



Seminar Nasional Penelitian dan Pengabdian Teknologi Hasil Pertanian

PENGARUH KONSENTRASI ETANOL DAN LAMA MASERASI TERHADAP KARAKTERISTIK EKSTRAK DAUN KUDA-KUDA (*Lannea coromandelica*)

THE EFFECT OF ETHANOL CONCENTRATION AND MACERATION TIME ON THE CHARACTERISTICS OF KUDA-KUDA (*Lannea coromandelica*) LEAF EXTRACT

Yuliani Aisyah*, Almasari Dewi, Yusya Abubakar, Tyas Dwi Rahayu

Departemen Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Syiah Kuala

*Email Korespondensi: yuliani.aisyah@usk.ac.id

Abstract

The plant species *Lannea coromandelica* is highly valued in Indonesian traditional medicine for its rich profile of bioactive compounds. This study was systematically designed to optimize the maceration process by examining the simultaneous effect of ethanol solvent concentration (70%, 80%, 90%) and maceration time (24 hours, 48 hours) on extract quality. A Factorial Completely Randomized Design (CRD) with four replications (totaling 24 treatments) was employed. The extracts were analyzed for water content, yield, total phenolic content, antioxidant activity, antibacterial efficacy against *S. aureus* and *E. coli*, and phytochemical groups via FTIR analysis. Statistical evaluation was conducted using ANOVA, followed by the Duncan Multiple Range Test (DMRT). Results indicated that increasing ethanol concentration significantly enhanced the extraction yield. FTIR confirmed the presence of crucial secondary metabolites, including alkaloids, flavonoids, terpenoids, saponins, and tannins. While the extract exhibited antibacterial activity against both *S. aureus* and *E. coli*, its effectiveness was inferior to the Amoxicillin control. The most effective extraction condition was achieved using 90% ethanol and a 48-hour maceration time. This optimal treatment maximized both the antioxidant activity (86.39%) and the total phenolic content (7.24 mg GAE/g). In conclusion, the best method for obtaining a high-quality *Lannea coromandelica* extract rich in antioxidant and phenolic compounds is through maceration using 90% ethanol for 48 hours.

Keywords: Maceration, ethanol, bioactive, antibacterial, antioxidant

PENDAHULUAN

Tanaman kuda-kuda (*Lannea coromandelica*) merupakan salah satu tanaman yang hidup di daerah tropis sehingga tersebar luas hampir di seluruh kawasan di Indonesia. Tanaman kuda-kuda memiliki nama sebutan yang berbeda-beda di setiap daerah, seperti di Aceh dikenal sebagai bak kerundong atau pohon kuda-kuda, di Jawa disebut pohon kudo, jaranan, dan kedondong laki, di Sulawesi disebut kayu Jawa, dan di Flores disebut pohon *Reo*. Di India tanaman kuda-kuda dikenal dengan sebutan *odina wodier* atau Indian *Ash Tree* dan banyak digunakan untuk

mengobati berbagai penyakit, antara lain sakit gigi, sakit perut dan impotensi (Reddy & Joy, 2011). Tanaman kuda-kuda termasuk ke dalam salah satu golongan tanaman pekarangan yang sering digunakan sebagai obat tradisional oleh masyarakat Indonesia karena kandungan senyawa bioaktifnya.

Untuk mendapatkan senyawa bioaktif dari daun kuda-kuda, diperlukan proses ekstraksi yang efisien. Maserasi adalah salah satu metode ekstraksi yang paling umum dan sederhana, yang melibatkan perendaman bahan tanaman dalam pelarut selama periode tertentu.

Efektivitas ekstraksi sangat bergantung pada beberapa faktor, salah satunya adalah jenis dan konsentrasi pelarut, dan lama prosesnya (Priya et al, 2018). Pemilihan jenis dan konsentrasi pelarut sangat penting karena akan memengaruhi jenis dan jumlah senyawa yang dapat terekstrak. Konsentrasi pelarut yang berbeda seringkali digunakan untuk menargetkan senyawa dengan polaritas yang bervariasi (Azwanida, 2015). Kesalahan dalam mengoptimalkan konsentrasi pelarut yang digunakan dapat menyebabkan rendemen ekstrak yang rendah, degradasi senyawa yang labil, atau kegagalan dalam mengekstrak senyawa yang diinginkan (Wahyuningtyas et al., 2017). Selain konsentrasi pelarut, lama maserasi juga berperan penting. Waktu perendaman yang lebih lama umumnya diasumsikan dapat meningkatkan jumlah senyawa yang terekstrak, sehingga berpotensi meningkatkan rendemen dan konsentrasi senyawa bioaktif. Namun, waktu yang terlalu lama juga dapat memicu degradasi senyawa-senyawa labil (Kumoro & Hastuti. 2020).

Pelarut yang dapat digunakan untuk proses ekstraksi daun kuda-kuda adalah etanol, yang merupakan pelarut organik yang memiliki polaritas medium dengan sifat mudah menguap. Amelinda et al. (2018) menyatakan bahwa etanol merupakan salah satu pelarut yang paling aman untuk digunakan karena tidak beracun. Beberapa penelitian yang melakukan proses ekstraksi tanaman menggunakan pelarut etanol dengan konsentrasi yang berbeda-beda, antara lain Sari et al. (2017), menggunakan pelarut etanol dengan konsentrasi 96% untuk mengekstraksi daun gaharu (*Aquilaria microcarpa* Baill.) dengan lama ekstraksi 24 jam. Nurjanah & Kusnandar (2018), menggunakan pelarut etanol 70% dengan menggunakan lama ekstraksi 24, 48, dan 72 jam untuk mengekstraksi daun kuda-kuda. Yulianti et al. (2014), menggunakan pelarut etanol dengan konsentrasi 80% dan 90% untuk

mengekstraksi daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni M.), dan menyatakan bahwa ekstrak daun stevia dengan perlakuan konsentrasi pelarut etanol 90% dan waktu ekstraksi microwave 90 detik menghasilkan sifat fisik dan kimia terbaik. Calsum et al. (2018), menggunakan pelarut etanol 96% dan waktu maserasi 72 jam untuk mengekstrak batang kayu kuda-kuda.

Penelitian tentang proses maserasi daun kuda-kuda masih terbatas, khususnya daun kuda-kuda yang tumbuh di Kabupaten Bireuen Provinsi Aceh. Penelitian yang telah ada lebih banyak mengeksplorasi proses maserasi kulit batang kuda-kuda, dan menganalisis kandungan senyawa kimianya. Belum banyak penelitian yang secara spesifik mengkaji pengaruh antara konsentrasi etanol dan lama maserasi terhadap karakteristik ekstrak daun kuda-kuda, terutama potensinya sebagai antibakteri dan antioksidan. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi pelarut etanol dan lama maserasi terhadap kadar air, rendemen, total fenol, aktivitas antioksidan, aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, dan uji FTIR ekstrak daun kuda-kuda.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan adalah daun kuda-kuda yang diambil dari Desa Buket Teukuh, Bireuen. Pengambilan daun diambil pada urutan daun ke 3 s.d 6 dari sebelah atas daun. Bahan lainnya adalah etanol, metanol, kultur *Staphylococcus aureus*, kultur *Escherichia coli*, amoksilin, media Mueller Hinton Agar (MHA), natrium klorida (NaCl), DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), asam galat, reagen folin-Ciocalteau, dan Na₂CO₃ (natrium karbonat). Alat-alat yang digunakan antara lain timbangan analitik, erlenmeyer, *beaker glass*, gelas ukur, tabung reaksi, *vacuum rotary evaporator*, *laminar air flow* (LAF) cabinet, autoklaf, cawan petri,

mikropipet, spektrofotometer UV-VIS, dan FTIR (*Fourier Transform Infrared Spectroscopy*).

Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial, dengan faktor I adalah konsentrasi pelarut etanol yang terdiri dari 3 taraf, yaitu 70%, 80%, 90%, dan faktor II adalah lama maserasi yang terdiri dari 24 jam, dan 48 jam. Masing-masing perlakuan menggunakan 4 (empat) kali ulangan sehingga diperoleh 24 perlakuan. Setelah data diperoleh, selanjutnya dianalisis secara statistik dengan ANOVA (*Analysis of Variance*). Apabila hasil analisis menunjukkan pengaruh nyata antar perlakuan, maka dilakukan uji lanjut menggunakan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT).

Prosedur Penelitian

Pembuatan Serbuk Simplisia (Setyorini et al., 2016)

Daun kuda-kuda terlebih dahulu disortasi, kemudian dicuci bersih dan dikeringkan pada suhu ruang atau tanpa terkena sinar matahari secara langsung pada suhu 27-28 °C selama 15 hari menggunakan alas berupa terpal. Setelah kering dilakukan pengecilan ukuran dan diayak dengan menggunakan ayakan 80 mesh dan dihitung kadar airnya, dengan batasan maksimal 10%.

Proses Ekstraksi Daun kuda-kuda (Lestari et al., 2018)

Proses ekstraksi daun kuda-kuda diawali dengan menimbang 250 g simplisia daun kuda-kuda, kemudian diekstraksi secara maserasi menggunakan pelarut etanol sebanyak 1250 ml dengan konsentrasi 70%, 80%, dan 90%. Selanjutnya dimaserasi selama 24 jam dan 48 jam dalam wadah tertutup, lalu disaring. Selanjutnya ekstrak yang diperoleh diuapkan pelarutnya dengan menggunakan *vacuum rotary evaporator* dengan suhu 70 °C

sehingga volume menjadi 50% (Utomo, 2020). Kemudian dihitung persen rendemen menggunakan rumus berikut:

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak yang diperoleh}}{\text{berat awal simplisia}} \times 100\%$$

Analisis Ekstrak Daun Kuda-Kuda

Analisis yang dilakukan terhadap simplisia daun kuda-kuda adalah kadar air (AOAC, 1995), sedangkan analisis terhadap ekstrak kuda-kuda adalah rendemen, total fenol (Indrawati, 2015), aktivitas antioksidan (Wirdata, 2019), aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* (Prayoga, 2013), dan uji FTIR untuk 2 (dua) ekstrak daun kuda-kuda yang diuji menggunakan metode ranking (Rohaeti et al., 2011).

Analisis Data

Data dianalisis secara statistik dengan ANOVA, dan apabila terdapat pengaruh yang nyata atau pengaruh sangat nyata antar perlakuan, maka dilakukan uji lanjut dengan metode *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT).

HASIL DAN PEMBAHASAN

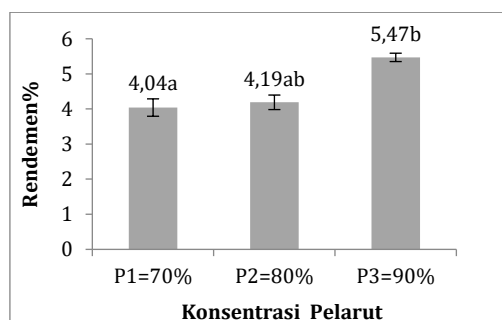
Kadar Air

Kadar air merupakan banyaknya air yang terkandung dalam bahan yang dinyatakan dalam satuan persen. Proses pengeringan bertujuan untuk menurunkan kadar air yang terkandung dalam bahan sehingga tidak mudah ditumbuhi kapang dan jamur serta dapat digunakan dalam jangka waktu yang lama (Rivai et al., 2014). Hasil analisis kadar air daun kuda-kuda yang telah dikeringkan menggunakan suhu ruang 27-28 °C selama 15 hari memiliki kadar air 8,4%. Umumnya simplisia memiliki kadar air <10%, hal ini dapat dilihat dari hasil penelitian-penelitian lain seperti penelitian Yulianingtyas dan Kusmartono (2016) menyatakan bahwa daun belimbing wuluh (*Averrhoa blimbi* L.) yang dikeringkan pada suhu ruang (tanpa cahaya matahari) memiliki kadar air 7,9%. Selanjutnya, penelitian Rivai et

al. (2014), menyatakan bahwa daun sirih hijau (*Piper bettle* L.) kering memiliki kadar air 6,9%. Menurut Farmakope Indonesia kadar air maksimum untuk simplisia adalah 10%.

Rendemen

Rendemen ekstrak dihitung berdasarkan perbandingan berat akhir dengan berat awal yang dikalikan 100%. Nilai rendemen berkaitan dengan banyaknya kandungan kimia yang terkandung dalam ekstrak daun kuda-kuda. Hasil penelitian menunjukkan rendemen ekstrak daun kuda-kuda berkisar antara 3,69% - 5,64% dengan rata-rata 4,57%. Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa konsentrasi etanol berpengaruh sangat nyata terhadap rendemen ekstrak daun kuda-kuda, sedangkan lama maserasi dan interaksi dari konsentrasi etanol dan lama maserasi berpengaruh tidak nyata terhadap rendemen ekstrak daun kuda-kuda. Pengaruh konsentrasi etanol terhadap rendemen ekstrak daun kuda-kuda dapat dilihat pada Gambar 1. Pada Gambar 1 menunjukkan bahwa persentase rendemen ekstrak daun kuda-kuda cenderung meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi etanol yang digunakan.



Gambar 1. Pengaruh konsentrasi etanol terhadap rendemen ekstrak daun kuda-kuda (nilai yang diikuti oleh huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata).

Hasil uji DMRT_{0,05} menunjukkan bahwa rendemen ekstrak daun kuda-kuda dengan menggunakan konsentrasi etanol 70% (4,04%) berbeda nyata dengan rendemen ekstrak kuda-kuda

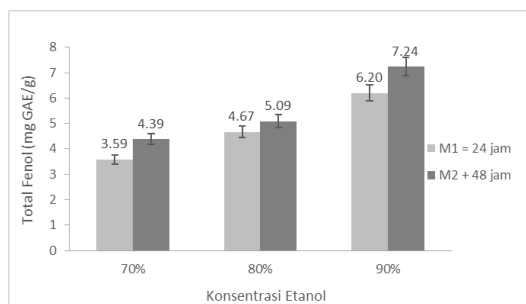
dengan menggunakan konsentrasi etanol 90% (5,47%). Hal ini dikarenakan konsentrasi etanol memengaruhi polaritas etanol yang digunakan. Kesesuaian polaritas pelarut dengan senyawa yang dilarutkan memaksimalkan ekstraksi yang dilakukan. Menurut Rosidah et al. (2017), semakin tinggi konsentrasi pelarut yang digunakan maka semakin rendah tingkat kepolaran pelarut yang digunakan, yang pada akhirnya dapat meningkatkan kemampuan pelarut dalam mengekstraksi senyawa polar pada ekstrak. Konsentrasi pelarut merupakan salah satu faktor yang dapat mempengaruhi hasil rendemen. Penggunaan konsentrasi etanol yang semakin tinggi maka semakin banyak senyawa metabolit yang terekstrak baik bersifat polar maupun semipolar (Prayitno et al., 2018). Pramana (2019) menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi pelarut yang digunakan maka semakin besar kadar yang dapat terekstrak. Hal ini juga dikatakan oleh Chew & Tan (2018) bahwa semakin tinggi konsentrasi etanol maka rendemen ekstrak yang dihasilkan semakin tinggi.

Walaupun etanol bisa mengekstrak senyawa polar dan non-polar karena sifatnya yang amfifilik, yang berarti memiliki gugus polar (-OH) dan gugus non-polar (rantai karbon) dalam molekulnya. Sifat ini memungkinkan etanol untuk berinteraksi dengan baik dengan zat yang memiliki polaritas serupa dan juga beberapa zat yang memiliki bagian polar dan non-polar.

Total Fenol

Senyawa fenol yaitu senyawa yang banyak ditemukan pada tumbuhan yang ditandai dengan adanya cincin aromatik yang mengandung satu atau dua gugus OH. Senyawa fenol berfungsi sebagai antioksidan karena mampu mentransfer atom hidrogen kepada radikal-radikal bebas, sehingga lebih efektif dalam menghambat oksidasi lipid (Vitanti et al., 2016). Hasil analisis total fenol ekstrak daun kuda-kuda berkisar antara 3,59-

7,24 mg GAE/g dengan rata-rata 5,20 mg GAE/g. Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa konsentrasi etanol, lama maserasi, dan interaksi konsentrasi etanol dan lama maserasi berpengaruh sangat nyata ($P \leq 0,01$) terhadap total fenol ekstrak daun kuda-kuda (Gambar 2).



Gambar 2. Pengaruh interaksi konsentrasi etanol dan lama maserasi terhadap total fenol ekstrak daun kuda-kuda (nilai yang diikuti oleh huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata).

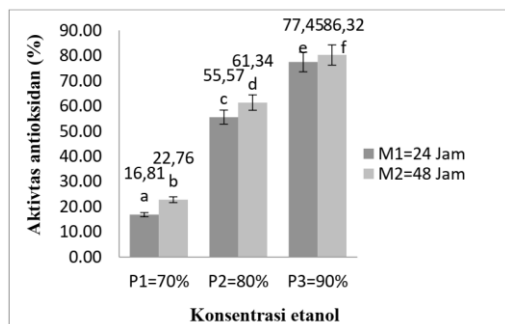
Pada Gambar 2 menunjukkan bahwa nilai total fenol semakin meningkat seiring dengan semakin tinggi konsentrasi etanol yang digunakan dan semakin lama maserasi yang dilakukan. Hasil uji DMRT_{0,05} menunjukkan total fenol tertinggi diperoleh pada perlakuan interaksi konsentrasi pelarut 90% dan lama maserasi 48 jam (P_3M_2) yaitu 7,24 mg GAE/g yang berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Tiwari *et al.* (2011) menyatakan bahwa semakin tinggi total fenol yang diperoleh dengan semakin tingginya konsentrasi pelarut etanol yang digunakan, hal ini disebabkan karena etanol merupakan pelarut yang memiliki gugus hidroksil (OH), dimana gugus ini dapat berikatan dengan ikatan hidrogen intramolekuler pada gugus hidroksil senyawa fenolik.

Faktor lain yang menyebabkan terjadinya peningkatan total fenol disebabkan karena waktu ekstraksi, semakin lama waktu ekstraksi dapat memberikan pengaruh terhadap kemampuan pelarut dalam mengekstrak senyawa yang terlarut. Hal ini dikarenakan proses difusi pelarut ke dalam bahan semakin baik. Ekstraksi

komponen polifenol dari bahan dengan menggunakan pelarut terdiri dari dua tahap yaitu inisiasi dan difusi. Pada tahapan inisiasi, senyawa metabolit dalam sel tanaman dari bahan mengabsorpsi pelarut sehingga partikel mengalami penggelembungan, sedangkan tahapan difusi ditandai dengan berdifusinya pelarut ke bagian yang lebih dalam dan komponen polifenol ikut terekstrak (Prayitno *et al.*, 2018). Hal penelitian ini sejalan dengan penelitian Akhirollah *et al.* (2023) yang menyatakan bahwa konsentrasi etanol tertinggi (90%) dan lama maserasi terlama (72 jam) dengan menggunakan metode maserasi menghasilkan total fenol tertinggi pada ekstrak kulit batang cempedak. Hasil Penelitian ini sejalan dengan penelitian Yasa *et al.* (2019) yang menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi pelarut pada ekstraksi daun sirih merah menggunakan metode *Microwave Assisted Extraction* (MAE) maka semakin tinggi juga total fenol yang didapatkan pada ekstrak daun sirih merah.

Aktivitas Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang mampu menunda atau mencegah terjadi oksidasi dari substrat yang mudah teroksidasi (Asrita, 2013). Hasil analisis aktivitas antioksidan ekstrak daun kuda-kuda berkisar antara 16,81% - 80,23% dengan rata-rata 53,39%. Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa interaksi konsentrasi etanol dan lama maserasi berpengaruh sangat nyata terhadap aktivitas antioksidan ekstrak daun kuda-kuda (Gambar 3), sedangkan konsentrasi pelarut dan lama maserasi berpengaruh tidak nyata terhadap aktivitas antioksidan ekstrak daun kuda-kuda.



Gambar 3. Pengaruh interaksi konsentrasi etanol dan lama maserasi terhadap aktivitas antioksidan ekstrak daun kuda-kuda (nilai yang diikuti oleh huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata)

Uji DMRT_{0,05} (Gambar 3) menunjukkan bahwa persen hambatan DPPH tertinggi diperoleh pada perlakuan interaksi konsentrasi etanol 90% dan lama maserasi 48 jam (86,32%) yang berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Semakin tinggi konsentrasi etanol yang digunakan dan semakin lama maserasi yang dilakukan maka persen hambatan DPPH semakin tinggi. Hal ini disebabkan karena adanya waktu kontak yang terjadi antar bahan dengan pelarut. Semakin lama kontak yang terjadi dapat mengakibatkan semakin tinggi kelarutan senyawa aktif (Prayitno et al., 2018). Yasa dan Putra (2019), menyatakan bahwa konsentrasi etanol 90% menghasilkan aktivitas antioksidan tertinggi pada ekstrak daun sirih merah. Aktivitas antioksidan dipengaruhi oleh meningkatnya total fenol dan flavonoid pada bahan, sehingga semakin tinggi total fenol dan flavonoid yang didapatkan maka akan semakin tinggi aktivitas antioksidannya. Berdasarkan hasil penelitian Tonahi et al., (2014) terhadap aktivitas antioksidan ekstrak daun sirih merah dengan menggunakan pelarut etanol 90% dan metode ekstraksi maserasi selama 48 jam, rata-rata aktivitas antioksidan yang diperoleh yaitu 72,24%.

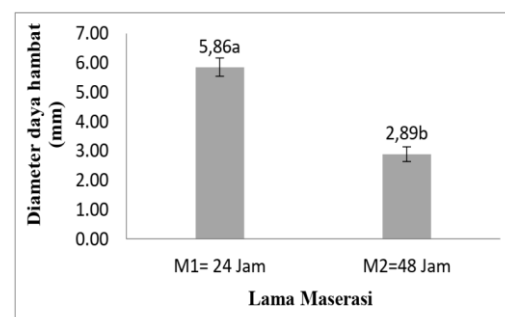
Aktivitas Antibakteri

Antibakteri merupakan zat yang dapat menghambat pertumbuhan

bakteri (Maharani et al., 2016). Uji aktivitas antibakteri dalam penelitian ini dilakukan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan menggunakan metode difusi cakram. Kemampuan penghambatan antibakteri dapat dilihat dari ada atau tidaknya diameter zona bening di sekitar cakram yang berisi ekstrak yang diuji, yang diukur menggunakan jangka sorong. Kontrol positif digunakan amoksisilin, sedangkan kontrol negatif digunakan etanol.

Staphylococcus aureus

Hasil penelitian menunjukkan bahwa diameter daya hambat ekstrak kuda-kuda terhadap bakteri *S. aureus* berkisar antara 2,12-6,80 mm dengan rata-rata 4,37 mm. Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa lama maserasi berpengaruh nyata terhadap penghambatan *S. aureus* (Gambar 4), sedangkan konsentrasi etanol serta interaksi konsentrasi etanol dan lama maserasi berpengaruh tidak nyata terhadap penghambatan *S. aureus*.



Gambar 4. Pengaruh lama maserasi terhadap aktivitas antibakteri *S. aureus* (nilai yang diikuti oleh huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata)

Menurut Jannah et al. (2023), senyawa metabolit sekunder pada daun kayu jawa (*Lannea coromandelica*) seperti alkaloid, flavonoid, tannin, saponin, steroid/triterpenoid, dan glikosida, baik dalam bentuk simplisia maupun ekstrak etanolnya, yang berpotensi sebagai agen antibakteri, dengan kemampuan hambat yang bervariasi. Daya hambat ekstrak daun

kayu jawa dengan konsentrasi 20% dengan diameter zona hambat 5,75 mm dan meningkat signifikan menjadi 11,75 mm pada konsentrasi 80%.

Davis dan Stout (1971) di dalam Rahmawati et al. (2018), menyatakan bahwa kriteria daya hambat antibakteri sebagai berikut: daya hambat lemah (zona hambat < 5 mm), daya hambat sedang (zona hambat 5-10 mm), daya hambat kuat (zona hambat 10-20 mm), dan daya hambat sangat kuat (zona hambat > 20 mm). Gambar 4 menunjukkan bahwa daya hambat pada lama maserasi 24 jam lebih tinggi yaitu 5,86 mm dibandingkan dengan daya hambat dengan lama maserasi 48 jam yaitu 2,89 mm. Hasil ini berbanding terbalik dengan rendemen yang diperoleh, dimana semakin lama waktu maserasi semakin meningkat jumlah rendemen yang diperoleh. Hal ini kemungkinan disebabkan karena tidak semua komponen yang terekstrak adalah senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri, dan degradasi senyawa bioaktif yang terjadi akibat proses maserasi yang terlalu lama. Senyawa bioaktif yang berperan sebagai agen antibakteri, seperti flavonoid, fenolik, dan tanin, seringkali tidak stabil. Meskipun maserasi berhasil mengekstraknya, paparan pelarut, oksigen, cahaya, atau suhu ruangan dalam jangka waktu yang terlalu lama dapat menyebabkan senyawa-senyawa ini teroksidasi, terhidrolisis, atau mengalami perubahan kimia lainnya. Proses degradasi ini merusak struktur kimia senyawa tersebut, sehingga mereka kehilangan kemampuannya untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Akibatnya, meskipun rendemen (jumlah total ekstrak) meningkat, persentase senyawa aktif yang masih utuh dan fungsional justru menurun.

Kontrol negatif yang digunakan yaitu etanol, menunjukkan tidak adanya zona hambat, sedangkan kontrol positif (amoksisilin 20%) menunjukkan penghambatan terhadap *S. aureus* dengan zona hambat 37,2 mm. Diameter daya hambat amoksisilin lebih besar

dibandingkan dengan daya hambat ekstrak daun kuda-kuda, hal ini dikarenakan amoksisilin memiliki senyawa-senyawa kimia yang lebih kuat dibandingkan ekstrak daun kuda-kuda dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*. Mekanisme kerja dari amoksisilin yaitu dengan menghambat biosintesis dari mukopeptida dinding sel bakteri (Trisia *et al.*, 2018). Adanya daya hambat dikarenakan adanya senyawa aktif yang berfungsi sebagai antibakteri sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri yang sehingga menghasilkan zona hambat atau disebut juga sebagai zona bening.

Escherichia Coli

Hasil penelitian menunjukkan bahwa diameter daya hambat ekstrak daun kuda-kuda terhadap bakteri *E. Coli* berkisar antara 8,3 - 10,3 mm dengan rata-rata 9,26 mm. Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa konsentrasi etanol, lama maserasi, dan interaksi konsentrasi etanol dan lama maserasi berpengaruh tidak nyata terhadap bakteri *E. Coli*.

Husain et al. (2019) melaporkan bahwa kulit batang kayu jawa (*Lannea coromandelica*) mengandung senyawa golongan karbohidrat, steroid, alkaloid, glikosida jantung, terpenoid, tanin dan flavonoid. Hasil penelitian Taufiq et al. (2023), menunjukkan bahwa daya hambat ekstrak etanol kulit batang kayu jawa pada konsentrasi 2% terhadap *E. coli* adalah 1 mm, sedangkan daya hambat kontrol positif (kloromfenikol) menghasilkan diameter zona hambat sebesar 23,7 mm.

Secara umum, dalam konteks pengujian aktivitas antibakteri menggunakan ekstrak tanaman atau senyawa antimikroba alami, sering ditemukan bahwa daya hambat terhadap *S. aureus* (bakteri Gram positif) cenderung lebih besar daripada *E. coli* (bakteri Gram negatif). Namun, dalam penelitian ini diperoleh hasil bahwa daya hambat ekstrak daun kuda-kuda terhadap bakteri *E. coli* lebih besar dibandingkan terhadap bakteri *S. aureus*. Hal ini dapat terjadi sangat tergantung

pada jenis agen antibakteri atau ekstrak yang diuji.

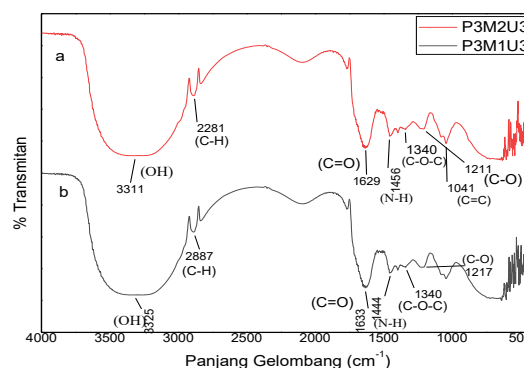
Menurut Apriliana (2018), aktivitas antibakteri ekstrak daun jarak pagar (*Jatropha curcas* Linn), lebih efektif terhadap bakteri Gram negatif lebih baik dibandingkan dengan Gram positif. Hal ini dipengaruhi oleh senyawa aktif dalam ekstrak daun jarak pagar (kemungkinan bersifat lebih polar) yang memiliki mekanisme khusus untuk menembus atau merusak membran luar bakteri Gram negatif.

Uji Rangkings

Uji ranking dilakukan bertujuan untuk menentukan perlakuan terbaik dari ekstrak daun kuda-kuda. Nilai perankingan berdasarkan parameter analisis yang dilakukan terhadap ekstrak daun kuda-kuda, yaitu rendemen, total fenol, aktivitas antioksidan, dan aktivitas antibakteri (*S. aureus* dan *E. coli*). Total nilai tertinggi dari hasil perankingan merupakan perlakuan terbaik. Ekstrak daun kuda-kuda yang memiliki total nilai tertinggi (ranking 1) adalah yang di maserasi menggunakan pelarut etanol 90% dengan waktu maserasi 48 jam, dan ranking 2 adalah ekstrak kuda-kuda yang di maserasi menggunakan pelarut etanol 90% dengan waktu maserasi 24 jam.

Analisis FTIR

Analisis *Fourier Transform Infra-Red* (FTIR) bertujuan untuk mengetahui senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak daun kuda-kuda. Analisis FTIR dilakukan hanya pada 2 (dua) sampel ekstrak daun kuda-kuda yang merupakan ranking 1 dan 2 hasil uji ranking, yaitu ekstrak daun kuda-kuda yang di maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 90% dengan waktu maserasi 48 jam dan 24 jam. Hasil analisis FTIR dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Hasil pengujian FTIR ekstrak daun kuda-kuda dengan konsentrasi etanol 90% dan lama maserasi 24 jam (a) dan 48 jam (b)

Berdasarkan Gambar 5 (a) dan (b) menunjukkan bahwa gugus fungsi yang dimiliki oleh ekstrak daun kuda-kuda yaitu gugus O-H pada panjang gelombang 3311 cm^{-1} dan 3325 cm^{-1} yang berada pada daerah (3000-3750 cm^{-1}), gugus C-H pada panjang gelombang 2281 cm^{-1} dan 2887 cm^{-1} pada daerah (2600- 3000 cm^{-1}), gugus C=O pada panjang gelombang 1629-1633 cm^{-1} pada daerah (1500-1800 cm^{-1}), gugus N-H pada panjang gelombang 1456-1444 cm^{-1} pada daerah (1400-1500 cm^{-1}), gugus C-O-C pada panjang gelombang 1340 cm^{-1} pada daerah (1300-1400 cm^{-1}), gugus C=C pada panjang gelombang 1041 cm^{-1} pada daerah (900-1000 cm^{-1}), gugus C-O pada panjang gelombang 1211 cm^{-1} dan 1217 cm^{-1} pada daerah (1100-1300 cm^{-1}), dan gugus C=C pada panjang gelombang 1041 cm^{-1} pada daerah (900-1000 cm^{-1}). Dari gugus fungsi yang diidentifikasi dari ekstrak daun kuda-kuda menunjukkan bahwa ekstrak daun kuda-kuda memiliki senyawa alkaloid, flavonoid, fenol, terpenoid, saponin dan tanin.

Berdasarkan penelitian Aksara et al. (2013), senyawa alkaloid memiliki karakter gugus fungsi yaitu N-H, C-H alifatik, C-O, dan C-N. Sedangkan gugus fungsi O-H, C-H alifatik, C-H aromatik, C=O, C=C aromatik, dan C-O-C merupakan senyawa dari flavonoid (Nuari et al., 2019). Senyawa fenol ditandai dengan adanya gugus O-H, dugaan ini diperkuat dengan adanya serapan pada bilangan gelombang 2281

cm⁻¹ dan 2887 cm⁻¹ yang merupakan gugus C-H alifatik pada daerah (2600-3000 cm⁻¹) (Silverstain et al., 2005 *di dalam* Maharani et al., 2016). Menurut Jayanti et al., 2012 *di dalam* Atmoko et al., 2018), menyatakan bahwa senyawa yang memiliki gugus fungsi hidroksi O-H, C-O, C-H alifatik, C=C dan C=O diidentifikasi sebagai senyawa terpenoid. Kandungan senyawa saponin teridentifikasi mengandung gugus fungsi O-H, C-H alifatik, C=O, dan C-O (Bintoro et al., 2017). Kandungan senyawa tanin ditandai dengan adanya gugus O-H, C-H alifatik, C=O ester, C=C aromatik, C-O-H, dan C-O-C eter (Sari et al., 2015).

KESIMPULAN

Semakin tinggi konsentrasi etanol yang digunakan maka semakin tinggi rendemen yang didapatkan. Aktivitas antibakteri ekstrak daun kuda-kuda terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* masih lebih rendah dibandingkan dengan aktivitas antibakteri kontrol yang digunakan (amoksisilin). Ekstrak daun kuda-kuda yang dimaserasi menggunakan pelarut etanol 90% dan lama maserasi 48 jam memiliki aktivitas antioksidan tertinggi, yaitu 86,39% dan total fenol tertinggi yaitu 7,24 mg GAE/g. Analisis FTIR menunjukkan bahwa pada ekstrak daun kuda-kuda mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, terpenoid, saponin, dan tanin.

DAFTAR PUSTAKA

- Akhirolloh M. Y., Widyasarputra R., Adisetya E. 2023. Pengaruh Konsentrasi Pelarut dan Lama Perendaman terhadap Hasil Ekstraksi Kulit Batang Cempedak Kaya Antioksidan. *Agroforetech*. 1(2): 1124-1131.
- Aksara, R., Musa, W. J. A., Alio, L. 2013. Identifikasi Senyawa Alkaloid dari Ekstrak Metanol Kulit Batang Mangga (*Mangifera indica* L.). *Jurnal Entropi*. 3(1): 1-6.
- Amelinda, E., Widarta, I. W. R., Darmayanti, L. P. T. 2018. Pengaruh Waktu Maserasi Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*. 7(4): 165-174.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemistry). 1995. Official Methods of Analysis of AOAC International. Sixteenth Edition, 5th Revision, 1999. USA: AOAC Inc.
- Apriliana, E., Ramafhian, M. R., Warganegara. E., Hasibuan. S. A. 2018. Perbandingan Daya Hambat Ekstrak Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* Linn) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* secara in Vitro. *Jurna Agromecine Unila*. 5(2): 556-561.
- Asrita, M. 2013. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 80% dan 96% Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.). *Jurnal Ilmiah*. (2(2): 1-9.
- Atmoko, D. P., Marlianna, E., Erwin. 2018. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Terpenoid dari Daun *Macaranga beccariana* (Merr.). *Jurnal Kimia*. 16(1): 22-26.
- Azwanida, N. N. 2015. A Review on The Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength And Limitation. *Medical and Aromatic Plants*. 4(3): 1-13.
- Bintoro, A., Ibrahim, A. M., Situmeang, B. 2017. Analisis dan Identifikasi Senyawa Saponin dari Daun Bidara (*Zhizipus mauritania* L.). *Jurnal Itekima*. 2(1): 84-94.
- Calsum, U., Khumaidi, A., Khaerati, K. 2018. Aktivitas Ekstrak Etanol Kulit Batang Kayu Jawa (*Lannea coromandelica*) Terhadap Penyembuhan Luka Sayat pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.). *Jurnal Farmasi Galenika*. 4(2): 113-118.
- Chew, K. W., Tan, C. P. 2018. Principles and Practices of Natural Product Extraction. Springer.
- Jannah M., Nasution H. M., Nasution P., Rahayu Y. P. 2023. Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kayu Jawa (*Lannea coromandelica*)

- (Houtt) Merr Terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*. Journal of Pharmaceutical and Sciences 6(4): 1686-1692.
- Indrawati, D. 2015. Aktivitas Antioksidan dan Total Fenol Seduhan Teh Herbal Daun Pacar Air (*Impatiens balsamina* L.) dengan Variasi Metode Pengeringan dan Konsentrasi. Skripsi. Fakultas Keguruan dan Ilmu Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.
- Kumoro, A. C., Hastuti, S. 2020. Teknik Ekstraksi Senyawa Bioaktif dari Bahan Alam. Penerbit Andi.
- Lestari, D. M., Mahmudati, N., Sukarsono., Nurwidodo., Husamah. 2018. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Fenol Daun Gayam (*Inocarpus fagiferus* Fosb). Jurnal Biosfera. 35(1): 37-43.
- Maharani, T., Sukandar, D., Hermanto, S. 2016. Karakterisasi Senyawa Hasil Isolasi dari Ekstrak Etil Asetat Daun Namnam (*Cynometra cauliflora* L.) yang Memiliki Aktivitas Antibakteri. Jurnal Penelitian dan Pengembangan Ilmu Kimia. 2(1): 55-62.
- Nuari, F. A., Marliana, E., Daniel. 2019. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Flavonoid Fraksi Asetat Daun *Mancaranga hosei*. Jurnal Atomik. 4(1): 17-20.
- Nurjanah, S., Kusnandar, M. 2018. Studi Ekstraksi Daun Gaharu (*Aquilaria malaccensis*) Menggunakan Metode Maserasi. Jurnal Farmasi Indonesia. 5(2): 45-52.
- Pramana, N. S., Putu, W., Nyoman, S. 2019. Pengaruh lama maserasi dan konsentrasi etanol terhadap kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*). Jurnal Kimia, 13(1), 12-19.
- Prayitno, S. A., Kusnadi, J., Murtini, E. S. 2018. Karakteristik (Total Flavonoid, Total Fenol, Aktivitas Antioksidan) Ekstrak Serbuk Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz dan Pav.). Foodscitech. 1(2): 26-34.
- Prayoga, E. 2013. Perbandingan Efek Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) dengan Metode Difusi Disk dan Sumuran terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. Skripsi. Program Studi Pendidikan Dokter. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Priya, T., Balasubramanian, S., Suganya, S. 2018. Antimicrobial Activity of Leaf Extracts of *Lannea coromandelica*. International Journal of Research in Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 3(2): 1-3.
- Rahmawati, N., Sudjarwo, E., Widodo, E. 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Herbal terhadap Bakteri *Escherichia Coli*. Jurnal Ilmu Peternakan. 24(2): 24-31.
- Reddy, K. A. G., Joy, J. M. 2011. Pharmacological Investigations on The Standardized Leaf Extracts of *Lannea Coromandelica* (Houtt.) Merr. International Journal of Pharmacy Practice and Drug Reasearch. 1(1): 14-20.
- Rivai, H., Nanda, P. E., Fadhilah, H. 2014. Pembuatab dan Karakterisasi Ekstrak Kering Daun Sirih Hijau (*Piper bettle* L.). Jurnal Farmasi Higea. 6(2): 133-144.
- Rohaeti, E., Heryanto, R., Rafi, M., Wahyuningtyas, A., Darusman, L. K. 2011. Prediksi Kadar Flavonoid Total Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) Menggunakan Kombinasi Spektroskopi IR dengan Regresi Kuadrat Terkecil Parsial. Jurnal Kimia. 5(2): 101-108.
- Rosidah, I., Zainuddin., Mufidah, R., Bahua, H., Saprudin, M. 2017. Optimasi Kondisi Ekstraksi Senyawa Total Fenolik Buah Labu Siam (*Sechium edule* (Jacq. SW.) Menggunakan Response Surface Methodology. Jurnal Media Litbangkes. 27(2): 79-88.

- Sari, R., Muhani, M., Fajriaty, I. 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Graharu (*Aqualaria microcarpa* Baill.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Proteus mirabilis*. Jurnal Pharmaceutical Sciences and Research. 4(3): 143-154.
- Setyorini, H. A., Kurniatri, A. A., Adelina, R., Winnarsih. 2016. Karakteristik Mutu Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dari Tiga Tempat Tumbuh. Buletin Penelitian Kesehatan. 44(4): 279-286.
- Taufiq N., Sulfiani 1, Sugrani A., Faradila D S. 2023. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Batang Kayu Jawa (*Lannea coromandelica*) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Jurnal Penelitian Farmasi Indonesia 12(1): 37-41.
- Tonahi, J. M. M., Nuryanti, S., Suherman. 2014. Antioksidan dari Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*). Jurnal Akademika Kimia. 3(3): 158-164.
- Trisia, A., Philyria, R., Toemon, A. N. 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kalanduyung (*Guazoma ulmifolia* Lam.) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan Metode Difusi Cakram (Kirby-Bauer). Anterior Jurnal. 17(2): 136-143.
- Wahyuningtyas, S. E. P., Permana, D. G. M., Wiadnyani, A. A. I. S. 2017. Pengaruh Jenis Pelarut terhadap Kandungan Senyawa Kurkumin dan Aktivitas Ekstrak Kunyit (*Curcuma domestica* Val.). Jurnal ITEPA. 6(2): 61-70.
- Wirdata, I. W. R., Arnata, I. W. 2017. Ekstraksi Komponen Bioaktif Daun Alpukat Dengan Bantuan Ultrasonik pada Berbagai Jenis dan Konsentrasi Pelarut. Jurnal Agritech. 37(2): 148-157.
- Yulianingtyas, A., Kusmartono, B. 2016. Optimasi Volume Pelarut dan Waktu Maserasi Pengambilan Flavonoid Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa blimbi* L.). Jurnal Teknik Kimia. 10(2): 58-64.
- Yulianti, D., Susilo, B., Yulianingsih, R. 2014. Pengaruh Lama Ekstraksi dan Konsentrasi Pelarut Etanol terhadap Sifat Fisika-Kimia Ekstrak Daun Stevia (*Stevia rebaudiana* BertoniM.) dengan Metode *Microwave Assisted Extraction* (MAE). Jurnal Bioproses Komoditas Tropis. 2(1): 35-42.
- Vitanti, T. A. P., Kawiji., Nurhardati, E. 2016. Pengaruh Metode Ekstraksi Oleoresin Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) dengan Pengeringan Solar Drayer terhadap Kadar Kurkuminoid, Total Fenol dan Aktivitas Anntioksidan. 14(1): 1-9.
- Yasa, I. G. T., Putra, N. K. 2019. Pengaruh Konsentrasi Etanaol terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruitz.) Menggunakan Metode *Microwave Assisted Extraction* (MAE). Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan. 8(3): 278-284.