



Evaluasi Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Gatal (*Laportea interrupta* dan *Laportea aestuans*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* Menggunakan Metode Difusi Cakram dan Bioautografi

Jenita Kambu, Marita Kaniawati, Idar Idar*

Fakultas Farmasi, Universitas Bhakti Kencana, Jl. Soekarno-Hatta No.754, Bandung, Jawa Barat 40614

*Alamat email penulis koresponden: idar@bku.ac.id

Abstrak

Laportea interrupta dan *Laportea aestuans*, dikenal sebagai daun gatal, merupakan tanaman asli Papua yang digunakan secara tradisional untuk meredakan nyeri dan pegal melalui aplikasi topikal. Tanaman ini mengandung berbagai senyawa metabolit sekunder, termasuk flavonoid, fenolik, saponin, tanin, alkaloid, dan terpenoid, yang diduga memiliki potensi antibakteri. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi aktivitas antibakteri ekstrak etanol kedua spesies terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* menggunakan metode difusi cakram dan bioautografi. Uji difusi cakram menunjukkan bahwa zona hambat yang terbentuk tergolong lemah (<5 mm) pada sebagian besar konsentrasi uji. Sementara itu, uji KLT-bioautografi mengindikasikan keberadaan senyawa metabolit sekunder yang berpotensi berperan dalam aktivitas antibakteri, meskipun tidak disertai pembentukan zona hambat yang signifikan pada media uji. Hasil ini menunjukkan bahwa meskipun ekstrak etanol daun gatal memiliki kandungan fitokimia yang relevan, aktivitas antibakteri langsungnya terhadap kedua bakteri uji masih rendah, sehingga diperlukan penelitian lanjutan untuk isolasi senyawa aktif dan optimasi metode ekstraksi.

Kata kunci: antibakteri, KLT bioautografi, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, herba daun gatal

PENDAHULUAN

Daun gatal merupakan tanaman asli Papua tersebar luas mulai dari daerah pantai hingga pegunungan dan telah dipergunakan secara empiris oleh masyarakat lokal sebagai obat antinyeri (Simaremare dkk., 2014). Tanaman ini merupakan tanaman yang bentuk daunnya bergerigi dan memiliki bulu-bulu halus di sepanjang daun dan batang, ada yang daunnya berbentuk lebar dan ada pula yang kecil, namun penggunaannya sama, yaitu diusap-usapkan atau digosok pada bagian yang nyeri dengan tingkat kesakitan yang tinggi serta pada bagian yang terasa capek atau pegal (Simaremare dkk., 2017). Setiap daun gatal dengan genus yang berbeda memiliki efek iritan atau antinyeri yang berbeda (Simaremare dkk., 2015).

Beberapa penelitian di Indonesia yang sudah dilakukan dengan tanaman daun gatal yaitu pengujian data farmakognosi pada spesies daun gatal (Tualeka, 1986). *Laportea decumana* memiliki kandungan kimia seperti flavonoid, saponin, dan tanin, yang mempunyai aktivitas sebagai analgesik, antiinflamasi, dan antikoagulan (Simaremare et al., 2018; Simaremare et al., 2019). Adapun senyawa aktif yang berasal dari tanaman *Laportea aestuans* adalah *essential oils*, chalcone (flavonoid), isoflavon, alkaloid, dan

triterpenoid (turunan flavonoid) yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan dan antikanker (Oloyede & Ayanbadejo, 2014; Oloyede, 2016).

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram-positif berbentuk bulat berdiameter 0,7–1,2 μm , biasanya tersusun bergerombol tak teratur (Mustapa, 2017). Bakteri ini tahan terhadap pengeringan dan panas, mampu bertahan pada suhu 50°C selama 30 menit serta tetap hidup dalam debu dan makanan kering yang dibekukan (Abrar *et al.*, 2012). *Escherichia coli* adalah bakteri Gram-negatif berbentuk batang berdiameter 0,25–1,0 μm . *E. coli* merupakan bakteri fakultatif anaerob yang umumnya hidup di usus manusia, beberapa strain bersifat patogen dan dapat menyebabkan penyakit (Koch, 1982). Kedua bakteri ini merupakan penyebab umum infeksi, di mana *S. aureus* dapat menyebabkan penyakit seperti pneumonia, meningitis, atau sepsis, sedangkan *E. coli* sering menjadi agen infeksi saluran kemih, enterokolitis, dan sepsis pada bayi baru lahir atau individu rentan.

Pencarian senyawa antibakteri yang baru sedang banyak dikerjakan oleh peneliti dunia di bidang etnofarmakologi (Rios & Recio, 2005). Daun gatal memiliki potensi yang tinggi untuk digunakan sebagai bahan obat karena banyaknya senyawa fitokimia yang dikandungnya. Oleh karena itu, penelitian lebih lanjut tentang antibakteri dapat dilakukan dengan mengevaluasi aktivitas antibakteri daun gatal terhadap *S. aureus* dan *E. coli*.

Berdasarkan uraian tersebut, maka perlu dilakukan suatu penelitian mengenai perbandingan aktivitas antibakteri khususnya pada dua jenis daun gatal, yaitu *Laportea interupta* dan *L. aestuans*, yang berasal dari Kampung Kambuskato Distrik Ayamaru Timur Selatan Kabupaten Maybrat terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Selain itu, metode bioautografi dapat digunakan untuk memisahkan senyawa menggunakan plat KLT sebelum ditempelkan ke media agar yang telah berisi bakteri. Untuk kontrol positif digunakan tetrasiklin, karena tetrasiklin memiliki kemampuan melawan sejumlah besar patogen, termasuk *S. aureus* dan *E. coli*, sehingga menyebabkan kematian sel bakteri.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan antara lain wadah kaca gelap, cawan petri, mikropipet, autoklaf, jangka sorong, timbangan analitik, pembakar bunsen, pinset, kawat ose, hot plate, plat KLT, lemari pendingin, dan *Bioafety Cabinet* (BSC).

Bahan yang digunakan yaitu daun gatal (*L. interupta* dan *L. aestuans*), larutan etanol 96%, aquades, DMSO, kertas saring, tetrasiklin (antibiotik pembanding), dan media nutrient agar (NA). *S. aureus* digunakan sebagai bakteri uji yang mewakili bakteri Gram positif, dan *E. coli* mewakili Gram negatif.

Pengolahan dan Pembuatan Ekstrak Herba Daun Gatal

Daun gatal (*L. interupta* & *L. aestuans*) yang telah dikumpulkan dibersihkan menggunakan air mengalir untuk menghilangkan kotoran atau benda asing yang melekat. Selanjutnya, daun dirajang lalu diangin-anginkan pada tempat yang terlindung dari

Kambu dkk., Evaluasi Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Gatal (*Laportea interrupta* dan *Laportea aestuans*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* Menggunakan Metode Difusi Cakram dan Bioautografi

cahaya matahari langsung. Setelah kering, daun diekstraksi menggunakan metode maserasi.

Proses maserasi dilakukan dengan menimbang serbuk kering daun gatal sebanyak 100 g, kemudian dimasukkan ke dalam gelas kimia dan ditambahkan etanol 96% dengan perbandingan bahan dan pelarut 1:10. Perendaman dilakukan selama tiga hari, dengan pengadukan setiap 6 jam pada hari pertama dan dibiarkan selama 18 jam berikutnya. Setelah 24 jam, larutan disaring untuk memisahkan filtrat dan ampas, lalu ampas dimaserasi kembali menggunakan pelarut etanol 96%. Filtrat yang diperoleh kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* untuk memisahkan pelarut dari ekstrak, menghasilkan ekstrak pekat. Ekstrak pekat selanjutnya diuapkan kembali menggunakan penangas air hingga mencapai konsistensi yang diinginkan.

Penetapan Parameter Simplisia dan Ekstrak (Kemenkes RI, 2017)

Kadar air

Sebanyak 2 g sampel dilakukan destilasi azeotrop menggunakan toluena. Volume air hasil destilasi awal dan akhir dicatat. Kadar air dihitung dengan persamaan (1).

$$\% \text{Kadar Air} = \frac{\text{Volume awal} - \text{Volume akhir}}{\text{Bobot simplisia}} \times 100\% \dots (1)$$

Kadar abu total

Sebanyak 2 g sampel dimasukkan ke krus silikat bertara, dipijarkan hingga arang habis, didinginkan, dan ditimbang. Jika masih terdapat arang, dilakukan penyaringan dengan kertas saring bebas abu, kemudian residu dipijarkan kembali hingga bobot konstan ($800 \pm 25^\circ\text{C}$). Persentase abu total dihitung dengan persamaan (2)

$$\% \text{ Abu total} = \frac{\text{Berat abu total} - \text{berat krus kosong}}{\text{Bobot simplisia}} \times 100\% \dots (2)$$

Kadar abu tidak larut asam

Abu total direfluks dengan 25 ml HCl encer selama 5 menit, disaring dengan kertas saring bebas abu, residu dicuci dengan air panas dan dipijarkan hingga bobot konstan ($800 \pm 25^\circ\text{C}$). Kadar abu tidak larut asam dihitung dengan persamaan (3).

$$\% \text{ Abu tidak larut asam} = \frac{\text{Bobot abu} - \text{Bobot kurs kosong}}{\text{Bobot simplisia}} \times 100\% \dots (3)$$

Kadar sari larut air

Sebanyak 2 g sampel diekstraksi dengan 100 ml air jenuh kloroform (dikocok 6 jam pertama, didiamkan 18 jam), disaring, dan 20 ml filtrat diuapkan hingga kering pada 105°C sampai bobot konstan. Kadar sari larut air dihitung dengan persamaan (4).

$$\% \text{ Sari larut air} = \frac{(\text{Bobot}_{\text{cawan+sari}} - \text{Bobot}_{\text{cawan kosong}})}{\text{Bobot}_{\text{simplisia}}} \times \frac{\text{Volume pelarut}}{\text{Volume diuapkan}} \times 100\% \dots (4)$$

Kadar sari larut etanol

Metode sama seperti sari larut air, namun menggunakan 100 ml etanol sebagai pelarut. Rumus perhitungan sama seperti kadar sari larut air.

Susut pengeringan

Sebanyak 2 g sampel dimasukkan ke dalam *moisture balance* pada 105°C hingga bobot konstan. Hasil dinyatakan sebagai persentase kehilangan bobot.

Skrining Fitokimia (Harborne, 1998)

Uji flavonoid

Ekstrak etanol diuji untuk keberadaan flavonoid dengan menambahkan bubuk magnesium, asam klorida pekat, dan amil alkohol. Reaksi positif ditandai oleh terbentuknya warna merah tua (hingga oranye-merah) pada lapisan amil alkohol, yang menunjukkan adanya flavonoid.

Uji Alkaloid

Uji Dragendorff Test: Ekstrak ditambahkan pereaksi Dragendorff, lalu ditambah dengan HCl pekat dan aquadest. Terbentuk endapan jingga hingga oranye yang menunjukkan hasil positif (+) untuk alkaloid.

Wagner Test: Ekstrak dicampur dengan H₂SO₄ encer, kemudian ditambah pereaksi Wagner. Muncul endapan coklat atau merah-coklat menandakan adanya alkaloid (+)

Uji Saponin

Ekstrak diuji keberadaan senyawa saponin dengan metode foam test: ditambahkan aquadest panas, kemudian ditambahkan HCl sebelum dikocok kuat. Jika terbentuk banyak buih yang stabil dan konsisten, menunjukkan hasil positif (+) untuk saponin.

Uji Tanin

Ekstrak diuji keberadaan tanin menggunakan reaksi Liebermann–Burchard: ekstrak dilarutkan dalam asam asetat anhidrat, kemudian ditambahkan H₂SO₄ pekat. Terbentuknya warna biru kehijauan menunjukkan hasil positif (+) adanya tanin.

Uji Terpenoid

Ekstrak diuji keberadaan terpenoid dengan metode Salkowski: ekstrak dilarutkan dalam kloroform, kemudian ditambahkan secara perlahan asam asetat anhidrat dan H₂SO₄ pekat melalui dinding tabung. Terbentuk cincin berwarna coklat atau coklat kemerahan di perbatasan dua lapisan menunjukkan hasil positif (+) adanya terpenoid.

Metode Uji Aktivitas Antibakteri

Uji difusi cakram

Media Nutrient Agar disterilkan, inokulum bakteri distandarkan ke kekeruhan McFarland 0,5 (~10⁸ CFU/mL), dan tetesi cakram kertas steril dengan 10 µL ekstrak (20–50 %) dalam DMSO (<5 %). Kontrol negatif menggunakan NA, kontrol positif menggunakan tetrasiklin. Suspensi bakteri disebarkan ke NA cair pada cawan petri (~15–20 mL), biarkan memadat. Cakram ditempelkan dan diinkubasi pada 37 °C selama 24 jam. Diameter zona hambat (mm) diukur menggunakan jangka sorong.

Metode bioautografi

Ekstrak ditotol pada pelat KLT (2 × 7 cm), kemudian dikembangkan pada sistem *n*-hexan: etil asetat (7:3). Setelah kering, visualisasi noda menggunakan sinar UV 254 dan 366 nm, serta hitung nilai Rf. Lempeng dengan pemisahan komponen terbaik dipilih, lalu ditempelkan di atas agar NA yang diinokulasi dengan 0,5 mL suspensi bakteri (dan media ~15 mL), biarkan kontak selama 30–60 menit aseptis, kemudian dilepas dan diinkubasi pada 37 °C selama 24 jam. Zona hambat muncul pada area kontak lempeng. Posisi noda aktif memberikan hambatan pertumbuhan bakteri, dihitung nilai Rf untuk komponen yang aktif

HASIL DAN PEMBAHASAN

Proses ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi dingin dengan pelarut etanol 96% dan perbandingan bahan : pelarut sebesar 1:10 selama tiga hari. Pengadukan dilakukan secara berkala untuk meningkatkan kontak antara serbuk tanaman dan pelarut. Setelah fase perendaman selesai, filtrat kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu sekitar 50–60 °C hingga diperoleh ekstrak cair yang agak kental. Selanjutnya, ekstrak ini dikesatkan menggunakan penangas air hingga mencapai konsistensi yang kental. Ekstrak pekat kemudian ditimbang dan rendemennya dihitung, dan nilai rendemen yang ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Presentase rendemen ekstrak daun gatal (*L. interrupta* dan *L. aestuans*)

Simplisia	Berat Simplisia (gram)	Berat Ekstrak Kental (gram)	Ekstrak pekat (gram)	Randemen (%)
<i>L. interrupta</i>	100	97,77	16,93	16,93
<i>L. aestuans</i>	100	86,55	17,00	17,00

Karakterisasi dilakukan untuk menilai mutu dan kualitas simplisia, dengan hasil yang ditampilkan pada Tabel 2. Pengujian kadar air bertujuan untuk memastikan kadar air simplisia memenuhi persyaratan yang berlaku, sehingga tidak mempengaruhi proses pengolahan dan penyimpanan selanjutnya.

Tabel 2. Hasil karakterisasi simplisia daun gatal (*L. interrupta* dan *L. aestuans*)

Parameter	<i>Laportea interrupta</i>	<i>Laportea aestuans</i>	Referensi (Pertwi & Fernanda, 2019)
Kadar air (%)	4,54	4,54	< 10
Kadar sari larut air (%)	25	27,5	> 25
Kadar sari larut etanol (%)	37,5	37,5	> 25
Kadar abu total (%)	6,5	7,5	14,12
Kadar abu tidak larut asam (%)	2	2	7,44
Susut pengeringan (%)	4,10	3,45	< 10

Parameter selanjutnya adalah penetapan kadar sari larut air dan kadar sari larut etanol. Air merupakan pelarut polar yang melarutkan senyawa-senyawa polar, sedangkan etanol bersifat kurang polar dibandingkan air sehingga mampu melarutkan senyawa yang kurang polar. Hasil pengujian menunjukkan kadar sari larut air pada simplisia *L. interrupta* sebesar 25% dan pada *L. aestuans* sebesar 27,5%. Sementara itu, kadar sari larut etanol pada kedua jenis simplisia tersebut sama, yaitu sebesar 37,5%. Hasil ini menunjukkan bahwa lebih banyak senyawa dalam simplisia yang larut dalam etanol dibandingkan air. Hal ini berkaitan dengan penggunaan etanol sebagai pelarut pada proses ekstraksi, sehingga kandungan senyawa yang terekstraksi dengan etanol menjadi lebih tinggi (Noviyanti, 2022). Kadar sari etanol yang tinggi mengindikasikan potensi ekstrak yang baik untuk digunakan pada uji aktivitas antibakteri.

Penetapan kadar abu total dilakukan untuk menilai mutu pengolahan dan jenis bahan yang digunakan. Abu merupakan sisa anorganik hasil pembakaran bahan organik dan mencerminkan kandungan mineral, kemurnian, serta kebersihan bahan. Selain itu, penetapan susut pengeringan dilakukan untuk mengetahui kehilangan bobot bahan akibat penguapan air dan senyawa volatil selama proses pengeringan.

Penapisan fitokimia dilakukan untuk memastikan keberadaan senyawa metabolit sekunder dalam tanaman uji. Parameter yang diuji meliputi flavonoid, alkaloid, saponin, glikosida, dan terpenoid. Hasil penapisan fitokimia ditampilkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil penapisan fitokimia ekstrak etanol daun gatal (*L. interrupta* dan *L. aestuans*)

No	Uji	Hasil Uji		Referensi (Pertiwi & Fernanda, 2019)
		<i>Laportea Interrupta</i>	<i>Laportea aestuans</i>	
1	Flavonoid	(+)	(+)	(+)
2	Alkaloid	(+)	(+)	(+)
3	Terpenoid	(+)	(+)	(+)
4	Saponin	(+)	(+)	(+)
5	Tanin	(+)	(+)	(+)

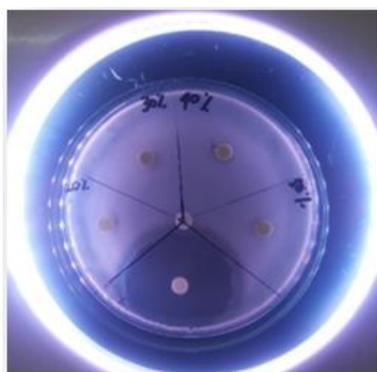
Identifikasi flavonoid dilakukan menggunakan ekstrak etanol daun yang dikombinasikan dengan akuades, serbuk Mg, HCl pekat, dan amil alkohol. Reaksi ini menghasilkan warna jingga yang berasal dari garam flavilium, yang menyebabkan warna larutan berubah menjadi merah (Setyowati dkk. 2014). Identifikasi saponin menunjukkan hasil positif dengan terbentuknya busa stabil, yang disebabkan oleh adanya gugus polar dan nonpolar pada molekul saponin yang membentuk misel saat pengocokan (Padmasari dkk., 2013). Identifikasi terpenoid menunjukkan hasil positif dengan terbentuknya cincin coklat akibat oksidasi senyawa terpenoid yang menghasilkan ikatan rangkap terkonjugasi (Pertiwi & Fernanda, 2019).

Kambu dkk., Evaluasi Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Gatal (*Laportea interrupta* dan *Laportea aestuans*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* Menggunakan Metode Difusi Cakram dan Bioautografi

Uji alkaloid memberikan hasil positif berupa endapan merah pada pereaksi Dragendorff dan endapan coklat pada pereaksi Wagner (Sangi dkk., 2008). Sementara itu, identifikasi glikosida positif ditandai dengan perubahan warna menjadi hijau setelah penambahan pereaksi Liebermann–Burchard, yang terjadi akibat transisi elektron dari gugus tidak jenuh (Mahatrinny dkk., 2014).

Berdasarkan hasil pengujian, ekstrak herba daun gatal menunjukkan daya hambat yang lebih besar terhadap *E. coli* dibandingkan dengan *S. aureus*. Perbedaan ini diduga disebabkan oleh perbedaan struktur dinding sel kedua bakteri. Menurut Morse *et al.* (2019), struktur dinding sel memengaruhi penetrasi, ikatan, dan aktivitas senyawa antibakteri.

Bakteri Gram-positif memiliki lapisan peptidoglikan yang tebal dan mengandung polisakarida. Sebaliknya, bakteri Gram-negatif memiliki lapisan peptidoglikan yang lebih tipis, kandungan lipid yang lebih tinggi, serta membran luar berupa lapisan bilayer fosfolipid dan lipopolisakarida yang bersifat nonpolar. Lapisan ini membatasi masuknya senyawa antibakteri ke dalam sel.

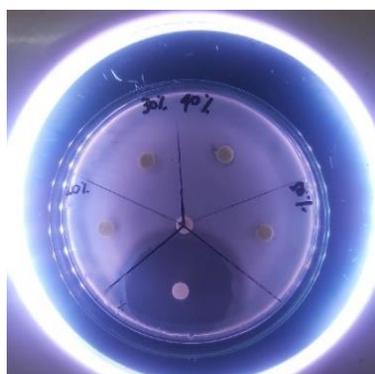


S. aureus



E. coli

Gambar 1. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun *L. aestuan* dengan metode difusi cakram



S. aureus



E. coli

Gambar 2. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun *L. interupta* dengan metode difusi cakram.

Hasil pengujian zona hambat ditampilkan pada Gambar 1 dan 2. Pada *L. aestuans*, aktivitas antibakteri terdeteksi pada konsentrasi 40% dengan kategori lemah. Sementara itu, *L. interupta* menunjukkan zona hambat pada semua konsentrasi yang diuji (20%, 30%, 40%, dan 50%), namun seluruhnya juga termasuk dalam kategori lemah.

Menurut Davis & Stout (1971), kriteria kekuatan daya hambat antibakteri diklasifikasikan sebagai berikut: diameter zona hambat ≤ 5 mm dikategorikan lemah, 5–10 mm sedang, 10–20 mm kuat, dan ≥ 20 mm sangat kuat. Hasil pengukuran zona hambat ekstrak daun gatal *L. aestuans* ditampilkan pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun *L. aestuans* terhadap *S. aureus* dan *E. coli*

Konsentrasi	<i>S. aureus</i>				<i>E. coli</i>			
	Diameter Zona hambat (mm)		Rata-rata	Kategori	Diameter Zona hambat (mm)		Rata-rata	Kategori
	Replikasi 1	Replikasi 2			Replikasi 1	Replikasi 2		
+	31	26	28,5	Sangat kuat	18	22	20	Sangat kuat
-	0	0	0	Lemah	0	0	0	Lemah
20%	0	0	0	Lemah	6	0	3	Lemah
30%	0	0	0	Lemah	0	0	0	Lemah
40%	6	0	3	Lemah	6	0	3	Lemah
50%	0	0	0	Lemah	0	0	0	Lemah

Keterangan: (+) Kontrol positif (tetrasiklin); (-) Kontrol negatif (pelarut)

Tabel 5. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun *L. interupta* terhadap *S. aureus* dan *E. coli*

Konsentrasi	<i>S. aureus</i>				<i>E. coli</i>			
	Diameter Zona hambat		Rata-rata	Kategori	Diameter Zona hambat		Rata-rata	Kategori
	Replikasi 1	Replikasi 2			Replikasi 1	Replikasi 2		
+	30	30	30	Sangat kuat	20	14	17	Sangat kuat
-	0	0	0	Lemah	0	0	0	Lemah
20%	0	0	0	Lemah	1	1	1	Lemah
30%	0	0	0	Lemah	1	0	0,5	Lemah
40%	1	0	0,5	Lemah	0	0	0	Lemah
50%	0	0	0	Lemah	1	1	1	Lemah

Keterangan: (+) Kontrol positif (tetrasiklin); (-) Kontrol negatif (pelarut)

Pada pengujian antibakteri ekstrak etanol *L. aestuans* terhadap *S. aureus*, diperoleh diameter zona hambat sebesar 0 mm pada konsentrasi 20%, 30%, dan 50%, serta 3 mm

pada konsentrasi 40%. Seluruhnya termasuk kategori lemah. Sementara itu, terhadap *E. coli*, diameter zona hambat rata-rata tercatat sebesar 3 mm pada konsentrasi 20% dan 40%, serta 0 mm pada konsentrasi 30% dan 50%. Hasil ini juga termasuk kategori lemah.

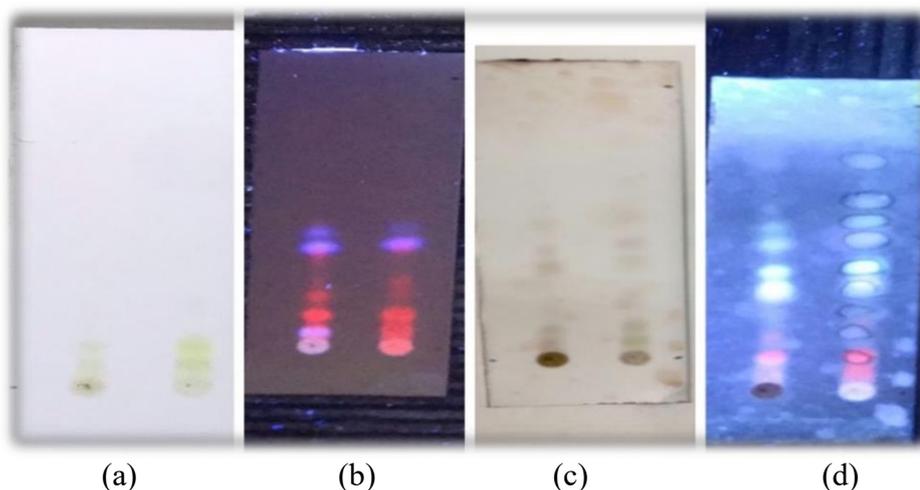
Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol *L. interrupta* terhadap *S. aureus* ditampilkan pada Tabel 5. Rata-rata diameter zona hambat yang diperoleh adalah 0 mm pada konsentrasi 20%, 30%, dan 50%, serta 0,5 mm pada konsentrasi 40%. Seluruhnya termasuk kategori lemah. Terhadap *E. coli*, rata-rata diameter zona hambat tercatat sebesar 1 mm pada konsentrasi 20% dan 50%, 0,5 mm pada konsentrasi 30%, serta 0 mm pada konsentrasi 40%. Hasil ini juga termasuk kategori lemah.

Jika dibandingkan dengan penelitian sebelumnya oleh Simaremare dkk. (2017), ekstrak daun gatal *L. aestuans* terbukti sangat efektif menghambat pertumbuhan bakteri Gram-negatif *E. coli* pada konsentrasi 1000 ppm dengan diameter zona hambat 9,02 mm, dan bakteri Gram-positif *S. aureus* pada konsentrasi 1000 ppm dengan diameter zona hambat 9,37 mm (kategori sedang). Sementara itu, penelitian oleh Pertiwi (2019) menunjukkan bahwa daun *L. interrupta* memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* dan *E. coli*, dengan daya hambat maksimum pada konsentrasi 60% ekstrak.

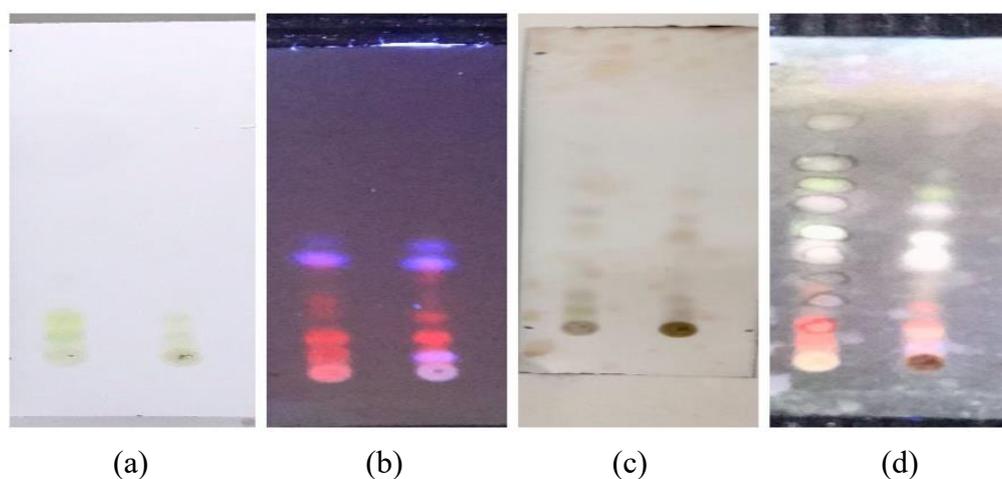
Berdasarkan hasil penelitian ini, *L. interrupta* memiliki aktivitas antibakteri yang lebih baik dibandingkan *L. aestuans*. Hal ini diduga berkaitan dengan kandungan fitokimianya yang tinggi, terutama total fenolik sebesar 46,35 mg ekuivalen asam galat/g ekstrak dan total flavonoid sebesar 96,67 mg ekuivalen rutin/g ekstrak (Krishna *et al.*, 2014). Selain itu, kandungan saponin, alkaloid, dan terpenoid (Kumar *et al.*, 2025) turut mendukung aktivitas antibakteri tersebut. Dengan kandungan senyawa fitokimia yang melimpah, daun gatal berpotensi tinggi untuk dikembangkan sebagai bahan obat.

Berdasarkan hasil Kromatografi Lapis Tipis (KLT), bercak senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam herba daun gatal tampak berwarna ungu, merah, dan biru. Setelah disemprot dengan pereaksi penampak bercak H_2SO_4 , warna bercak berubah menjadi hijau, merah, dan jingga. Hasil KLT ditunjukkan pada Gambar 3 dan Gambar 4.

Bercak berwarna merah dengan nilai R_f 0,34 menunjukkan adanya senyawa flavonoid, yang mampu membentuk kompleks dengan protein ekstrak seluler, merusak permeabilitas dinding sel bakteri, serta menyebabkan keluarnya senyawa intraseluler (Nuria dkk. 2009). Bercak jingga dengan nilai R_f 0,12 menunjukkan adanya alkaloid, yang dapat merusak lapisan peptidoglikan sehingga dinding sel bakteri lisis dan sel bakteri mati (Darsana dkk., 2012). Cincin berwarna cokelat pada batas larutan menunjukkan adanya terpenoid dengan nilai R_f 0,18, yang bereaksi dengan protein transmembran membentuk ikatan polimer kuat sehingga porin menjadi rusak (Dima, 2016). Saponin juga teridentifikasi, yang diketahui memiliki sifat detergen sehingga mampu menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri, menyebabkan kebocoran sitoplasma, dan berujung pada kematian sel.



Gambar 3. Profil KLT herba daun *L. Interrupta*. Eluen yang digunakan adalah *n*-heksan : etil asetat (7:3). (a) Profil KLT setelah optimasi dengan fase gerak, (b) Profil KLT di bawah sinar UV 366 nm, (c) Profil KLT setelah di semprot penampak bercak H₂SO₄ bawah sinar UV 366 nm, (d) Profil KLT setelah dibakar

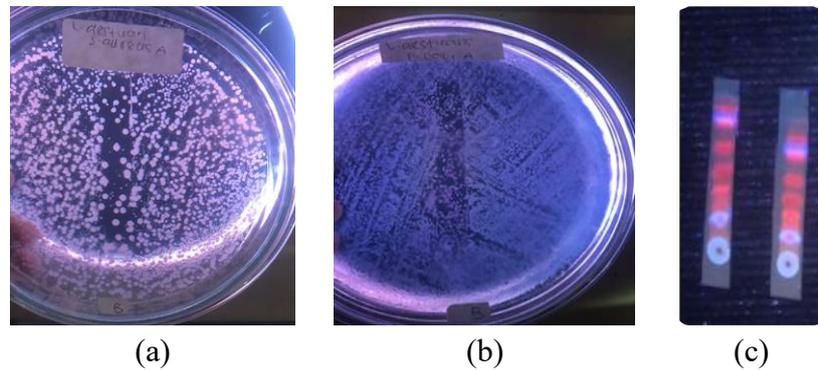


Gambar 4. Profil KLT herba daun *L. aestuans*. Eluen yang digunakan adalah *n*-heksan : etil asetat (7:3). (a) Profil KLT setelah optimasi dengan fase gerak, (b) Profil KLT di bawah sinar UV 366 nm, (c) Profil KLT setelah di semprot penampak bercak H₂SO₄ bawah sinar UV 366 nm, (d) Profil KLT setelah dibakar

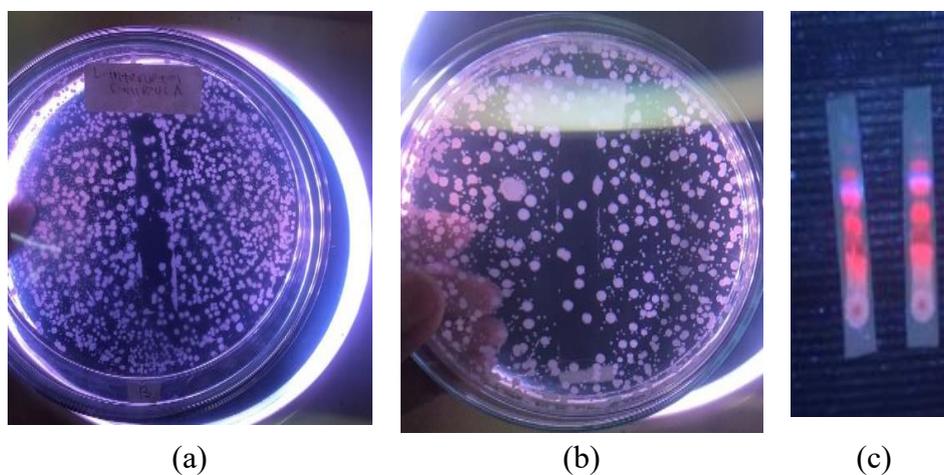
Pengujian KLT-bioautografi dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa aktif dalam herba daun gatal yang memiliki aktivitas antibakteri, dan hasilnya disajikan pada Gambar 5 dan Gambar 6. Lempong KLT yang digunakan terlebih dahulu diberi tanda batas bawah dan batas atas untuk menentukan jarak elusi, yang diatur sepanjang 7 cm. Eluen terbaik yang digunakan adalah campuran *n*-heksana : etil asetat (7 : 3), yang dipilih berdasarkan hasil uji orientasi eluen karena memberikan pemisahan noda terbaik dengan jumlah spot

Kambu dkk., Evaluasi Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Gatal (*Laportea interrupta* dan *Laportea aestuans*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* Menggunakan Metode Difusi Cakram dan Bioautografi

terbanyak, spot tidak berekor, dan jarak antar spot yang jelas (Suleiman et al., 2009). Deteksi bercak dilakukan di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm.



Gambar 5. Hasil pengujian KLT bioautografi *L. aestuans*. (a) *S. aureus*, (b) *E. coli* dan (c) hasil KLT ekstrak etanol *L. aestuans*



Gambar 6. Hasil pengujian KLT bioautografi *L. interrupta* (a) *S. aureus*, (b) *E. coli* dan (c) hasil KLT ekstrak etanol *L. interrupta*

Sebelum ditempelkan pada media, lempeng KLT diberi tanda batas untuk memudahkan identifikasi zona hambat. Lempeng kemudian ditempelkan pada permukaan media padat yang telah diinokulasi dengan *S. aureus* atau *E. coli* selama 30 menit–1 jam. Setelah itu, lempeng diangkat dan media diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C. Zona hambat yang terbentuk pada permukaan media diukur menggunakan mistar, dan nilai Rf dicatat.

Hasil KLT-bioautografi menunjukkan adanya zona hambat pada kedua bakteri uji. Pada ekstrak etanol *L. interrupta*, aktivitas antibakteri lebih besar dibandingkan *L. aestuans*. Terhadap *S. aureus*, zona hambat terbesar terdapat pada bercak dengan nilai

Rf0,29, sedangkan terhadap *E. coli*, zona hambat terbesar terdapat pada bercak dengan nilai Rf0,45.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, ekstrak etanol daun *L. interrupta* dan *L. aestuans* menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* dan *E. coli*, namun tergolong sangat lemah pada berbagai konsentrasi uji, baik dengan metode difusi cakram maupun bioautografi. Zona hambat yang terbentuk relatif kecil. Meskipun demikian, uji KLT-bioautografi mengindikasikan keberadaan senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, terpenoid, dan saponin yang berpotensi berperan dalam aktivitas antibakteri tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

- Abrar, M., Wibawan, I.W.T., Priosoeryanto, B.P., Soedarwanto, M. & Pasaribu, F.H., 2012. Isolasi dan karakterisasi hemaglutinin *Staphylococcus aureus* penyebab mastitis subklinis pada sapi perah. *Jurnal Kedokteran Hewan-Indonesian*. 6(1): 16-21.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 2009. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests; approved standard. 10th ed. CLSI document M02-A10. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
- Darsana, I.G.O., Besung, I.N.K. & Mahatmi, H., 2012. Potensi daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* secara *in vitro*. *Indonesia Medicus Veterinus*, 1(3): 337-351.
- Davis, W.W. & Stout, T.R. 1971. Disc plate method of microbiological antibiotic assay. I. Factors influencing variability and error. *Applied Microbiology*. 22(4): 659-665.
- Dima, L.R., 2016. Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* L.) terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Pharmakon*, 5(2).
- Harborne, J.B. 1998. *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*, 3rd edn. Springer Science Business Media. Dordrecht.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2017. *Farmakope Herbal Indonesia* (Edisi II). Kementerian Kesehatan RI. Jakarta.
- Koch, A.L., 1982. On the growth and form of *Escherichia coli*. *Microbiology*. 128(11): 2527-2539.
- Krishna, C.S., Sajeesh, T. & Parimelazhagan, T., 2014. Evaluation of nutraceutical properties of *Laportea interrupta* (L.) Chew. *Food Science and Biotechnology*. 23(2): 577-585.
- Kumar, N., Tyagi, R., Robert, S.M.J., Ismail, M.V. & Najmi, A.K. 2025. An updated apprise of glove (*Tinospora cordifolia*): phytochemical and pharmacological review. *Nutrition & Food Science*. 55(2): 294-312.
- Mahatriny, N.N., Payani, N.P.S., Oka, I.B.M. & Astuti, K.W. 2014. Skrining fitokimia ekstrak etanol daun pepaya (*Carica papaya* L.) yang diperoleh dari daerah Ubud, Kabupaten Gianyar, Bali. *Jurnal Farmasi Udayana*. 3(1): 8-13.

Kambu dkk., Evaluasi Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Gatal (*Laportea interrupta* dan *Laportea aestuans*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* Menggunakan Metode Difusi Cakram dan Bioautografi

- Morse, S.A., Mietzner, T.A., Miller, S. & Riedel, S. (2019) *Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology*. 28th ed. New York: McGraw-Hill Education.
- Mustapa, I.S. 2017. Identifikasi *Staphylococcus aureus* penyebab mastitis pada kambing peranakan etawa di Kabupaten Polman. Skripsi. Fakultas Kedokteran. Universitas Hassanudin. Makassar.
- Noviyanti. 2016. Pengaruh kepolaran pelarut terhadap aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun jambu Brazil batu (*Psidium guineense* L.) dengan metode DPPH. *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari*. 7(1): 29–35.
- Nuria, M.C., Faizatun, A. & Sumantri. 2009. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jarak pagar (*Jatropha curcas* L) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, dan *Salmonella typhi* ATCC 1408. *Mediagro: Jurnal Ilmu ilmu Pertanian*. 5(2): 26 – 37.
- Oloyede, G.K. & Ayanbadejo, O.E. 2014. Phytochemical, toxicity, antimicrobial and antioxidant screening of extracts obtained from *Laportea aestuans* (Gaud). *Journal of Medical Sciences*. 14(2): 51-9.
- Oloyede, G.K. 2016. Toxicity, antimicrobial and antioxidant activities of methyl salicylate dominated essential oils of *Laportea aestuans* (Gaud). *Arabian Journal of Chemistry*. 9: S840-S845.
- Padmasari, P.D., Astuti, K.W. & Warditiani, N.K., 2013. Skrining fitokimia ekstrak etanol 70% rimpang bangle (*Zingiber purpureum* Roxb.). *Jurnal Farmasi Udayana*. 2(4): 1-7.
- Pertiwi, K.K. & Fernanda, S.D. 2019. Aktivitas antibakteri herba daun gatal (*Laportea interupta* L. Chew) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Ilmiah: J-HESTECH*. 2(1): 43-50.
- Rios, J.L. & Recio, M.C. 2005. Medicinal plants and antimicrobial activity. *Journal of Ethnopharmacology*. 100(1-2): 80-84.
- Sangi, M., Runtuwene, M.R., Simbala, H.E. & Makang, V.M., 2008. Analisis fitokimia tumbuhan obat di Kabupaten Minahasa Utara. *Chemistry Progress*. 1(1): 47-53.
- Setyowati, W.A.E., Ariani, S.R.D., Ashadi, A., Mulyani, B. & Rahmawati, C.P. 2014. Skrining fitokimia dan identifikasi komponen utama ekstrak metanol kulit durian (*Durio zibethinus* Murr.) varietas petruk. In Seminar Nasional Kimia Dan Pendidikan Kimia VI. Surakarta, 21 Juni 2014. pp. 271-280.
- Simaremare, E.S., 2014. Skrining fitokimia ekstrak etanol daun gatal (*Laportea decumana* (Roxb.) Wedd). *Pharmacy*. 11(1): 98-107.
- Simaremare, E.S., Holle, E. & Budi, M. 2015. Perbandingan efektifitas antinyeri salep daun gatal dari Simplisia *Laportea decumana* dan *Laportea* sp. *Pharmacy*. 12(1): 1-10.
- Simaremare, E.S., Holle, E., Gunawan, E., Yabansabra, Y.R., Octavia, F. & Pratiwi, R.D., 2018. Toxicity, antioxidant, analgesic and anti-inflamantory of ethanol extract of *Laportea aestuans* (Linn.) Chew. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 10(5): 16-23.

- Simaremare, E.S., Ruban, A. & Runtuboi, D., 2017. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun gatal (*Laportea aestuans* (L) Chew). *Jurnal Biologi Papua*. 9(1): 1-7.
- Simaremare, E.S., Uopmbin, E. & Gunawan, E., 2019. Studi etnobotani daun gatal oleh masyarakat Kiwirok Papua. *Pharmacy*. 16(1): 45-58.
- Suleiman, M.M., McGaw, L.J., Naidoo, V. & Eloff, J.N. 2009. Detection of antimicrobial compounds by bioautography of different extracts of leaves of selected South African tree species. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*. 7(1): 64–78.
- Tualeka, S. 1986. Pemeriksaan farmakognostik dan usaha skrining komponen secara kromatografi lapis tipis daun gatal (*Laportea decumana* (Roxb.) Wedd) asal Maluku. Skripsi. Fakultas MIPA. Universitas Hasanuddin. Makassar.