

## UJI AKTIVITAS EKSTRAK ETANOL KULIT DAGING BUAH LONTAR (*BORASSUS FLABELLIFER LINN*) TERHADAP PERTUMBUHAN *ESCHERICHIA COLI* SECARAIN VIRTO

Claritha Kaci Louis Lenggu, Desi Indria Rini, Anita Lidesna Shinta

### ABSTRAK

Penyakit infeksi merupakan permasalahan besar di dunia walaupun telah banyak kemajuan dalam pengobatan dan pencegahannya pada era modern ini. Mikroorganisme yang ada mulai beradaptasi dengan lingkungan, sehingga kepekaan terhadap antibiotik mulai menurun dan menjadi patogen bagi manusia yang sulit di basmi. Salah satu bakteri patogen pada manusia yang sering ditemukan adalah *Escherichia coli*. Oleh karena itu diperlukan adanya penelitian untuk menciptakan antibiotik yang baru menggunakan bahan alami sebagai alternatif selain penggunaan antibiotik dari bahan kimia. Indonesia kaya akan keanekaragaman hayati yang bisa dijadikan bahan untuk dibuat menjadi obat. Salah satu tanaman yang banyak tumbuh di dataran NTT adalah Lontar (*Borassus flabellifer Linn*) yang merupakan salah satu jenis palm (*Arecaceae*). Bahan aktif yang diduga berperan sebagai antimikroba dalam kulit daging buah Lontar (*Borassus flabellifer Linn*) adalah saponin, tanin, flavonoid, terpenoid. Tujuan Penelitian ini untuk mengetahui adanya aktivitas antibakteri ekstrak etanol kulit daging buah Lontar (*Borassus flabellifer Linn*) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Metode penelitian ini merupakan penelitian *True experimental* dengan rancangan *Post test only design with control*. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram. Ekstrak kulit daging buah lontar diperoleh dengan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%. Konsentrasi ekstrak yang digunakan 100%, 75%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,56%. Ciprofloxacin sebagai kontrol positif dan aquades steril sebagai kontrol negatif. Hasil dari penelitian ini yaitu tidak terbentuk zona hambat pada setiap kelompok perlakuan. Hal ini terkait perbedaan bakteri yang digunakan, rendahnya kadar senyawa aktif yang terkandung pada ekstrak dan laju difusi ekstrak pada media agar. Berdasarkan hasil penelitian tersebut, dapat disimpulkan ekstrak etanol kulit daging buah lontar (*Borassus flabellifer L.*) tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli*.

**Kata Kunci :** Buah Lontar (*Borassus flabellifer Linn*), antibakteri, *Escherichia coli*.

Penyakit infeksi merupakan permasalahan besar di dunia walaupun telah banyak kemajuan dalam pengobatan dan pencegahannya pada era modern ini, penyakit infeksi tetap menjadi penyebab utama kematian serta debilitas dan bertanggung jawab atas semakin buruknya kehidupan jutaan orang di dunia. Mikroorganisme yang ada mulai beradaptasi dengan lingkungan, sehingga kepekaan terhadap antibiotik mulai menurun dan menjadi patogen bagi manusia yang sulit di basmi.<sup>(1)</sup> Salah satu bakteri patogen pada manusia yang sering ditemukan adalah *Escherichia coli*.

*Escherichia coli* merupakan bakteri berbentuk batang gram negatif anggota famili *Enterobacteriaceae* dan merupakan flora normal dengan fungsi normal intestin dan nutrisi namun bisa menjadi patogen bila mencapai jaringan di luar jaringan intestinal. Tempat timbulnya infeksi tersering dari bakteri ini adalah saluran kemih, saluran empedu, dan tempat lain dalam rongga abdomen, tetapi setiap lokasi anatomis (misalnya, aliran darah, kelenjar prostat, paru-paru, tulang, meningen) dapat menjadi tempat terjadinya penyakit karena bakteri ini.<sup>(2)</sup> Meskipun *Escherichia coli* merupakan flora normal usus, bakteri ini akan menjadi patogen jika jumlahnya meningkat di dalam saluran pencernaan dan

menyebabkan diare. *Escherichia coli* menempati posisi kedua sebagai penyebab diare, dimana penyebab diare antara lain: *Rotavirus* (40-60%), *Escherichia coli* (20-30%), *Shigella sp.* (1-2%) dan parasit *Entamoeba histolytica* (<1%).<sup>(3)</sup>

Diantara semua jenis *Escherichia coli*, jenis *Escherichia coli* enteroinvasif (EIEC) adalah agen penyebab disentri atau diare berdarah pada manusia dimana bakteri ini akan menginvasi mukosa usus dan menyebabkan pendarahan pada mukosa usus.<sup>(4)</sup> Menurut *World Health Organization* (WHO) tahun 2017, hampir 1,7 miliar kasus diare terjadi pada anak dengan angka kematian sekitar 525.000 pada anak balita tiap tahunnya. Jenis *Escherichia coli* lainnya yang berbahaya bagi manusia adalah *Escherichia coli* penghasil toksin Shiga (STEC) atau dikenal juga dengan *Escherichia coli* enterohemoragik (EHEC). Bakteri ini menghasilkan toksin mirip Shiga yang dapat menyebabkan diare berdarah dan komplikasi ekstra intestinal berupa sindrom uremik hemolitik (*Haemolytic Uremic Syndrome*).<sup>(5)</sup>

*Escherichia coli* tidak bisa dibunuh dengan pembekuan maupun pendinginan. Bakteri ini hanya bisa di bunuh dengan menggunakan antibiotik, Sinar Ultra Violet atau suhu yang tinggi (>100°C).

Di Indonesia, tingkat penggunaan antibiotik cukup tinggi karena pemahaman masyarakat tentang penggunaan dan manfaat dari antibiotik masih kurang. Hal inilah yang memperberat keadaan resistensi antibiotik di Indonesia. Masalah lain dari antibiotik adalah efek samping yang ditimbulkan oleh antibiotik tersebut dan harga beberapa antibiotik yang tergolong mahal.

Masalah-masalah tersebut mengakibatkan diperlukan adanya penelitian untuk menciptakan antibiotik yang baru menggunakan bahan alami sebagai alternatif selain penggunaan antibiotik dari bahan kimia.

Indonesia kaya akan keanekaragaman hayati yang bisa dijadikan bahan untuk dibuat menjadi obat. Khususnya di Provinsi Nusa Tenggara Timur (NTT) terdapat berbagai jenis tanaman tropis yang bisa dimanfaatkan. Salah satu tanaman yang banyak tumbuh di dataran NTT adalah Lontar (*Borassus flabellifer Linn*) yang merupakan salah satu jenis palm (*Arecaceae*) unggulan lokal dan banyak tumbuh di daerah beriklim kering. Pohon ini sangat bermanfaat bagi penduduk NTT. Mulai dari bunga, buah, batang dan daunnya biasa dimanfaatkan oleh masyarakat NTT. Berbagai penelitian telah dilakukan untuk menggali manfaat dari tanaman ini dan salah satu penelitian yang dilakukan oleh Reshma dkk pada tahun 2017 telah membuktikan bahwa sirup tanaman Lontar (*Borassus flabellifer Linn*) dapat berperan sebagai antimikroba terhadap *Escherichia coli*.<sup>(6)</sup> Manfaat tanaman Lontar juga dibuktikan dalam penelitian oleh Amathullah dkk pada tahun 2017, *mesocarp* buah Lontar (*Borassus flabellifer Linn*) dapat digunakan sebagai antioksidan dalam bentuk ekstrak *skin lotion*.<sup>(7)</sup> Penelitian yang dilakukan oleh Priya dkk pada tahun 2016, membuktikan terdapat aktivitas ekstrak akar Lontar (*Borassus flabellifer Linn*) terhadap bakteri *Escherichia coli*.<sup>(8)</sup> Penelitian juga dilakukan terhadap kulit daging buah Lontar (*Borassus flabellifer Linn*) terhadap beberapa patogen manusia yang dilakukan oleh Alamelumangai dkk pada tahun 2014 dan didapati bahwa ekstrak kulit daging buah Lontar (*Borassus flabellifer Linn*) memiliki aktivitas sebagai antimikroba terhadap beberapa patogen manusia yang diteliti berupa bakteri dan fungi.<sup>(9)</sup>

Bahan aktif yang diduga berperan sebagai antimikroba dalam kulit daging buah Lontar (*Borassus flabellifer Linn*) adalah saponin, tanin, flavonoid, terpenoid.<sup>(9,10)</sup> Saponin merupakan senyawa antibakteri karena saponin dapat mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel bakteri sehingga menyebabkan kematian sel bakteri.<sup>(11)</sup> Senyawa tanin juga berperan sebagai

antibakteri karena memiliki kemampuan menonaktifkan adhesin bakteri, menghambat kerja enzim, menghambat transport protein pada selubung sel.<sup>(12)</sup> Senyawa flavonoid dapat menjadi antibakteri dengan cara merusak membran sel bakteri. Senyawa terpenoid dapat menjadi antibakteri dengan pemecahan membran sel bakteri.<sup>(12)</sup> Meskipun demikian, penelitian tentang manfaat dari tanaman Lontar (*Borassus flabellifer* Linn) masih jarang dilakukan di Indonesia. Karena itu, masyarakat belum mengetahui manfaat lain yang ada pada tanaman serba guna ini.

Berdasarkan uraian di atas, maka peneliti tertarik untuk menguji aktivitas antibakteri ekstrak etanol kulit daging buah Lontar (*Borassus flabellifer* Linn) terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* secara *in vitro*.

## METODE PENELITIAN

Penelitian eksperimental ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Nusa Cendana, Laboratorium Riset Terpadu Bioscience Universitas Nusa Cendana dan Laboratorium Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Nusa Cendana dengan waktu penelitian dari bulan Juli – Desember 2019.

## ALAT DAN BAHAN

Alat-alat yang digunakan adalah Toples, Blender, Pisau *Stainless steel*, Kertas saring, Timbangan analitik, *Rotary evaporator*, Plastik kedap udara, *Aluminium foil*, Tabung reaksi, Pipet tetes, *Hot plate*, Kertas saring, Mikropipet, Cawan petri, Ose, Spatula, Inkubator, Jangka sorong, Cakram uji kosong, Alat tulis, Densitometer *Mc Farland*.

Bahan-bahan yang digunakan adalah Kulit Daging buah Lontar yang telah di dapat dari buah lontar yang telah dikupas sebanyak 3 Kg, Etanol 70%, Asam sulfat ( $H_2SO_4$ ), Kalium dikromat ( $K_2CrO_3$ ),

Bubuk Zn, Asam klorida (HCl), Aquades, Reagen  $FeCl_3$ , Kloroform, Anhidrida asetat, Biakan *Escherichia coli* yang sudah dikonfirmasi menggunakan pewarnaan gram, Media *Mac Conkey* Agar, ciprofloxacin cair, Cakram uji kosong, NaCl 0,9%

## CARA KERJA

### Pembuatan ekstrak etanol kulit daging buah Lontar

Buah Lontar yang telah dipetik kemudian dikupas dan diambil kulit daging buahnya lalu dibersihkan menggunakan air mengalir. Kulit daging buah lontar dikeringkan dengan cara dioven dengan suhu  $50^{\circ}C$ . Setelah kering kulit daging buah Lontar lalu dihaluskan menggunakan blender dan diayak hingga menjadi serbuk. Selanjutnya dilakukan ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70% dengan perbandingan 1 : 10. Simplisia direndam dan di bungkus dengan aluminium foil selama 5 hari dan diaduk setiap harinya, kemudian dilakukan penyaringan untuk memisahkan ampas dan filtrat sehingga didapatkan ekstrak cair kulit daging buah lontar. Ekstrak cair kulit daging buah lontar lalu di uapkan menggunakan *rotatory evaporator* hingga didapatkan ekstrak yang telah terpisah dari pelarutnya.<sup>(9)(14)</sup>

### Uji Bebas Etanol

Uji bebas etanol dilakukan untuk menghindari hasil positif palsu dikarenakan kemampuan antibakteri dari etanol itu sendiri. Uji bebas etanol dapat dilakukan dengan dua cara. Cara pertama dengan menambahkan 1 ml asam asetat glasial dan 1 ml asam sulfat pekat pada ekstrak lalu dipanaskan. Jika tidak tercium bau ester, maka ekstrak telah bebas etanol. Cara yang kedua dengan menambahkan 2 tetes asam sulfat pekat dan 1 ml kalium dikromat pada ekstrak lalu dilihat adanya perubahan warna. Jika tidak terjadi perubahan warna dari jingga menuju hijau kebiruan, maka ekstrak telah bebas etanol.<sup>(14)</sup>

## Uji Fito Kimia

### Uji Flavonoid

Ekstrak sebanyak 20 tetes dilarutkan menggunakan etanol kemudian dimasukkan ke dalam tabung kemudian disaring. Kemudian larutan ekstrak ditambahkan bubuk Zn dan beberapa tetes HCl pekat. Positif mengandung flavonoid jika larutan berubah warna menjadi orange, kuning, atau merah keunguan.<sup>(14)(15)</sup>

### Uji Saponin

Ekstrak sebanyak 20 tetes ditambahkan dengan 20 tetes aquades yang sudah dipanaskan. Ekstrak lalu dikocok selama 10 detik. Positif mengandung saponin jika terbentuk busa selama tidak kurang dari 10 menit dan busa tidak hilang setelah ditambahkan 1 tetes HCl 1%.<sup>(9)(14)</sup>

### Uji Tanin

Ekstrak dilarutkan dalam 10 ml aquades, kemudian disaring dan ditambahkan 3 tetes FeCl<sub>3</sub>. Positif mengandung tanin jika terjadi perubahan warna menjadi hijau hitam, biru, hitam atau hitam pekat.<sup>(9)(14)</sup>

### Uji Terpenoid

Sebanyak 1 ml ekstrak ditambahkan kedalam 2 ml kloroform lalu tambahkan 5 mL asam sulfat pekat di sepanjang sisi tabung uji. Pembentukan warna coklat kemerahan menunjukkan adanya terpenoid.<sup>(9)</sup>

### Pengenceran ekstrak etanol kulit daging buah lontar

Ekstrak kulit daging buah Lontar kemudian diencerkan dengan aquades steril. Pengenceran bertujuan untuk menghasilkan beberapa konsentrasi yang akan digunakan untuk menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*. Pengenceran sampel dengan rumus :  $\% = b/v$ , dengan "b" menyatakan berat atau massa ekstrak dalam gram dan "v"

menyatakan volume cairan/pelarut yang ditambahkan dalam mililiter. Ekstrak etanol kulit daging buah lontar pertama-tama dalam keadaan konsentrasi awal yaitu 100% selanjutnya diencerkan menggunakan aquades menjadi 75%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125% dan 1,56% secara manual menggunakan pengenceran bertingkat dengan rumus  $M1 \times V1 = M2 \times V2$ .<sup>(14)</sup>

### Sterilisasi alat dan bahan

Alat yang terbuat dari kaca disterilkan menggunakan autoklaf pada tekanan 15 Psi atau 2 atm dengan suhu 121°C selama 15 menit. Alat yang terbuat dari plastik disterilkan menggunakan alkohol 70%. Untuk mencegah kontaminasi pada ekstrak etanol kulit daging buah lontar, ekstrak dimasukkan kedalam botol kaca dengan tutup yang telah disterilkan dan disimpan pada suhu ruangan (25°C - 27°C).<sup>(9)(14)</sup>

### Pembuatan media peremajaan bakteri

Sebanyak 50 gram bubuk Media *Mac Conkey* dimasukkan ke dalam erlenmeyer lalu ditambahkan dengan aquades steril 1 liter dan dipanaskan sambil diaduk sampai mendidih hingga bahan larut sempurna. Setelah tercampur, bahan dituangkan ke dalam tabung reaksi. Tabung reaksi yang telah berisi bahan media lalu dibungkus dengan aluminium foil dan disterilkan dalam autoklaf pada tekanan 15 Psi atau 2 atm selama 15 menit dengan suhu 121°C. Tunggu hingga suhu larutan sekitar 45°C-50°C. Lalu homogenkan, tuang ke dalam cawan petri dan biarkan hingga media memadat.<sup>(16)</sup>

### Peremajaan bakteri

Bakteri *Escherichia coli* dalam penelitian ini diperoleh dari Badan Pengembangan Obat dan Makanan. Bakteri lalu dibiakan dari stok bakteri ke cawan petri berisi media *Mac Conkey*. Setelah digoreskan diinkubasi di dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam.<sup>(14)</sup>

**Pembuatan suspense bakteri**

Bakteri *Escherichia coli* dibiakan terlebih dahulu di media *Mac Conkey*. Biakan diambil sebanyak 1-2 ose dan disuspensikan ke dalam larutan NaCl 0,9% dalam tabung reaksi kemudian dimasukkan ke dalam Densitometer *Mc Farland* sampai diperoleh kekeruhan yang sama dengan standar *Mc Farland* 0,5 atau sebanding dengan jumlah bakteri  $1,5 \times 10^8$  CFU/ml. Jumlah yang telah memenuhi syarat untuk uji kepekaan yaitu  $10^5$ - $10^8$  CFU/ml.

**Pembuatan media uji**

Sebanyak 50 gram bubuk Media *Mac Conkey* dimasukkan ke dalam erlenmeyer lalu ditambahkan dengan aquades steril 1 liter dan dipanaskan sambil diaduk sampai mendidih hingga bahan larut sempurna. Setelah tercampur, bahan dituangkan ke dalam tabung reaksi. Tabung reaksi yang telah berisi bahan media lalu dibungkus dengan aluminium foil dan disterilkan dalam autoklaf pada tekanan 15 Psi atau 2 atm selama 15 menit dengan suhu 121°C. Tunggu hingga suhu larutan sekitar 45 °C-50 °C. Lalu homogenkan, tuang ke dalam cawan petri dan biarkan hingga media memadat.<sup>(16)</sup>

**Tahap perlakuan**

Masukkan kapas lidi steril kedalam tabung raksi yang telah berisi suspensi bakteri sesuai standar *Mc Farland*. Setelah itu goeskan pada cawan petri media uji secara merata. Media kemudain didiamkan sebentar. Kemudian letakkan kertas cakram uji dengan pingset steril ke dalam cawan petri. Kertas cakram tersebut sebelumnya telah direndam ke dalam setiap konsentrasi ekstrak kulit daging buah lontar selama 30 menit. Selajutnya semua media diinkubasi ke dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam.

**Tahap Pengamatan**

Setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, dilakukan pengamatan pada cawan petri yaitu dengan cara melihat adanya pertumbuhan *Escherichia coli* di sekitar cakram *disk* dan menghitung diameter zona hambat pertumbuhan pada masing-masing zona di sekitar cakram *disk*. Pengukuran dapat dilakukan menggunakan jangka sorong.

**HASIL PENELITIAN**







Hasil ekstraksi kulit daging buah lontar menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70% didapatkan ekstrak kulit daging buah lontar sebanyak 50 ml.

**Hasil Uji Fitokimia dan Uji Bebas Etanol Ekstrak Etanol Kulit Daging Buah Lontar (*Borassusflabellifer L.*)**

Tabel 1. Hasiluji fitokimia ekstrak etanol kulit daging buah Lontar (*Borassusflabellifer L.*)

No	Uji	Hasil reaksi
1	Uji bebas etanol	Warna reaksi merah bata/ tidak terjadi perubahan warna (-) etanol



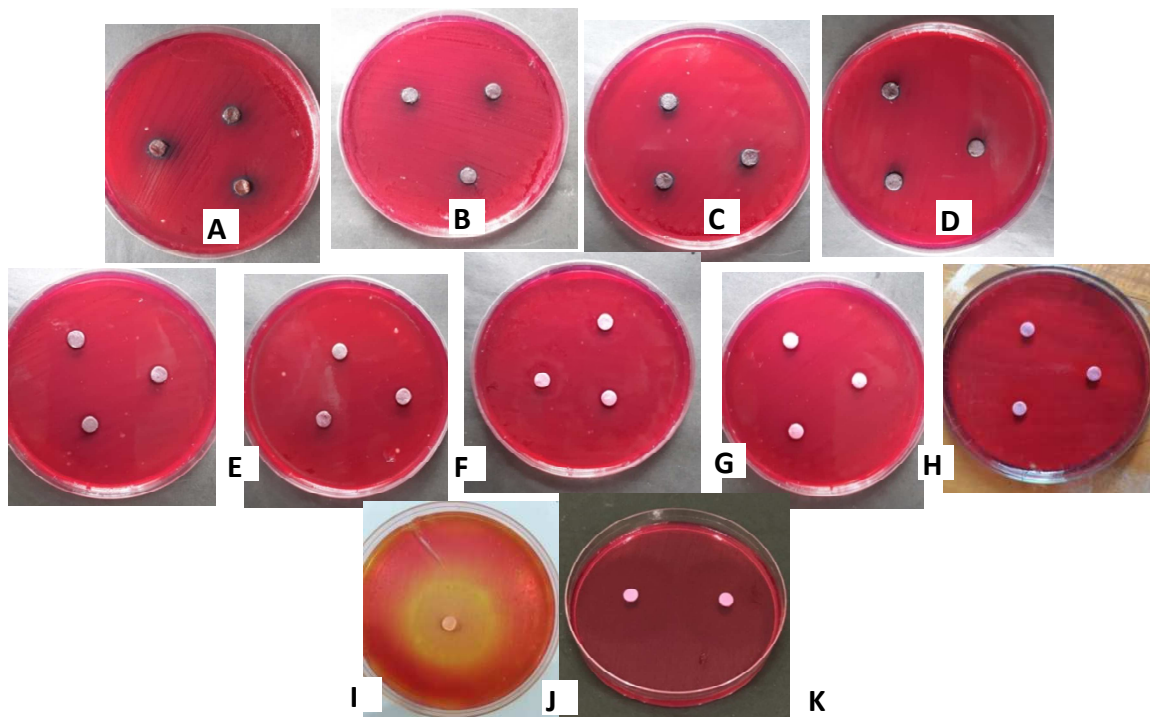
		Tidak tercium bau ester (-) etanol	
2	Uji Tanin	Terbentuk warna hijau kehitaman (+)	
3	Uji Flavonoid	Terbentuk warna coklat (+)	
4	Uji Triterpenoid	Terbentuk warna coklat kemerahan (+)	
5	Uji Saponin	Buih yang terbentuk tidak stabil (-)	
6	Uji Alkaloid	Terbentuk endapan putih kekuningan	

**Hasil Uji Konfirmasi Bakteri**

Hasil pewarnaan gram memperlihatkan bakteri uji berwarna kemerahan dengan morfologi batang pendek (kokobasil) yang menunjukkan bahwa bakteri uji adalah positif *Escherichia coli*.

**Hasil Uji Aktivitas Antibakteri**

Hasil uji aktivitas antibakteri etanol 70% kuit daging buah lontar dengan menggunakan konsentrasi 100%, 75%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,56%, aquades steril sebagai kontrol negatif dan ciprofloxacin sebagai kontrol positif dapat dilihat pada Gambar 1 dan Tabel 2.



Gambar 1. Tidak terbentuk zona hambat di sekitar kertas cakram pada (A) Konsentrasi 100%, (B) Konsentrasi 75%, (C) Konsentrasi 50%, (D) Konsentrasi 25%, (E) Konsentrasi 12,5%, (F) Konsentrasi 6,25%, (G) Konsentrasi 3,125%, (H) Konsentrasi 1,56%, (I) Kontrol Negatif dan terbentuk zona hambat pada (J) Kontrol Positif (K) Kontrol Positif

Tabel 2. Hasil pengukuran diameter zona hambat yang ditimbulkan oleh berbagai konsentrasi ekstrak etanol kulit daging buah lontar terhadap *Escherichia coli*

Konsentrasi ekstrak etanol kulit daging buah lontar	Diameter Zona Hambat (mm)				Potensi
	P1	P2	P3	Rata-rata	
100 %	0	0	0	0	Sangat Lemah
75%	0	0	0	0	Sangat Lemah
50%	0	0	0	0	Sangat Lemah
25%	0	0	0	0	Sangat Lemah
12,5%	0	0	0	0	Sangat Lemah
6,25%	0	0	0	0	Sangat Lemah
3,125%	0	0	0	0	Sangat Lemah
1,56%	0	0	0	0	Sangat Lemah
Kontrol (+)	31,7	35,86	37,5	35,02	Sangat Kuat
Kontrol (-)	0	0	0	0	Sangat Lemah

**PEMBAHASAN**

Penelitian ini menggunakan ekstrak etanol 70% karena etanol 70% merupakan pelarut semipolar yang dapat menarik senyawa-senyawa baik polar maupun non polar seperti alkaloid, flavonoid, tanin,

saponin, dan steroid.<sup>(17)</sup> Alasan penelitian ini menggunakan metode maserasi karena metode maserasi merupakan metode yang paling sederhana dan metode ini juga tidak menggunakan pemanasan sehingga menghindari rusaknya senyawa yang termolabil.<sup>(13)</sup>

Analisis fitokimia berperan pada identifikasi senyawa aktif tumbuhan melalui berbagai metode, baik kualitatif maupun kuantitatif.<sup>(18)</sup> Analisis fitokimia yang dilakukan pada penelitian ini bersifat kualitatif dimana hanya melihat ada tidaknya senyawa metabolit sekunder dari perubahan warna yang terbentuk. Hasil analisis fitokimia pada ekstrak etanol 70% kulit daging buah lontar menunjukkan bahwa ekstrak uji mengandung alkaloid, flavonoid, tanin dan triterpenoid; sedangkan untuk senyawa saponin menunjukkan hasil negatif. Hal ini berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Alamelumangai dkk pada tahun 2014<sup>(9)</sup>. Pada penelitian tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit daging buah lontar mengandung senyawa saponin. Sedangkan pada penelitian yang dilakukan oleh Mohan dkk pada tahun 2016 tidak ditemukan senyawa aktif saponin pada ekstrak metanol kulit daging buah lontar.<sup>(10)</sup> Perbedaan kandungan metabolit sekunder yang terdapat dalam tumbuhan dapat berbeda karena dipengaruhi oleh faktor lingkungan. Metabolit sekunder yang ada pada tumbuhan berfungsi untuk mempertahankan diri dari kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan, misalnya untuk mengatasi hama dan penyakit.<sup>(15)</sup>

Ekstrak etanol kulit daging buah lontar juga dilakukan uji bebas etanol agar menghindari terjadinya positif palsu dikarenakan etanol memiliki sifat sebagai desinfektan. Hasilnya ekstrak etanol kulit daging buah lontar dalam penelitian ini tidak mengandung etanol.

Pengujian ekstrak etanol kulit daging buah lontar terhadap bakteri *Escherichia coli* yang telah dilakukan menunjukkan bahwa ekstrak kulit daging buah lontar tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* yang ditunjukkan dengan tidak terbentuknya zona bening yang dapat diukur diameternya. Hasil penelitian ini berbanding terbalik dengan penelitian yang dilakukan oleh Alamelumangai dkk pada

tahun 2014.<sup>(9)</sup> Pada penelitian yang dilakukan oleh Alamelumangai dkk bakteri yang digunakan adalah *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, dan *Bacillus subtilis*. Dari hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa terdapat aktivitas antibakteri ekstrak kulit daging buah lontar terhadap bakteri-bakteri tersebut dimana pelarut etanol memiliki aktivitas antibakteri yang lebih tinggi dibandingkan pelarut lainnya. Namun hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Puspha Rani dkk pada tahun 2018 yaitu penelitian tentang uji fitokimia, antioksidan dan aktivitas antibakteri dari ekstrak buah lontar (*Borassus flabellifer* Linn) dimana jenis bakteri yang digunakan yaitu *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli* menggunakan pelarut aquades dengan konsentrasi 10 µg/ml, 20 µg/ml dan 30 µg/ml. Hasil dari penelitian ini yaitu tidak terbentuknya zona hambat pada bakteri *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*.<sup>(19)</sup>

Adapun perbedaan daya hambat bisa disebabkan oleh beberapa faktor yaitu bakteri yang digunakan, senyawa aktif yang terkandung dalam tanaman lontar, dan kecepatan difusi senyawa dengan konsentrasi yang berbeda serta faktor-faktor lain yang mempengaruhi ukuran daya hambat pada metode difusi cakram.

Perbedaan daya hambat bisa disebabkan oleh bakteri yang digunakan, dimana beberapa bakteri yang digunakan dalam penelitian Alamelumangai dan Puspha Rani merupakan gram positif sedangkan *Escherichia coli* merupakan gram negatif. Bakteri gram positif memiliki struktur gram dinding sel dengan lebih banyak peptidoglikan, sedikit lipid dan dinding sel mengandung polisakarida (asam teikoat). Asam teikoat merupakan polimer yang larut dalam air, yang berfungsi sebagai transport ion positif untuk keluar atau masuk. Karena sifat larut air inilah yang menunjukkan bahwa dinding sel bakteri gram positif bersifat lebih polar.



Sedangkan bakteri gram negatif memiliki impermeabilitas membran luar yang merupakan penghalang efektif terhadap zat hidrofobik. Gram negatif lebih banyak mengandung lipid, sedikit peptidoglikan, membran luar berupa *bilayer* (berfungsi sebagai pertahanan selektif senyawa-senyawa yang keluar atau masuk sel dan menyebabkan efek toksik). Membran luar terdiri dari fosfolipid (lapisan dalam) dan lipolisakarida (lapisan luar) tersusun atas lipid A yang bersifat nonpolar. Perbedaan struktur dinding sel menentukan penetrasi, ikatan dan aktivitas senyawa antibakteri. Hal tersebut menyebabkan daya hambat ekstrak pada bakteri gram positif lebih besar dari bakteri gram negatif.<sup>(2,21,22,23,24)</sup>

Perbedaan daya hambat juga bisa disebabkan oleh senyawa aktif yang terkandung dalam tanaman. Dalam penelitian yang dilakukan oleh Alamelumangai aktivitas antibakteri kulit daging buah lontar diduga karena kandungan senyawa aktif yaitu flavonoid, tanin, saponin, terpenoid dan glikosida.<sup>(9)</sup> Pada penelitian yang dilakukan oleh Puspha Rani aktivitas antibakteri buah lontar diduga karena kandungan senyawa aktif berupa saponin, kuinon, glikosida, terpenoid, fenol, steroid, kumarin dan betacyanin.<sup>(19)</sup> Sedangkan dalam penelitian ini berdasarkan hasil uji fitokimia ekstrak kulit daging buah lontar mengandung senyawa aktif berupa flavonoid, tanin dan terpenoid. Meskipun memiliki senyawa aktif yang sama, jumlah atau kadar dari senyawa aktif juga mempengaruhi perbedaan aktivitas antibakteri.<sup>(20)</sup> Pada penelitian yang dilakukan oleh Idayati dkk pada tahun 2014, jumlah kadar tanin yang diukur dari mesocarp buah lontar berumur 8 bulan yang diperoleh dari Kabupaten Kupang Provinsi NTT adalah 0,08% dimana nilai ini menunjukkan bahwa mesocarp buah lontar tidak layak menjadi sumber produksi tanin.<sup>(23)</sup> Disaat senyawa aktif yang berpotensi sebagai antibakteri konsentrasinya masih terlalu rendah maka daya hambat yang terbentuk juga akan sangat lemah. Dari hasil uji fitokimia ekstrak etanol kulit daging buah lontar

dalam penelitian ini juga tidak ditemukan senyawa aktif saponin yang berfungsi untuk meningkatkan permeabilitas dinding sel bakteri akibatnya kemampuan ekstrak untuk menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* juga semakin lemah. Hal ini bisa dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu kurangnya unsur hara yang terdapat di dalam tanah tempat tumbuhnya pohon lontar, pemanenan yang dilakukan secara acak sehingga tidak diketahui usia tumbuhan yang dipanen, dan tidak dilakukannya pemisahan antara buah yang tua dan muda.<sup>(24)</sup>

Dalam penelitian ini lokasi dari tempat tumbuhnya pohon lontar berbeda dengan pohon lontar yang menjadi sampel penelitian yang dilakukan oleh Alamelumangai dkk dimana kandungan senyawa metabolit sekunder yang dimiliki ekstrak juga dapat berbeda, sehingga diameter zona hambat tidak terbentuk diduga akibat kurangnya kandungan senyawa aktif dalam ekstrak etanol kulit daging buah lontar.<sup>(25)</sup> Selain itu, beberapa hal yang menyebabkan ekstrak etanol kulit daging buah lontar menjadi turun efektivitasnya ialah proses panen buah dan pengolahan dari kulit daging buah tersebut. Dalam penelitian ini, peneliti tidak membedakan usia dari pohon lontar yang dipanen serta tidak membedakan buah tua dan muda yang digunakan sebagai sampel. Proses pengeringan kulit daging buah lontar juga menggunakan metode yang berbeda dengan literatur sebelumnya, dimana dalam penelitian ini, peneliti mengeringkan kulit daging buah lontar menggunakan oven pada suhu 50°C. Adanya perbedaan teknik mengolah tanaman yang digunakan untuk menghasilkan ekstrak dari kulit daging buah lontar tersebut dapat menimbulkan adanya perbedaan efektivitas dari ekstrak etanol kulit daging buah lontar dengan literatur awal.<sup>(25)</sup>

Metode ekstraksi juga dapat mempengaruhi efek antibakteri ekstrak etanol kulit daging buah lontar dimana dalam penelitian yang dilakukan oleh

Alamelumangai, metode ekstraksi maserasi dilakukan dengan bantuan alat *rotary shaker* dengan kecepatan 120-130 r/min selama 7 hari. Sedangkan dalam penelitian ini, peneliti melakukan metode maserasi secara manual yaitu dilakukan pengadukan selama 15-20 menit setiap hari selama 5 hari. Hal ini dapat mempengaruhi kemampuan pelarut untuk menarik senyawa aktif yang terdapat dalam kulit daging buah lontar sehingga terdapat perbedaan efektivitas dari ekstrak yang digunakan.<sup>(26)</sup>

Ditinjau dari kecepatan difusi yang berbeda, diameter zona hambat bakteri tidak selalu naik sebanding dengan naiknya konsentrasi bakteri. Kemungkinan ini terjadi karena perbedaan kecepatan difusi senyawa antibakteri pada media agar serta jenis dan konsentrasi senyawa antibakteri yang berbeda juga memberikan diameter zona hambat yang berbeda pada lama waktu tertentu. Dalam penelitian ini ekstrak etanol kulit daging buah lontar membentuk endapan dan diduga senyawa aktif ikut mengendap dalam endapan tersebut dimana hal tersebut juga dapat mempengaruhi laju difusi senyawa antibakteri ekstrak etanol kulit daging buah lontar pada media agar.<sup>(21,27)</sup>

Faktor-faktor teknis lain yang dapat mempengaruhi ukuran daya hambat pada metode difusi cakram yaitu kepekatan inokulum, waktu pemasangan cakram, suhu inkubasi, waktu inkubasi, ukuran lempeng, ketebalan media agar dan komposisi media.<sup>(14)</sup>

Pada kontrol positif menggunakan antibiotik ciprofloxacin, rata-rata diameter zona hambat yang terbentuk adalah sebesar 35,02 mm dan tergolong potensi sangat kuat. Rata-rata diameter zona hambat yang terbentuk pada kontrol lebih besar dari ekstrak uji. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri ciprofloxacin lebih kuat daripada ekstrak etanol kulit daging buah lontar (*Borassus flabellifer Linn*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Hasil penelitian

menunjukkan bahwa kontrol negatif tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* yang ditandai dengan tidak adanya zona hambat di sekitar kertas cakram. Hal ini berarti aquades steril merupakan pelarut ekstrak yang baik karena dapat melarutkan tanpa memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan bakteri uji.

## KESIMPULAN

1. Diperoleh ekstrak etanol kulit daging buah lontar (*Borassus flabellifer L.*) melalui metode maserasi.
2. Hasil uji fitokimia ekstrak etanol kulit daging buah lontar (*Borassus flabellifer L.*) menunjukkan ekstrak etanol kulit daging buah lontar memiliki zat aktif berupa flavonoid, tanin dan terpenoid.
3. Ekstrak etanol kulit daging buah lontar (*Borassus flabellifer L.*) tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli*.

## SARAN

1. Perlu dilakukan pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol kulit daging buah lontar (*Borassus flabellifer L.*) terhadap bakteri lainnya seperti bakteri gram positif
2. Perlu dilakukan penelitian mengenai ekstrak tanaman menggunakan bagian lain dari lontar (*Borassus flabellifer L.*).
3. Perlu dilakukan ekstraksi kulit daging buah lontar (*Borassus flabellifer L.*) menggunakan metode ekstraksi yang berbeda.
4. Perlu dilakukan ekstraksi kulit daging buah lontar (*Borassus flabellifer L.*) menggunakan pelarut yang berbeda.
5. Perlu dilakukan pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol kulit daging buah lontar (*Borassus flabellifer L.*)

menggunakan metode yang berbeda seperti dilusi.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Madoff LC. Pendahuluan pada Penyakit Menular : Interaksi Penjamu-Parasit. In: Asdie AH, editor. Harrison Prinsi-Prinsip Ilmu Penyakit Dalam. 13th ed. Jakarta: EGC; 2000. p. 540.
2. Jawetz, Melnick, & Adelberg. Mikrobiologi Kedokteran. 25th ed. Adityaputri A, editor. Jakarta: EGC; 2012. 227 p.
3. Widoyono. Penyakit Tropis : Epidemiologi, Penularan, Pencegahan & Pemberantasannya. 2nd ed. Jakarta: Penerbit Erlangga; 2008.
4. Pasqua M, Michelacci V, Martino M, Tozzoli R. *The Intriguing Evolutionary Journey of Enteroinvasive E. coli (EIEC) toward Pathogenicity* [Internet]. NCBI. 2017 [cited 2019 Apr 25]. Available from: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5723341/#\\_sec1title](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5723341/#_sec1title)
5. Kunsmann L, Greune L, Bauwens A, Bielaszewska M, Ru C, Zhang W, et al. *Enterohemorrhagic Escherichia coli Hemolysin Employs Outer Membrane Vesicles to Target Mitochondria and Cause Endothelial and Epithelial Apoptosis*. 2013;9(12).
6. Reshma M V, Jacob J, Syamnath VL, Habeeba VP, Dileep Kumar BS, Lankalapalli RS. *First report on isolation of 2,3,4-trihydroxy-5-methylacetophenone from palmyra palm (Borassus flabellifer Linn.) syrup, its antioxidant and antimicrobial properties*. Food Chem [Internet]. 2017;228:491–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.02.043>
7. Amatullah L, Cahyaningrum TN, Fidyansih AN. *Antioxidants Effectivity In Skin Lotion Formulation Of Mesocarp Fruit Extract Lontar (Borassus Flabellifer) Against White Rats Wistar Male In-Situ*. J Pharm Sci Clin Res. 2017;2(1):25–34.
8. Priya GV, Mallikarjuna Rao T GRB. *Antibacterial Activity of Borassus Flabellifer*. Peertechz J Biomed Eng. 2016;003–5.
9. Alamelumangai M, Dhanalakshmi J, Mathumitha M, Renganayaki RS, Muthukumaran P, Saraswathy N. *In vitro studies on phytochemical evaluation and antimicrobial activity of Borassus flabellifer Linn against some human pathogens*. Asian Pac J Trop Med. 2014;7(S1):S182–5.
10. Mohan GK, Yadav M, Rani MS, Shanker K. *Antimitotic activity of Borassus flabellifer Seed Coat Antimitotic activity of Borassus flabellifer Seed Coat*. 2016;(January).
11. Detha A, Datta FU. *Skrining Fitokimia Minuman Tradisional Moke dan Sopi sebagai Kandidat Antimikroba ( Phytochemical of Sopi and Moke as a potential antimicrobial agent)*. J Kaji Vet. 2017;4.
12. Rahman FA, Haniastuti T, Utami TW. *Skrining fitokimia dan aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirsak ( Annona muricata L .) pada Streptococcus mutans ATCC 35668*. Maj Kedokt Gigi Indones. 2017;3(1):1–7.
13. Kumoro A. *Teknologi Ekstraksi Senyawa Bahan Aktif dari Tanaman Obat*. Yogyakarta: Plantaxia; 2015.
14. Noor TA. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Pepaya (Carica*

- papaya L*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* secara In Vitro. Skripsi. 2018;
15. Harbone J. *Phytochemical methods : a guide to modern techniques of plant analysis*. 3rd ed. London: Chapman and Hull; 1998.
  16. Tri Atmojo A. Media MacConkey Agar [Internet]. Indonesian Medical Laboratory. 2017 [cited 2019 Apr 25]. Available from: <https://medlab.id/media-macconkey-agar/>
  17. Sunaryo H, Siska, Dwitiyanti, Helmi. Aktivitas Ekstrak Aktivitas Jahe Gajah (*Zingiber officinale*) dengan Zinc terhadap Kadar Glukosa Mencit yang diinduksi Streptozotocin dan pakan Hiperkolesterol. J Lemlit UHAMKA. 2015;29–33.
  18. Dan H, Ekstrak P, Wungu D, Tuyet M, Keterangan P, Air E. Ekstrak Air daun wungu Gambar 2 Rendemen tiap ekstrak daun wungu. 1999;(Tabel 1):6–9.
  19. Rani VP, Mirabel LMRL, Priya KS, Nancy AA, Meena G. *Phytochemical , Antioxidant and Antibacterial Activity of Aqueous Extract of Borassus Flabellifer ( L .)*. 2018;4(2):405–10.
  20. Banyuasin M, Sumatera S. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Tanaman Obat Suku Musi di Kabupaten Musi Banyuasin , Sumatera Selatan Antibacterial Assay of Ethanolic Extract Musi Tribe Medicinal Plant. 2017;7(2):127–35.
  21. Nurcahya E, Wijayanti I. Aktivitas antibakteri ekstrak lamun ( *Cymodocea rotundata* ) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* Antibacterial Activities of Seagrass Extracts ( *Cymodocea rotundata* ) Against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. 2017;13(1):1–6.
  22. Tansil AYM, Nangoy E, Posangi J, Bara RA, Farmakologi B, Kedokteran F, et al. Uji daya hambat ekstrak etanol daun srikaya ( *Annona squamosa* ) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. 2016;4.
  23. Bioactive M, Fruit L, Source A, Antioxidant N, Teknologi J, Pertanian H, et al. Potensi senyawa bioaktif mesocarp buah lontar ( *Borassus flabellifer L .* ) Sebagai sumber antioksidan alami. 2014;34(3):277–84.
  24. Febrianasari F. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kirinyu (*Chromolaena odorata*) terhadap *Staphylococcus aureus*. 2018;
  25. Rahardjo M, Koendhori EB, Setiawati Y. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol lidah buaya ( *Aloe vera* ) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. 2018;(April).
  26. Surjowardojo P, Susilorini TE, Sirait GRB. Daya hambat dekok kulit apel manalagi (*Malus sylvestris Mill.*) Terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas sp.* Penyebab mastitis pada sapi perah. Ternak Trop. 2015;16(2):40–8.
  27. Armedita D, Asfrizal V, Amir M. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun, kulit batang, dan getah angkana. Odonto Dent J. 2018;5:1–8.