

UJI AKTIVITAS EKSTRAK ANDALIMAN DENGAN PELARUT BERBEDA TERHADAP ANTIBAKTERI *Bacillus subtilis* DAN *Escherichia coli*

Jumagar Simanjuntak, N Ira Sari*, Tjipto Leksono

Jurusan Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau

*Korespondensi: n.ira@lecturer.unri.ac.id

Abstrak

Andaliman merupakan tanaman yang pada umumnya tumbuh liar di daerah perbukitan yang bersuhu rendah. Andaliman bekerja sebagai antibakteri melalui penghambatan fungsi membran sel. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antibakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli* dari ekstrak andaliman, mengetahui komponen bioaktif dari ekstrak andaliman pada pelarut zona terluas, serta mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ekstrak andaliman terhadap bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli*. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksploratif. Pada uji aktivitas antibakteri ekstraksi buah andaliman menggunakan pelarut yang berbeda (etil asetat, hexana, air, dan metanol) dan data hasilnya dianalisa secara deskriptif meliputi; identifikasi komponen bioaktif yang terkandung pada ekstrak buah andaliman. Parameter yang diuji dalam penelitian ini adalah uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram, dan komponen bioaktif. Ekstrak andaliman pelarut metanol merupakan zona hambat paling besar pada uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli*. Senyawa fitokimia ekstrak andaliman dengan pelarut metanol mengandung alkaloid, flavonoid, steroid/terpenoid, saponin, dan fenol. Hasil pengujian KHM pada bakteri *Bacillus subtilis* adalah 1,56% dan pada bakteri *Escherichia coli* adalah 3,12%. Hasil pengujian KBM pada bakteri *Bacillus subtilis* 12,5% dan pada bakteri *Escherichia coli* adalah 50%.

Kata kunci: andaliman; antibakteri; fitokimia; KHM; KBM

ACTIVITY TEST OF ANDALIMAN EXTRACT WITH DIFFERENT SOLVENT TO ANTIBACTERIAL *Bacillus subtilis* AND *Escherichia coli*

Abstract

Andaliman is a plant that generally grows wild in hilly areas with low temperatures. Andaliman acts as an antibacterial through inhibition of cell membrane function. The purpose of this study was to determine the antibacterial activity of *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli* from andaliman extract, determine the bioactive components of andaliman extract in the widest zone solvent, and determine the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and the Minimum Bactericidal Concentration (MBC) of andaliman extract against *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli* bacteria. The method used in this study is exploratory. In the antibacterial activity test of andaliman fruit extraction using different solvents (ethyl acetate, hexane, water, and methanol) and the results were analyzed descriptively include; identification of bioactive components contained in andaliman fruit extract. The parameters tested in this study were antibacterial activity test using disc diffusion method, and bioactive components. Andaliman extract methanol solvent is the largest inhibition zone in the test of antibacterial activity against bacteria *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli*. Phytochemical compounds of andaliman extract with methanol solvent contain alkaloids, flavonoids, steroids/terpenoids, saponins, and phenols. MIC test results on *Bacillus subtilis* bacteria is 1.56% and the *Escherichia coli* bacteria is 3.12%. MBC test results on *Bacillus subtilis* bacteria 12.5% and on *Escherichia coli* bacteria is 50%.

Keywords: andaliman; antibacterial; phytochemical; MIC; MBC

PENDAHULUAN

Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC) salah satu jenis rempah yang khas pada daerah tertentu di Sumatra Utara. Andaliman merupakan salah satu bumbu masakan yang khas digunakan dalam masakan suku Batak Toba yang pada umumnya tumbuh liar di daerah perbukitan yang bersuhu rendah. Bagian dari andaliman yang dimanfaatkan adalah buahnya dan jika dimakan menimbulkan efek yang khas (Siregar 2005). Andaliman memiliki beberapa aktivitas biologis seperti larvasida, anti inflamasi, analgesik, antimikroba, antioksidan dan antijamur (Negi *et al* 2011).

Beberapa penyakit yang termasuk penyakit terbanyak diderita masyarakat Indonesia diantaranya diare, infeksi saluran pernapasan akut dan pneumonia. Bakteri *Escherichia coli* yang terdapat pada makanan dan minuman yang masuk ke dalam tubuh manusia dapat menyebabkan gejala seperti diare, mual, muntah (Sitanggang 2019). Bakteri *Bacillus subtilis* juga dapat menyebabkan meningitis, endokarditis, infeksi mata, bakteremia dan septikemia (Brawijasari 2013).

Hasil pengujian aktivitas antimikroba pada penelitian (Siswadi 2002 *dalam* Asbur 2018), menunjukkan bahwa ekstrak buah andaliman bersifat bakterisidal terhadap bakteri *Bacillus stearothermophilus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio cholera*, dan *Salmonella thypimurium*. Beberapa penelitian telah menyatakan bahwa kandungan terpenoid andaliman menghambat aktivitas bakteri Gram positif dan negatif. Aktivitas antibakteri dari minyak atsiri ekstrak andaliman serta komponen aktif penyusunnya dapat dimanfaatkan sebagai bahan obat-obatan dan pengawet makanan. Minyak atsiri memiliki sifat antibakteri dan antimikroba (Djiuardi dan Nugraha 2017).

Andaliman bekerja sebagai antibakteri melalui penghambatan fungsi membran sel. Antibakteri dibedakan menjadi dua yaitu bakteriostatik yang menekan pertumbuhan bakteri dan bakterisidal yang dapat membunuh bakteri (Safitri 2016). Penghambatan pembentukan senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler pada membran sel dan komponen terlarut menyebabkan kerusakan membran yang diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler (Shasti 2017).

Berdasarkan penelitian tersebut diketahui bahwa andaliman berpotensi sebagai antibakteri. Penelitian ini perlu dilakukan uji antibakteri ekstrak andaliman dengan pelarut yang berbeda terhadap bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli*, kemudian mengetahui komponen senyawa fitokimia pada ekstrak andaliman. Kemudian potensi ekstrak andaliman sebagai senyawa antibakteri perlu dilakukan penelitian tentang uji penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM).

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan utama yang digunakan pada penelitian ini adalah buah andaliman yang diperoleh dari Sumatera Utara berwarna hijau tua dalam keadaan segar. Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli*. Kemudian bahan-bahan kimia yang digunakan yaitu Nutrient Agar (NA), NaCl fisiologis

0,9%, Dimetil sulfoksida (DMSO), Mueller Hinton Agar (MHA), Brain-heart Infusion Broth (BHIB), akuades, etil asetat, methanol, n-heksana, kloroform, H₂SO₄, HCL, FeCl₃, Wayer, serbuk Mg, etanol, amil alcohol, pereaksi Dragendorf, Meyer.

Alat yang digunakan pada pengujian ini adalah *autoklaf*, cawan petri, tabung reaksi, *inkubator*, *erlemeyer*, pisau, kertas label, masker, sarung tangan karet, kamera, *oven*, *hotplate*, jarum ose, gelas ukur, pipet mikro, spatula, pinset, *Bunsen*, pisau, blender, bunsen, korek api, timbangan biasa, timbangan analitik, corong, *Rotary Evaporator*, kertas cakram, dan jangka sorong.

Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksploratif. Pengujian aktivitas antibakteri ekstraksi buah andaliman dengan pelarut yang berbeda dan data hasilnya dianalisa secara deskriptif meliputi; identifikasi komponen bioaktif yang terkandung pada ekstrak buah andaliman, serta pada penentuan nilai KHM dan KBM. Parameter yang diuji dalam penelitian ini adalah uji aktivitas antibakteri ekstrak buah andaliman terhadap bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli*, komponen bioaktif, kemudian penentuan nilai KHM dan KBM.

Prosedur penelitian ini terdiri dari tahap preparasi sampel, ekstraksi sampel, pembuatan media dan sterilisasi alat, peremajaan biakan bakteri dan suspensi bakteri, uji aktivitas antibakteri, uji fitokimia, uji KHM, dan KBM. Proses preparasi sampel dilakukan dengan memilih buah andaliman yang sudah matang berwarna hijau tua. Buah andaliman ditimbang sebanyak 5 kg kemudian dipisahkan antara buah dan rantingnya lalu dicuci dan dikeringkan dalam oven pada suhu 50°C selama 24 jam. Setelah itu buah andaliman dihaluskan menggunakan blender, kemudian diayak dengan ukuran 60 mesh sehingga didapatkan serbuk buah andaliman. Menurut (Purseglove 1981 *dalam* Maulida 2015) besar ukuran bahan yang dipakai untuk keperluan ekstraksi adalah 50 mesh dan bahan terhalus adalah ukuran 60 mesh.

Ekstraksi dilakukan dengan menimbang sebanyak 100 gram serbuk buah andaliman dimasukkan ke dalam 4 buah wadah dan direndam (dimaserasi) pada suhu ruang dengan pelarut masing-masing (air, metanol, etilasetat, n-heksan) sebanyak 1000 mL (1:10) diinkubasi selama 48 jam dan dilakukan beberapa kali pengadukan. Ekstrak disaring untuk memisahkan ampas dan filtratnya. Selanjutnya filtrat dievaporasi dengan menggunakan alat *evaporator* pada suhu 40°C sehingga didapatkan ekstrak yang kental. Ekstrak kental yang diperoleh ditimbang dan disimpan di dalam desikator sebelum digunakan untuk uji selanjutnya (Selawa *et al* 2013 yang dimodifikasi).

Peremajaan bakteri yaitu dengan cara diambil 1 jarum ose digoreskan secara zig zag pada media NA miring dengan mendekatkan pada nyala api saat menggoreskan jarum ose. Ditutup kembali tabung reaksi dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C didalam inkubator. Bakteri uji dari media NA tersebut diambil biakan koloni bakteri dengan jarum ose steril dan disuspensikan ke dalam tabung yang berisi larutan NaCl fisiologis 0,9%. Kemudian homogenkan maka akan tampak kekeruhan pada media yang

telah disuspensikan. Lalu bandingkan dengan larutan standar 0,5 McFarland sebanding dengan jumlah koloni sel sekitar $1,5 \times 10^8$ CFU/mL.

Menurut Nurhayati (2007). Pengujian aktivitas antibakteri menentukan diameter zona terluas yang terbentuk menggunakan metode difusi cakram dengan konsentrasi 100, 75, 50, 25%. Konsentrasi 100% diperoleh dengan cara menambahkan 2 g ekstrak andaliman dan ditambahkan 2 mL DMSO, dari konsentrasi 100% tersebut dibuat konsentrasi ekstrak 75%, 50% dan 25%. Setelah itu kertas cakram direndam pada larutan ekstrak dengan berbagai konsentrasi selama lebih kurang satu jam sampai larutan ekstrak terdifusi kedalam kertas cakram. Sebanyak 10 mL media MHA dituangkan ke dalam cawan petri steril lalu dibiarkan sampai memadat. Lidi kapas steril dicelupkan suspensi biakan dengan cara mengusapkan perlahan-lahan pada permukaan media secara merata, kemudian dibiarkan mengering selama beberapa menit. Kertas cakram yang telah mengandung ekstrak andaliman dengan konsentrasi yang berbeda diletakkan pada permukaan media uji dengan menggunakan pinset steril. Selanjutnya dilakukan inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah masa inkubasi, diameter zona hambat yang terdapat pada kertas cakram diukur dengan menggunakan jangka sorong (Muzafri 2016). Pada pengujian fitokimia berdasarkan (Harbone 1996). Kemudian pengujian KHM dan KBM berdasarkan (Fitriana 2020).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rendemen

Rendemen dari ekstrak andaliman perlu diketahui untuk mengetahui banyak ekstrak yang dapat diikat oleh setiap pelarut. Budiyanto (2015) menyatakan bahwa semakin tinggi rendemen ekstrak maka semakin tinggi kandungan zat yang tertarik ada pada suatu bahan baku. Hasil dari rendemen ekstrak kental andaliman dengan pelarut (etil asetat, heksana, air, dan metanol) didapatkan setelah proses evaporasi. Proses evaporasi dihentikan pada saat semua pelarut sudah menguap yang ditandai dengan pelarut tidak menetes lagi (Permata 2015).

Buah andaliman yang telah kering berwarna coklat kehitaman dan mengalami perubahan berat menjadi 1,09 kg. Setelah dilakukan maserasi selama 2 hari dilakukan penyaringan. Hasil yang didapatkan pada penyaringan tersebut adalah pelarut methanol, heksana, dan etil asetat sebanyak 750 mL dan pelarut air 800 mL. Kemudian dilakukan evaporasi untuk mendapatkan ekstrak kental. Rendemen yang didapatkan pada proses tersebut yakni etil asetat 14,4%, n-heksana 12,6%, metanol 18,2%, dan air 20,3%. Hasil ekstraksi kental yang dihasilkan dari pelarut berbeda (etil asetat, heksana, air, dan metanol), pelarut air merupakan pelarut polar yang kandungannya lebih banyak daripada pelarut lainnya. Hal ini dapat dilihat bahwa kandungan pelarut yang bersifat polar dalam *Zanthoxylum acanthopodium* DC lebih banyak dihasilkan dari pada senyawa semipolar dan nonpolar.

Aktivitas antibakteri

Aktivitas ekstrak andaliman dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli* dapat dilihat pada Tabel 1 dan Tabel 2. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa perbedaan konsentrasi ekstrak andaliman dan jenis pelarut yang digunakan mempengaruhi zona hambat yang terbentuk terhadap bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli*.

Table 1. Average inhibition zone diameter of andaliman extract against the growth of *Bacillus subtilis* bacteria

Solvent	Average $\pm$ SD			
	100%	75%	50%	25%
Ethyl acetate	12.77 $\pm$ 0.24	11.17 $\pm$ 0.65	10.57 $\pm$ 0.08	9.98 $\pm$ 0.46
N-hexane	12.12 $\pm$ 0.35	11.15 $\pm$ 0.18	10.50 $\pm$ 0.66	9.97 $\pm$ 0.73
Methanol	15.75 $\pm$ 0.87	14.18 $\pm$ 0.43	13.23 $\pm$ 1.01	11.97 $\pm$ 0.61
water	15.07 $\pm$ 1.06	13.80 $\pm$ 1.04	12.95 $\pm$ 0.85	11.83 $\pm$ 0.51

Notes: SD = Standard Deviation

Tabel 1, menunjukkan hasil pengukuran rata-rata zona hambat ekstrak andaliman dengan pelarut metanol konsentrasi 100, 75, 50, 25% berturut-turut yaitu 15,75 $\pm$ 0,87 mm; 14,18 $\pm$ 0,43 mm; 13,23 $\pm$ 1,01 mm; 11,97 $\pm$ 0,61 mm merupakan zona hambat paling besar. Besar zona hambat yang terbentuk pada uji bakteri *Bacillus subtilis* dikategorikan kuat berdasarkan klasifikasi daya hambat/diameter zona hambat (Yuningsih 2007). Sementara pengukuran rata-rata zona hambat ekstrak andaliman dengan pelarut heksana konsentrasi 100, 75, 50, 25% berturut-turut yaitu 12,12 $\pm$ 0,35 mm; 11,15 $\pm$ 0,18 mm; 10,50 $\pm$ 0,66 mm; 9,97 $\pm$ 0,73 mm menunjukkan zona hambat paling kecil. Hal tersebut disebabkan oleh kemampuan dari masing-masing pelarut yang berbeda dalam mengikat senyawa-senyawa aktif yang terdapat pada andaliman. Dari Tabel 1 tersebut dapat dilihat bahwa ekstrak andaliman dengan pelarut metanol berpotensi sebagai antibakteri ditandai dengan zona hambat yang bewarna bening terbentuk di sekitaran kertas cakram. Area atau zona bening di sekitar kertas cakram diamati untuk menunjukkan ada tidaknya pertumbuhan mikroba (Nurhayati *et al* 2020).

Table 2. Average inhibition zone diameter of andaliman extract against the growth of *Escherichia coli* bacteria

Solvent	Average $\pm$ SD			
	100%	75%	50%	25%
Ethyl acetate	13.05 $\pm$ 0.31	12.38 $\pm$ 0.51	11.43 $\pm$ 0.33	10.67 $\pm$ 0.15
N-hexane	12.08 $\pm$ 0.63	10.90 $\pm$ 0.69	10.03 $\pm$ 0.71	8.93 $\pm$ 0.32
Methanol	15.48 $\pm$ 0.28	13.80 $\pm$ 1.06	12.30 $\pm$ 1.10	11.33 $\pm$ 0.64
water	13.32 $\pm$ 0.85	12.35 $\pm$ 1.13	11.23 $\pm$ 0.75	9.77 $\pm$ 0.46

Notes: SD = Standard Deviation

Tabel 2 menunjukkan hasil pengukuran rata-rata zona hambat ekstrak andaliman dengan pelarut metanol konsentrasi 100, 75, 50, 25% berturut-turut yaitu $15,48 \pm 0,28$ mm; $13,80 \pm 1,06$ mm; $12,30 \pm 1,10$ mm; $11,33 \pm 0,64$ mm merupakan zona hambat paling besar. Besar zona hambat yang terbentuk pada uji bakteri *Escherichia coli* dikategorikan kuat berdasarkan klasifikasi daya hambat/diameter zona hambat (Yuningsih 2007). Sementara pada pelarut heksana dengan konsentrasi 100, 75, 50, 25% berturut-turut yaitu $12,08 \pm 0,63$ mm; $10,90 \pm 0,69$ mm; $10,03 \pm 0,71$ mm; $8,93 \pm 0,32$ mm menunjukkan zona hambat paling kecil.

Heksana merupakan pelarut yang paling rendah daya hambat terhadap aktivitas *Escherichia coli*. Hal ini disebabkan karena heksana merupakan senyawa yang bersifat nonpolar dan tidak dapat menyerap flavonoid, saponin dan tanin yang menjadi senyawa aktif sebagai antimikroba yang terdapat pada andaliman (Muzafrî 2016). Hal tersebut disebabkan oleh kemampuan dari masing-masing pelarut yang berbeda dalam mengikat senyawa-senyawa aktif yang terdapat pada andaliman. Pelarut yang digunakan pada uji aktivitas andaliman terhadap bakteri *Escherichia coli* menunjukkan ekstrak andaliman menggunakan pelarut polar (metanol) dapat menarik dan mengikat senyawa-senyawa aktif yang terdapat pada andaliman lebih baik daripada pelarut semi polar (etil asetat) dan non polar (n-heksana).

Bakteri *Escherichia coli* yang merupakan bakteri Gram negatif. Bakteri tersebut memiliki sistem membran luar berupa bilayer yang terdiri dari fosfolipid (lapisan dalam) dan lipopolisakarida (lapisan luar) yang bersifat nonpolar. Hal ini yang menyebabkan senyawa antibakteri lebih sulit untuk masuk ke dalam sel sehingga aktivitas antibakterinya lebih lemah dibandingkan dengan bakteri Gram positif (Dewi 2010).

Menurut Yuningsih (2007) untuk menilai aktivitas suatu zat antibakteri dapat diklasifikasikan berdasarkan terbentuknya diameter zona hambat. Daya hambat yang tergolong sangat kuat memiliki ukuran diameter >20 mm. Daya hambat yang tergolong kuat jika memiliki ukuran diameter yang terbentuk 10-20 mm. Apabila memiliki ukuran diameter 5-10 mm maka digolongkan kedalam kategori sedang, dan aktivitas daya hambat yang dikategorikan lemah apabila memiliki ukuran dengan diameter <5 mm

Kandungan senyawa fitokimia

Pengujian fitokimia bertujuan untuk mengetahui senyawa bioaktif yang terkandung di dalam ekstrak andaliman. Pengujian tersebut dilakukan dengan melihat pelarut zona terluas dari uji aktivitas ekstrak andaliman dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli*. Kandungan senyawa fitokimia ekstrak andaliman pelarut metanol dapat dilihat pada Tabel 3.

Alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Mekanisme alkaloid sebagai antibakteri adalah dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Darsana 2012). Hasil uji fitokimia yang dilakukan pada ekstrak kental andaliman dengan menggunakan pelarut metanol ditemukan adanya senyawa

alkaloid. Pada pengujian fitokimia yang dilakukan terhadap ekstrak kental andaliman dengan menggunakan pelarut metanol senyawa alkaloid merupakan senyawa positif kandungan fitokimia yang paling tinggi dibuktikan dengan endapan putih dan coklat yang cukup banyak.

Table 3. Phytochemical test results on andaliman extract methanol solvent

Compound	Types of solvents		Color standard
	Methanol	Reagent	
Alkaloid	+	Mayer, Dragendroff	White precipitate, Brown precipitate
Flavonoid	+	Sianidin test	Yellow/orange solution
Steroid/ Terpenoid	+	Liberman- Burchard	Blackish blue/ green and purple
Saponin	+	H ₂ O	Formed foam
Fenol	+	FeCl ₃ 1%	Blackish green/blue solution

Notes: (+) Detected

Pada tumbuhan, flavonoid berfungsi pada proses fotosintesis, anti mikroba, anti virus (Putra dan Sudimartini 2016). Hasil positif senyawa flavonoid terdapat pada ekstrak kental andaliman dengan menggunakan pelarut metanol. Pengujian tersebut ditandai dengan adanya perubahan warna menjadi warna jingga. Jika dalam suatu ekstrak tumbuhan terdapat senyawa flavonoid akan terbentuk garam flavilium saat penambahan Mg dan HCl yang berwarna merah atau jingga (Setyowati *et al* 2014).

Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri adalah menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar (Nuria *et al* 2009). Rusaknya membran sel tersebut menyebabkan terganggunya kelangsungan hidup bakteri. Hasil uji saponin yang dilakukan pada ekstrak kental andaliman dengan menggunakan pelarut metanol adalah positif. Pengujian tersebut ditandai dengan terbentuknya buih yang stabil. Menurut Suharto *et al* (2012) ekstrak saponin akan lebih banyak dihasilkan jika diekstraksi menggunakan metanol karena saponin bersifat polar sehingga akan lebih mudah larut daripada pelarut lain.

Steroid adalah golongan senyawa triterpenoid (Diachanty *et al* 2017). Hasil yang ditunjukkan pada uji steroid/ triterpenoid pada ekstrak kental andaliman dengan menggunakan pelarut methanol adalah positif. Hal tersebut dilihat pada perubahan warna yang terbentuk ketika ditambahkan asam asetat (*acetic acid*) dan asam sulfat (H₂SO₄) pekat berubah menjadi warna biru gelap.

Mekanisme fenol sebagai antibakteri dapat merusak dan menembus dinding protein sel bakteri. Mekanisme antibakteri senyawa fenol dalam membunuh mikroorganisme yaitu dengan mendenaturasi protein sel (Bontjura 2015). Berdasarkan hasil uji fenol dari ekstrak ekstrak kental andaliman dengan menggunakan pelarut methanol adalah positif mengandung senyawa fenol. Hal tersebut ditandai dengan adanya perubahan warna menjadi hijau kehitaman.

KHM dan KBM

Penentuan nilai KHM dan KBM dilakukan setelah didapatkan hasil uji aktivitas ekstrak andaliman dengan pelarut zona terluas terhadap bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli*. Ekstrak andaliman dengan pelarut metanol merupakan ekstrak zona hambat paling besar. Pada uji fitokimia membuktikan bahwa ekstrak andaliman dengan pelarut metanol dapat mengikat seluruh senyawa-senyawa aktif yang berperan sebagai antibakteri.

Metode dilusi cair adalah metode yang digunakan untuk mengukur KHM sementara metode dilusi padat digunakan untuk menentukan KBM (Fitriana 2020). Penentuan nilai KHM yaitu dengan melihat konsentrasi terendah pada senyawa antibakteri yang ditandai dengan warna tampak jernih pada konsentrasi pengujian. Hasil uji KHM terhadap bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli* dapat dilihat pada Tabel 4.

Table 4. Test results of MIC andaliman extract methanol solvent against bacteria *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli*

Extract concentration	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Escherichia coli</i>
100%	+	+
50%	+	+
25%	+	+
12.5%	+	+
6.25%	+	+
3.12%	+	+
1.56%	+	-
0.78%	-	-
Solvent control	+	+
Media control	+	+

Notes : (+) Clear (-) Murky

Pengamatan yang dilakukan pada uji penentuan nilai KHM terhadap bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli* dapat diamati secara langsung menggunakan indra penglihatan. Media uji dengan delusi cair bewarna jernih menandakan ekstrak andaliman mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Sedangkan media uji yang bewarna keruh menandakan ekstrak andaliman tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Hal tersebut menegaskan bahwa ekstrak andaliman dengan pelarut metanol dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* pada konsentrasi terendah 1,56% dan *Escherichia coli* pada konsentrasi terendah 3,12%.

Penentuan nilai KBM yaitu dengan melihat konsentrasi terendah pada senyawa antibakteri yang ditandai dengan tidak adanya pertumbuhan bakteri pada goresan media uji. Hasil pengujian KBM ekstrak andaliman pelarut metanol terhadap bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli* dapat dilihat pada Tabel 5.

Table 5. Test results MBC andaliman extract methanol solvent against bacteria *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli*

Extract concentration	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Escherichia coli</i>
100%	-	-
50%	-	-
25%	-	+
12.5%	-	+
6.25%	+	+
3.12%	+	+
1.56%	+	+
0.78%	+	+

Notes : (+) there is bacterial growth (-) no bacterial growth

Hasil pengujian KBM pada Tabel 5 yang dilakukan terhadap bakteri *Bacillus subtilis* menunjukkan bahwa dari konsentrasi 100, 50, 25, dan 12,5% menunjukkan tanda negatif (-) artinya tidak ditemukannya pertumbuhan bakteri pada goresan media uji. Kemudian pada konsentrasi 6,25, 3,12, 1,56, 0,78% terdapat pertumbuhan bakteri pada goresan media uji. Nilai KBM pada pengujian penentuan nilai KBM ekstrak andaliman dengan pelarut metanol terhadap bakteri *Bacillus subtilis* adalah 12,5%.

Kemudian pengujian KBM terhadap bakteri *Escherichia coli* konsentrasi 100%, 50%, dan menunjukkan tanda negatif (-) artinya tidak ditemukannya pertumbuhan bakteri pada goresan media uji. Sedangkan pada konsentrasi 25, 12,5, 6,25, 3,12, 1,56, 0,78% ditemukan pertumbuhan bakteri pada goresan media uji. Nilai KBM pada pengujian penentuan nilai KBM ekstrak andaliman dengan pelarut metanol terhadap bakteri *Escherichia coli* adalah 50%.

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pelarut metanol ekstrak andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC) merupakan pelarut zona terluas menghambat pertumbuhan bakteri dengan rata-rata zona hambat tertinggi $15,75 \pm 0,87$ mm pada bakteri *Bacillus subtilis* dan $15,48 \pm 0,28$ mm pada bakteri *Escherichia coli*. Komponen senyawa fitokimia pada ekstrak andaliman dengan pelarut metanol adalah senyawa alkaloid, flavonoid, steroid/terpenoid, saponin dan fenol. Hasil pengujian penentuan nilai KBM pada bakteri *Bacillus subtilis* adalah 1,56% dan pada bakteri *Escherichia coli* adalah 3,12%. Hasil pengujian penentuan nilai KBM pada bakteri *Bacillus subtilis* 12,5% dan pada bakteri *Escherichia coli* adalah 50%.

DAFTAR PUSTAKA

- Asbur Y, Khairunnisyah K. 2018. Pemanfaatan andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC) sebagai tanaman penghasil minyak atsiri. *Kultivasi*: 17(1), 537-543.
- Brawijasari LK. 2013. *Aktivitas Antibakteri dan Bioautografi Ekstrak Etanol Kulit Kayu Akway (Drimys piperita Hook. f.) Terhadap Bacillus subtilis dan Pseudomonas aeruginosa* (Doctoral dissertation, Universitas Muhammadiyah Surakarta).

- Bontjura S. 2015. Uji efek antibakteri ekstrak daun leilem (*Clerodendrum minahassae* l.) terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. *Pharmacon*: 4(4).
- Budiyanto A. 2015. Potensi Antioksidan, Inhibitor Tirosinase, dan Nilai Toksisitas dari Beberapa Spesies Tanaman Mangrove di Indonesia. Bogor: Intitute Pertanian Bogor
- Darsana IGO, Besung INK. dan Mahatmi H. 2012. Potensi daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* secara in vitro. *Indonesia Medicus Veterinus*, 1(3), pp.337-351
- Dewi FK. 2010. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* Linnaeus) Terhadap Bakteri Pembusuk Daging Segar, Universitas Sebelas Maret, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan, Surakarta, (Skripsi)
- Diachanty S, Nurjanah, Abdullah A. 2017. Aktivitas Antioksidan Berbagai Jenis Rumput Laut Coklat dari Perairan Kepulauan Seribu. *JPHPI*. 20 (2).
- Djiuardi E, and Nugraha T. 2017. Aktivitas antibakteri dari desain mikroemulsi minyak atsiri kayu manis. *Agrointek: Jurnal Teknologi Industri Pertanian*, 11(1), pp.21-26.
- Fitriana YAN, Fatimah VAN, dan Fitri AS. 2020. Aktivitas anti bakteri daun sirih: uji ekstrak KHM (Kadar Hambat Minimum) dan KBM (Kadar Bakterisidal Minimum). *Sainteks*, 16(2).
- Harborne. 1996. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Terbitan Kedua. ITB. Bandung.
- Maulida R. dan Guntarti A. 2015. Pengaruh Ukuran Partikel Beras Hitam (*Oryza sativa* L.) Terhadap Rendemen Ekstrak dan Kandungan Total Antosianin. *J Pharm*, 5(1), pp.9-16.
- Muzafri A. 2016. Ekstraksi Komponen Antimikroba Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.) dan Aplikasinya pada Fillet Ikan Patin (*Pangasius sutchi*).
- Negi JS, Bisht VK, BAK, Singh P, and Sundriyal RC. 2011. Chemical constituents and biological activities of the genus *Zanthoxylum*: a review. *African Journal of Pure and Applied Chemistry*, 5(12), pp.412-416.
- Nurhayati LS, Yahdiyani N, dan Hidayatulloh A. 2020. Perbandingan Pengujian Aktivitas Antibakteri Starter Yogurt dengan Metode Difusi Sumuran dan Metode Difusi Cakram. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*, 1(2), 41-46.
- Nuria MCA, Faizatun, dan Sumantri. 2009. Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, dan *Salmonella typhi* ATCC 1408. *Jurnal Ilmu-ilmu Pertanian*. 5: 26-37.

- Nurhayati S. 2007. Pengaruh Ketuaan dan Konsentrasi Dekok Daun Salam (*Syzygium polyanthum* (Wight.) Wapl) terhadap Diameter Zona Hambat *Salmonella typhi* Secara in Vitro. [Skripsi]. Malang: Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Malang.
- Permata NGAKR, Wartini NM, dan Yoga IWGS, 2015. Pengaruh jenis pelarut terhadap rendemen dan karakteristik ekstrak pewarna dari buah pandan (*Pandanus tectorius*). *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 3(4), pp.103-112.
- Putra IWDP, Dharmayudha AAGO, dan Sudimartini LM. 2016. Identifikasi Senyawa Kimia Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* L) di Bali. *Indonesia Medicus Veterinus*, 5(5), pp.464-473.
- Safitri AU. 2016. Aktivitas Antibakteri Nanopartikel Kitosan Berbasis Cangkang Lobster Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis*.
- Selawa WMRJ, Runtuwee, dan G. Citraningtyas. 2013. Flavonoid dan kapasitas Antiosidan Total Ekstrak etanol daun Binahong (*Andredrera cordifulic* (Ten.) Steenis.) FMIPA. Universitas Samratulangi. Manado.
- Setyowati WAE, Ariani SRD, Mulyani B, Rahmawati CP. 2014. Skrining fitokimia dan identifikasi komponen utama ekstrak metanol kulit durian (*Durio zibethinus* Murr.) varietas petruk. Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia VI. 1(1): 271- 280.
- Shasti H, dan Siregar TAP. 2017. Uji Aktivitas Antibiotik Ekstrak Buah Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *Jurnal Ibnu Sina Biomedika*, 1(1), pp.49-56.
- Siregar BL. 2005. Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.) di Sumatera Utara: Deskripsi dan Perkecambahan. *Jurnal Hayati*, 10(1): 38-40.
- Sitanggang FMC, Duniaji AS, dan Pratiwi IDPK. 2019. Daya hambat ekstrak buah andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC) dalam etil asetat terhadap pertumbuhan *Escherichia coli*. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*, 8(3), pp.257-266.
- Suharto M, Agung Pratama, Hoesa Jaya Edy, Jovie M. Dumanauw. 2012. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Saponin dari Ekstrak Metanol Batang Pisang Ambon (*Mussa paradisiaca* var. sapientum L.). Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT, Manado.
- Yuningsih R. 2007. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Jawer Kotok (*Coleus scutellarioides* Benth). Skripsi Tidak diterbitkan. Bogor: ITB