menggunakan teknik Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Kromatografi Kolom. Hasil fraksinasi diuji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Bacillus cereus* ATCC 11778. Fraksi yang memiliki daya hambat tertinggi dianalisis senyawa aktifnya menggunakan *Gas Chromatography Mass Spectrometry* (GCMS–QP2010S SHIMADZU).

Analisis Data

Data penelitian dianalisis secara kuantitatif dengan menghitung zona hambat yang terbentuk dari uji aktifitas antibakteri ekstrak daun dewandaru terhadap bakteri *B. cereus* ATCC 11778 menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA). Selanjutnya, dilakukan uji lanjutan menggunakan *Duncan Multiple Range Test* dengan taraf signifikansi 5%.

HASIL

Golongan Senyawa Ekstrak Etanol Daun Dewandaru Berdasarkan Hasil Uji fitokimia

Hasil uji fitokimia pada ekstrak etanol daun dewandaru (*E. uniflora* L.) menunjukkan hasil positif adanya kandungan senyawa saponin, tannin, terpenoid, alkaloid, dan flavanoid.

Identifikasi dan Konfirmasi *Bacillus cereus* ATCC 11778

Uji konfirmasi dilakukan dengan pengamatan secara morfologi koloni *B. cereus* ATCC 11778 pada media *Blood Agar Plate* (BAP) yang telah diinkubasi selama ± 18-24 jam, suhu 37 °C. Koloni berbentuk bulat dan memiliki ukuran 4 - 7µm dengan permukaan kasar, tidak berlendir, tepi koloni tidak rata, dan berwarna putih suram (Gambar 1).



Gambar 1. Konfirmasi *B. cereus* ATCC 11778 pada media *Blood Agar Plate*

Uji konfirmasi selanjutnya yaitu pewarnaan gram diamati secara mikroskopis menggunakan mikroskop dengan pembesaran 1000X bentuk sel dari *B. cereus* ATCC 11778 yaitu batang dengan dinding sel berwarna ungu yang menandakan organisme tersebut merupakan bakteri Gram-positif. Hasil uji katalase menunjukkan *B. cereus* ATCC 11778 termasuk ke dalam bakteri yang menghasilkan katalase (katalase positif). Uji motilitas pada media SIM menunjukkan tipe pertumbuhan yang terjadi sepanjang garis tusukan. *B. cereus* ATCC 11778 bersifat motil karena tumbuh secara difusi menjauhi garis tusukan.

Uji Aktivitas antibakteri ekstrak daun dewandaru dalam menghambat pertumbuhan *Bacillus cereus* ATCC 11778

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak kasar daun dewandaru dengan konsentrasi 1%, 2%, 3%, 4%, dan 5% (b/v) dengan kontrol positif yaitu *amoxicillin disc* 25 µg dan kontrol negatif yaitu etanol 96% terhadap *B. cereus* ATCC 11778 disajikan pada Tabel 1. Pengujian MIC dilakukan dengan menurunkan konsentrasi untuk mendapatkan konsentrasi minimal (Tabel 2).

Tabel 1. Hasil pengukuran daya hambat ekstrak daun dewandaru terhadap pertumbuhan *B. cereus* ATCC 11778

No	Konsentrasi Ekstrak	Rerata diameter zona hambat (mm)
1	Kontrol negatif	0,000 ± 0,000 ^a
2	1%	5,155 ± 0,041 ^b
3	2%	5,325 ± 0,064 ^c
4	3%	6,087 ± 0,047 ^d
5	4%	6,287 ± 0,047 ^e
6	5%	7,150 ± 0,040 ^f
7	Kontrol positif	13,000 ± 0,000 ^g

Tabel 2. Hasil MIC ekstrak daun dewandaru terhadap pertumbuhan *B. cereus* ATCC 11778

No	Konsentrasi Ekstrak	Rerata diameter zona hambat (mm)
1	Kontrol negatif	0,00 ± 0,00 ^a
	1%	5,21 ± 0,04 ^b
2	0,9%	0,00 ± 0,00 ^a
3	0,8%	0,00 ± 0,00 ^a
4	0,7%	0,00 ± 0,00 ^a
5	0,6%	0,00 ± 0,00 ^a
6	0,5%	0,00 ± 0,00 ^a
7	Kontrol positif	14,50 ± 0,57 ^c

Uji Antibakteri Hasil Pemisahan Ekstrak Fase Etanol dan Fase Heksan terhadap *Bacillus cereus* ATCC 11778

Ekstrak etanol daun dewandaru selanjutnya dipartisi menggunakan etanol dan heksan dengan teknik cair-cair. Uji daya hambat masing-masing fase diujikan pada *B. cereus* ATCC 11778 disajikan pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil pengukuran daya hambat ekstrak daun dewandaru fase etanol dan fase heksan terhadap pertumbuhan *B. cereus* ATCC 11778

Konsentrasi Ekstrak	Rerata diameter zona hambat (mm)	
	Fase etanol	Fase n-heksan
Kontrol negatif	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a
1%	5,15 ± 0,04 ^b	0,00 ± 0,00 ^a
2%	5,25 ± 0,04 ^c	0,00 ± 0,00 ^a
3%	5,40 ± 0,05 ^d	0,00 ± 0,00 ^a
4%	7,06 ± 0,07 ^e	5,11 ± 0,04 ^b
5%	8,11 ± 0,04 ^f	5,21 ± 0,04 ^c
Kontrol positif	13,17 ± 0,02 ^g	13,16 ± 0,02 ^d

Hasil Pemisahan Senyawa dengan Metode Kromatografi Kolom dan Kromatografi Lapis Tipis

Hasil kromatografi kolom pada ekstrak etanol daun dewandaru memperoleh 11 fraksi, profil warna dari masing-masing fraksi disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil kromatografi kolom

No Vial	Fraksi	Warna fraksi
1	F1	Kuning
2	F2	Hijau keabuan
3	F3	Kuning kecoklatan
4	F4	Kuning
5	F5	Kuning kehijauan
6	F6	Hijau tua
7	F7	Kuning
8	F8	Hijau kekuningan
9	F9	Hijau muda
10	F10	Hijau
11	F11	Hijau muda

Hasil analisis KLT dari ke-11 fraksi hasil kromatografi kolom disajikan pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil Kromatografi Lapis Tipis Fraksi Hasil Kromatografi Kolom

No Vial	Fraksi	Nilai Rf	Warna noda di bawah lampu UV ($\lambda = 366 \text{ nm}$)
1	F1	0,96	Merah
		0,85	Merah
2	F2	0,96	Merah
		0,88	Merah
3	F3	0,96	Merah
		0,88	Merah
4	F4	0,98	Merah
		0,19	Biru
5	F5	0,06	Merah
		0,19	Biru
6	F6	0,06	Merah
		0,19	Biru
7	F7	0,13	Merah
		0,06	Merah
8	F8	0,19	Biru
		0,05	Kuning
		0,06	Kuning

9	F9	0,99	Merah
		0,96	Merah
		0,13	Merah
		0,06	Merah
10	F10	0,05	Kuning
11	F11	0,05	Kuning

Berdasarkan profil hasil KLT yang sama ke-11 fraksi hasil kolom digabungkan menjadi satu dan menghasilkan lima fraksi (FI, FII, FIII, FIV, dan FV). Masing-masing diuji aktivitas antibakteri terhadap *B. cereus* ATCC 11778 yang disajikan pada Tabel 6.

Tabel 6. Diameter Zona Hambat Fraksi FI s/d FV terhadap *B. cereus* ATCC 11778

Perlakuan	Fraksi	Vial eluat	Rerata diameter zona hambat (mm)
Kontrol negatif	-	-	0,00 ± 0,00 ^a
P1	Fraksi I	1-3	0,00 ± 0,00 ^a
P2	Fraksi II	4-6	7,07 ± 0,02 ^b
P3	Fraksi III	7-8	0,00 ± 0,00 ^a
P4	Fraksi IV	9	6,16 ± 0,02 ^c
P5	Fraksi V	10-11	5,17 ± 0,02 ^d
Kontrol positif	-	-	13,17 ± 0,02 ^e

Zona hambat terbesar dihasilkan oleh fraksi II dan menunjukkan efektivitas yang paling baik dalam menghambat pertumbuhan *B. cereus* ATCC 11778 dibandingkan dengan fraksi lainnya.

Hasil Analisis Senyawa Aktif dengan Gas Chromatography Mass Spectrometry (GCMS)

Fraksi II digunakan untuk identifikasi senyawa aktif dengan menggunakan Gas Chromatography Mass Spectrometry (GCMS). Terdapat 10 senyawa aktif sebagai antibakteri *B. cereus* ATCC 11778 yang terkandung di dalam ekstrak daun dewandaru, yang disajikan pada Tabel 5.10.

Tabel 5.10
Hasil analisis GCMS terhadap senyawa-senyawa aktif sebagai antibakteri yang teridentifikasi dalam ekstrak daun dewandaru

Puncak	Waktu retensi (menit)	% area	Rumus molekul	Senyawa aktif berdasarkan database MS
Puncak 1	12.672	7,23	C ₁₃ H ₂₆ O ₂	Dodecanoic acid
Puncak 2	15.039	2,47	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	Tridecanoic acid
Puncak 3	17.183	18,35	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	Hexadecanoic acid
Puncak 4	19.135	5,31	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	Octadecanoic acid
Puncak 5	19.317	0,91	C ₁₂ H ₂₁ NO	8-Nitro-11-dodecanolide
Puncak 6	20.526	1,69	C ₁₉ H ₃₆ O ₃	Oxiraneoctanoic acid
Puncak 7	20.650	7,81	C ₁₉ H ₃₆ O ₃	Oxiraneoctanoic acid
Puncak 8	21.862	8,82	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	9-Octadecenoic acid
Puncak 9	22.105	2,22	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	9-Octadecenoic acid
Puncak 10	22.668	45,21	C ₂₄ H ₃₈ O ₄	1,2-Benzenedicarboxylic acid

PEMBAHASAN

Uji fitokimia dilakukan terhadap ekstrak etanol daun dewandaru (*E. uniflora* L.) menunjukkan hasil positif adanya kandungan senyawa saponin, tannin, terpenoid, alkaloid, dan flavanoid. Mekanisme saponin sebagai antibakteri yaitu dengan mengganggu tegangan permukaan dinding sel bakteri (Lamothe *et al.*, 2009). Menurut Akiyama *et al* (2001) dan Chung *et al* (2006) tanin bersifat antibakteri melalui mekanisme kerusakan membran sel bakteri dan pembentukan ikatan kompleks ion logam dari tanin yang berperan sebagai toksisitas tanin (Cowan, 1999). Hasil uji positif flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna orange di bawah sinar UV 366 nm. Menurut Kusuma *et al* (2011) senyawa flavonoid memiliki tiga mekanisme antibakteri, yaitu menghambat fungsi membran sel, menghambat metabolisme energi, dan menghambat sintesis asam nukleat. Adanya kandungan alkaloid dalam ekstrak etanol daun dewandaru berperan

dalam mengganggu integritas komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri (Cushnie dan Lamb, 2005). Menurut Cowan (1999) senyawa terpenoid merupakan salah satu senyawa yang bersifat antibakteri dengan cara merusak membran sel bakteri.

Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun dewandaru terhadap bakteri *Bacillus cereus* ATCC 11778 pada media MHA dengan variasi konsentrasi ekstrak 1%, 2%, 3%, 4%, dan 5% (b/v) menunjukkan hasil positif. Terbentuknya daerah bening di sekitar kertas cakram menandakan bahwa konsentrasi ekstrak kasar daun dewandaru yang diujikan berpotensi menghambat pertumbuhan *B. cereus* ATCC 11778. Nilai rerata diameter zona hambat pada kontrol positif (*Amoxicillin discs* 25 µg) menunjukkan rata-rata diameter daya hambat paling besar yaitu sebesar 13 mm, jika dibandingkan dengan konsentrasi ekstrak 5% (b/v) yang menghasilkan diameter zona hambat 7,150 mm menunjukkan daya hambat yang tergolong sedang. Kontrol negatif (etanol 96%) tidak menunjukkan aktivitas antibakteri.

Hasil penurunan konsentrasi ekstrak daun dewandaru di bawah 1 % yaitu 0,9%, 0,8%, 0,7%, 0,6%, 0,5% (b/v). menunjukkan tidak adanya daya hambat terhadap *B. cereus* ATCC 11778. Berdasarkan pengujian *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) ekstrak daun dewandaru dipeloreh nilai MIC yaitu 1%. Hal ini dikarenakan adanya penurunan laju difusi yang disebabkan oleh gradien konsentrasi yang mulai menurun antara kertas cakram dengan media sekitarnya (Munira *et al.*, 2018).

Pemisahan ekstrak fase etanol dan heksan dilakukan dengan metode partisi cair-cair. Ekstrak fase heksan tidak terdapat perbedaan nyata antara kontrol negatif dengan konsentrasi 1%, 2%, dan 3% (b/v) sedangkan pada konsentrasi 4% dan 5% (b/v) memiliki perbedaan yang nyata ($p < 0,05$). Berdasarkan uji daya hambat fase etanol dan heksan, senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak dewandaru merupakan senyawa antibakteri yang bersifat polar dan non polar, namun lebih bersifat polar karena lebih larut dalam pelarut etanol (Hidayah *et al.*, 2016).

Hasil kromatografi kolom diperoleh 11 fraksi. Selanjutnya, ke-11 fraksi hari kromatografi kolom dianalisis dengan kromatografi lapis tipis. Selanjutnya, penggabungan fraksi dilakukan berdasarkan profil kromatografi lapis tipis (jumlah spot, warna noda, dan nilai Rf) memperoleh lima fraksi yaitu fraksi I, II, III, IV, dan V.

Menurut Susanto *et al.* (2012) kriteria kekuatan daya antibakteri antara lain, diameter zona hambat ≤ 5 mm dikategorikan lemah, diameter zona hambat 6-10 mm dikategorikan sedang, diameter zona hambat 11-20 mm dikategorikan kuat, dan diameter zona hambat ≥ 21 mm termasuk kategori sangat kuat. Diameter zona hambat yang dihasilkan oleh ketiga fraksi (Fraksi II, IV, dan IV) tergolong sedang (Tabel 5.). Berdasarkan uji aktivitas antibakteri, zona hambat terbesar dihasilkan oleh fraksi II dan menunjukkan efektivitas yang paling baik dalam menghambat pertumbuhan *B. cereus* ATCC 11778 dengan rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan yaitu 7,07 mm dibandingkan dengan fraksi lainnya.

Fraksi II digunakan untuk analisis ketahap selanjutnya yaitu identifikasi senyawa aktif dengan menggunakan GCMS. Hasil analisis GCMS diperoleh sepuluh senyawa yang terkandung dalam fraksi II ekstrak daun dewandaru yang bersifat antibakteri. Kesepuluh senyawa tersebut diantaranya *Dodecanoic acid*, *Tridecanoic acid*, *Hexadecanoic acid*, *Octadecanoic acid*, *8-Nitro-11-dodecanolide*, *Oxiraneoctanoic acid*, *Oxiraneoctanoic acid*, *9-Octadecenoic acid*, *9-Octadecenoic acid*, dan *1.2-Benzenedicarboxylic acid*.

Dodecanoic acid merupakan asam lemak jenuh (asam laurat). Asam laurat mempunyai aktivitas biologi sebagai senyawa antimikroba (Nakatsuji *et al.*, 2009). Beberapa bakteri yang dapat dihambat oleh asam laurat antara lain *Streptococcus pneumonia*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Salmonella spp.* Meskipun mekanisme dalam membunuh bakteri belum diketahui dengan jelas tetapi pengamatan menggunakan mikroskop elektron menunjukkan bahwa mekanismenya menyerang dinding sel bakteri (Anzaku *et al.*, 2017). *Tridecanoic acid*

methyl ester merupakan golongan asam lemak jenuh dan dapat menghambat pertumbuhan *Bacillus subtilis* dan *Bacillus pumilus* (Agoramoorthy *et al.*, 2007). *Hexadecanoic acid methyl ester* (metil palmitat) adalah salah satu golongan asam lemak yang bersifat antibakteri. Target yang dituju yaitu dengan merusak struktur dinding dan membran sel yang bersinergis dengan berbagai senyawa aktif sehingga meningkatkan pengaruh aktivitas antibakteri. Metil palmitat bersifat antibakteri terhadap *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, dan *Pseudomonas aeruginosa* (Padmini *et al.*, 2010). *Octadecanoic acid* (asam stearat) termasuk dalam golongan asam lemak. Asghar *et al.* (2011) dan Setyaningsih *et al.* (2014) melaporkan asam stearat memiliki aktivitas antioksidan menghambat aktivitas radikal bebas DPPH dan antimikroba dalam menghambat pertumbuhan *Microsporum gypseum*. *8-Nitro-11-dodecanolide* merupakan golongan ester. Bakteri patogen yang dapat dihambat pertumbuhannya oleh senyawa *8-Nitro-11-dodecanolide* antara lain *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *E. coli*, *Proteus mirabilis*, *Streptococcus pyogenes*, dan *Klebsiella pneumonia* (Kadhim, 2016 dan Kadhim *et al.*, 2016). *Oxiraneoctanoic acid* termasuk ke dalam golongan asam lemak. *Oxiraneoctanoic acid* memiliki kemampuan sebagai antibakteri terhadap *B. subtilis*, *Sarcina lutea*, *Xanthomonas campestris*, *Proteus vulgaris*, dan *Pseudomonas denitrificans* (Moniruzzaman *et al.*, 2015; Nahar *et al.*, 2016). *9-Octadecanoic acid methyl ester* (metil elaidat) merupakan golongan asam lemak yang bersifat antimikroba (Asghar *et al.*, 2011). Metil elaidat bersifat antibakteri terhadap *S. aureus* dan *E. coli* (Karunia *et al.*, 2017). Senyawa aktif *1.2-Benzenedicarboxylic acid* merupakan golongan asam lemak. Mekanisme kerja asam lemak yaitu dengan menghentikan atau menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Menurut Karunia *et al.*, (2017) *1.2-Benzenedicarboxylic acid* memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* dan *E. coli*.

Berdasarkan hasil penelitian perlu dilakukan penelitian lanjutan secara *in vivo* mengenai potensi ekstrak etanol daun

dewandaru (*Eugenia Uniflora* L.) sebagai antibakteri *B. cereus* ATCC 11778 dan uji toksisitas untuk mengetahui dosis toksisitas ekstrak daun dewandaru terhadap bakteri *B. cereus* ATCC 11778, serta perlu dilakukan sosialisasi tentang manfaat tanaman dewandaru kepada masyarakat sebagai obat alternatif.

KESIMPULAN

Ekstrak etanol daun dewandaru mampu menghambat pertumbuhan *B. cereus* ATCC 11778 secara *in vitro*. Konsentrasi ekstrak daun dewandaru 1% merupakan konsentrasi minimal sebagai antibakteri *B. cereus* ATCC 11778 secara *in vitro*. Terdapat 10 senyawa aktif sebagai antibakteri *B. cereus* ATCC 11778 yang terkandung di dalam ekstrak daun dewandaru diantaranya *Dodecanoic acid*, *Tridecanoic acid*, *Hexadecanoic acid*, *Octadecanoic acid*, *8-Nitro-11-dodecanolide*, *Oxiraneoctanoic acid*, *Oxiraneoctanoic acid*, *9-Octadecanoic acid*, *9-Octadecanoic acid*, dan *1.2-Benzenedicarboxylic acid*.

DAFTAR PUSTAKA

- Agoramoorthy, G., M. Chandrasekaran, V. Venkatesalu, M.J. Hsu. 2007. Antibacterial And Antifungal Activities Of Fatty Acid Methyl Esters Of The Blind-Your-Eye Mangrove From India. *Brazilian Journal of Microbiology* 38:739-742.
- Amin, Lukman Z. 2015. Tatalaksana Diare Akut. *Jurnal CDK-230* 42 (7): 504-508.
- Anzaku, A. A., Josiah I. A., Adeola Juliet, and Ewenighi C. O. 2017. Antibacterial Activity of Lauric Acid on Some Selected Clinical Isolates. *Annals of Clinical and Laboratory Research* 5(2):170.
- Asghar, S. F., Habib-ur-Rehman, M. I. Choudahry and Atta-ur-Rahman. 2011. Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) analysis of petroleum ether extract (oil) and bio-assays of crude extract of *Iris germanica*. *International Journal of Genetics and Molecular Biology* 3(7): 95 -100.

- Costa, D.P., Suzana C. S., José C. S. and Pedro H. F. 2009. Seasonal Variability of Essential Oils of *Eugenia uniflora* Leaves. *J. Braz. Chem. Soc* 20(7): 1287-1293.
- Cappuccino, James G. 2013. *Manual Laboratorium Mikrobiologi, Ed. 8*. Jakarta. EGC Medical Publisher.
- Cowan. 1999. Plant Product as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews* 12(4): 564-582.
- Cushnie T.P.T. dan Lamb A.J. 2005. Antimicrobial activity of □Flavonoids. *Int J Antimicrob Agents* 26(5); 343 – 356.
- Desrini. 2015. Resistensi Antibiotik, Akankah Dapat Dikendalikan. *JKKI* 6(4): i-iii.
- Hidayah, N., A. K.Hisan, A.Solikin, Irawati,dan D. Mustikaningtyas. 2016. Uji Efektivitas Ekstrak Sargassum muticum Sebagai Alternatif Obat Bisul Akibat Aktivitas *Staphylococcus aureus*.*Journal of Creativity Students* 1 (1): 1-9.
- Kadhim, Jawad Mohanad. 2016. In Vitro antifungal potential of *Acinetobacter baumannii* and determination of its chemical composition by gas chromatography-mass spectrometry. *Der Pharma Chemica* 8(19): 657-665.
- Kadhim, J. M., Ghaidaa J. M., HaiderMashkooor H. 2016. Analysis of Bioactive Metabolites from *Candida albicans* Using (GCMS) and Evaluation of Antibacterial Activity. *International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* 8(7): 655-670.
- Karunia, S. D., Supartono dan Woro Sumarni. 2017. Analisis Sifat Antibakteri Ekstrak Biji Srikaya (*Annona squamosa* L) dengan Pelarut Organik. *Indonesian Journal of Chemical Science* 6 (1); 56-60.
- Kusuma, I. W., Harlinda K., Enos T. A., Farida A., Yu-Hong Min, Jin-Sook Kim, Yong-ung Kim. 2011. Biological Activity and Phytochemical Analysis of Three Indonesian Medicinal Plants, *Murraya koenigii*, *Syzygium polyanthum* and *Zingiber purpurea* *J Acupunct Meridian Stud* 4(1):75–79.
- Lamothe, R.G, Mitchell G, Gattuso M, Diarra MS, Malouin F, Bourab K. 2009. Plant Antimicrobial Agents and Their Effects on Plant and Human Pathogens. *Int J Mol Sci.* 10(8): 3400-3419.
- Maliana, Yayang, Siti Khotimah, dan Farah Diba. 2013. Aktivitas Antibakteri Kulit *Garcinia mangostana* Linn. Terhadap Pertumbuhan *Flavobacterium* dan *Enterobacter* Dari *Coptotermes curvignathus* Holmgren. *Jurnal Protobiont* 2(1): 7 – 11.
- Marlinda, Mira, Meiske S. Sangia, dan Audy D. Wuntua. 2012. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Biji Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.). *Jurnal Mipa Unsrat Online* 1(1): 24-28.
- Moniruzzaman, Shahinuzzaman, Ahsanul H., Rahima K. 2015. Gas chromatography mass spectrometry analysis and in vitro antibacterial activity of essential oil from *Trigonella foenum-graecum*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 5(12): 1033-1036.
- Munira, Rasidah, Eva M., Noni Z, Muhammad N. 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Ketapang (*Terminalia catappa* L.) Warna Hijau dan Warna Merah serta Kombinasinya. *Indonesian Journal of Pharmacy and Natural Product.* 1(02); 8-13.
- Nakatsuji, T., M. C. Kao, J. Y. Fang, C. C. Zouboulis, L. Zhang, R. L. Gallo, C. M. Huang. 2009. Antimicrobial Property of Lauric Acid Against *Propionibacterium Acnes*: Its Therapeutic Potential for Inflammatory Acne Vulgaris. *Journal of Investigative Dermatology* 129(10): 2480–2488.
- Najoan, Jelly Juliana, Max John R. R., dan Defny S. W.. 2016. Uji Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Tiga (*Allophylus cobbe* L.). *Pharmacon Jurnal Ilmiah Farmasi – UNSRAT* 5(1): 226:274.

- Nahar, N., Md. Shahedur R., Shaikh M.R. and M. M. 2016. GC-MS Analysis and Antibacterial Activity of *Trigonella foenumgraecum* Against Bacterial Pathogens. *Free Radicals and Antioxidants* 6(1): 109-114.
- Padmini, E., A. Valarmathi, M. Usha R. 2010. Comparative analysis of chemical composition and antibacterial activities of *Mentha spicata* and *Camellia sinensis*. *ASIAN J. EXP. BIOL. SCI.* 1(4): 772-781.
- Santos, A.K.L., José G. M. C., Irwin R. A. M., Isaac F. C., Karla K. A. S., Edinardo F. F. M., Henrique D. M. C. 2010. Antioxidant Activity of Five Brazilian Plants Used as Traditional Medicines and Food in Brazil. *Pharmacognosy Magazine* 6(24): 335-338.
- Schumacher, N. S. G., Talita C. C., Daniella de F., Virginia de C. C., Cinthia B. B. C., Marcelo A. P., Laura M. M. M., and Ricardo de L. Z. 2015. Identification and Antioxidant Activity of the Extracts of *Eugenia uniflora* Leaves. Characterization of the Anti-Inflammatory Properties of Aqueous Extract on Diabetes Expression in an Experimental Model of Spontaneous Type 1 Diabetes (NOD Mice). *Antioxidants* 4: 662-680.
- Siharis, Fatma Sari. 2017. Uji Aktivitas Analgesik Ekstrak Etanol Daun Dewandaru (*Eugenia uniflora* L.) dengan Induksi Termik Secara *In Vivo*. *Jurnal Scientia* 7(2): 83-88.
- Sundu, Reksi., Sapri, dan Henny Nurhasnawati. 2018. Uji Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Umbi Paku Atai Merah (*Angiopteris ferox* COPEL). *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina* 3(1): 97-105.
- Wahyuddin, M., Sесilia R. Pakadang, Aprilyani Aprilyani. 2017. Uji Aktivitas Anti Bakteri Ekstrak Etanol Daun Dewandaru (*Eugenia uniflora* L) terhadap *Streptococcus pneumoniae* dan *Shigella dysenteriae*. *JF FIK UINAM* 5(3): 199: 205.
- Yulvizar, Cut. 2013. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Probiotik pada *Rastrelliger* sp. *Biospecies* 6(2): 1-7.
- Zein, Umar. 2004. Diare akut infeksius pada dewasa. *e-USU Repository Universitas Sumatera Utara*. Hal. 1-8.