

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Pembuatan Ekstrak Daun Gamal

Penelitian ini didahului dengan pembuatan ekstrak daun gamal. Bagian tanaman gamal yang digunakan adalah daun gamal yang dipetik pada pagi hari dan diambil dari Liliba, Kecamatan Oebobo, Nusa Tenggara Timur. Setelah itu daun gamal disortasi basah dengan membersihkan daun dari tangkainya, kemudian dicuci bersih dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada daun gamal. Kemudian, daun gamal dikeringkan dengan cara diangin-anginkan hingga kering tanpa terkena sinar matahari. Setelah itu, daun gamal yang sudah kering dilakukan sortasi kering, kemudian simplisia daun gamal dihaluskan dengan cara di-blender. Tujuan penghalusan simplisia agar senyawa yang terkandung pada simplisia daun gamal lebih mudah terekstrak.

Selanjutnya, simplisia dimaserasi menggunakan etanol 95% sebagai pelarut penyari. Etanol 95% dipilih sebagai pelarut penyari dikarenakan memiliki polaritas yang lebih tinggi daripada etanol 70%. Hal ini memungkinkan beberapa senyawa polar seperti flavonoid, tanin, kuinon, saponin dan fenol dapat terekstraksi secara sempurna (Saroya *et al.*, 2025). Proses maserasi berlangsung selama 3×24 jam dan dilakukan pengadukan setiap 6 jam. Pengadukan bertujuan untuk membantu tercapainya keadaan seimbang dan mencegah kejenuhan sehingga zat aktif yang ada pada simplisia dapat terekstraksi secara sempurna. Untuk memastikan bahwa seluruh senyawa aktif telah diekstraksi, residu hasil

maserasi digunakan lagi untuk dilakukan dalam cairan etanol 95% (cairan penyari). Setelah maserasi selesai, saring dan dilakukan remaserasi selama 2×24 jam dengan menambahkan 1 liter etanol 95% (Jalung & Umamy, 2022).

Filtrat hasil remaserasi dari residu digabung dengan filtrat maserasi untuk diteruskan pada proses penguapan pelarut menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C. Proses ini berlangsung hingga menghasilkan filtrat yang sedikit kental. Filtrat ini, diuapkan lagi menggunakan *waterbath* untuk mendapatkan ekstrak yang kental. Hasil pemekatan memberikan ekstrak sebanyak 36 g dan rendemen yang diperoleh sebesar 10,28%. Konfirmasi bebas etanol pada ekstrak yang diperoleh dilakukan melalui reaksi esterifikasi. Reaksi dilakukan dengan memasukan 0,5 g ekstrak daun gamal ke dalam tabung reaksi dan tambahkan asam sulfat dan asam asetat masing-masing 1 mL. Campuran tersebut dipanaskan selama 5 menit. Hasil konfirmasi menunjukkan bahwa ekstrak tidak menghasilkan aroma khas ester. Ini artinya bahwa bebas etanol.

B. Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri ini dilakukan dengan memakai bakteri *Staphylococcus aureus* dengan ATCC 6538. Metode yang digunakan dalam pengujian ini adalah difusi sumuran dengan cara melubangi (hole) media dengan *cork borer* 5 mm. Pemilihan metode ini dikarenakan lebih mudah untuk mengukur luas zona hambat yang terbentuk karena isolat beraktivitas tidak hanya di atas permukaan *Nutrient Agar* tetapi juga sampai ke bawah (Alouw & Lebang, 2022).

Tabel 2. Hasil Pengukuran Zona Hambat Ekstrak Daun Gamal Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*

Uji(%)	Replikasi			JumLah	Rata-rata	Standar Deviasi
	I (mm)	II (mm)	III (mm)			
25%	-	-	-	-	-	-
50 %	-	-	-	-	-	-
75%	7,10	8,10	8,15	23,35	7,78	0,592
100%	15,35	12,2	13,4	40,95	13,65	1.589
kontrol -	-	-	-	-	-	-
kontrol+	55,01	70,10	60,01	185,10	61,75	7,637

Aktivitas penghambatan ekstrak etanol daun gamal terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ditampilkan oleh zona bening yang muncul disekitar lubang sumuran (*hole*). Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun gamal mampu menghambat pertumbuhan bakteri pada 75% dan 100% dengan rata-rata zona hambat yang terbentuk berturut-turut sebesar 7,78 mm dan 13,65 mm. Sementara, kontrol negatif berupa aquadest tidak terlihat adanya zona hambat. Efektivitas suatu zat antibakteri dapat dibagi menjadi empat kategori berdasarkan diameter hambat di atas 20 mm menunjukkan respon hambatan pertumbuhan yang sangat kuat, diameter hambat antara 10-20 mm menunjukkan respon yang kuat, diameter hambat antara 5-10 mm menunjukkan respon sedang, dan diameter hambat di bawah 5 mm menunjukkan respon yang lemah. (Alouw & Lebang, 2022). Oleh karena itu, konsentrasi 75% dan 100% dari ekstrak etanol daun gamal diklasifikasi kedalam kategori sedang dan kuat, secara berturut-turut. Dengan demikian, kedua konsentrasi merupakan konsentrasi yang efektif

untuk menghambat bakteri *Staphylococcus aureus*.

Hasil skrining fitokimia dari ekstrak etanol daun gamal pada penelitian terdahulu menunjukkan bahwa ekstrak ini memiliki senyawa metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, tanin, saponin dan terpenoid yang diduga berkontribusi pada sifat antibakteri. Mekanisme aksi antibakteri oleh kelompok alkaloid diduga bekerja dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan yang terdapat dalam sel bakteri. Peptidoglikan diketahui merupakan elemen penting dalam struktur dinding sel bakteri. Gangguan terhadap komponen ini mengakibatkan dinding sel tidak terbentuk dengan baik. Ketidakstabilan pada dinding sel ini berujung pada kerusakan yang signifikan, yang pada akhirnya menyebabkan kematian sel bakteri (Saptowo *et al.*, 2022).

Tanin diduga bekerja menargetkan dinding polipeptida yang terdapat pada dinding sel bakteri. Proses ini menyebabkan pembentukan dinding sel menjadi tidak sempurna, yang pada akhirnya mengakibatkan kematian sel bakteri. Selain itu, tanin memiliki kemampuan untuk menginaktifkan enzim-enzim yang diproduksi oleh bakteri, serta mengganggu jalannya proses sintesis protein di dalam lapisan sel. Senyawa tanin merupakan makromolekul yang termasuk dalam kategori polifenol, yang dikenal memiliki sifat polar. Karena sifat polar ini, tanin dapat larut dengan baik dalam pelarut yang juga bersifat polar, sehingga meningkatkan efektivitasnya dalam mengatasi infeksi bakteri. Dengan demikian, tanin tidak hanya berfungsi sebagai penghambat pertumbuhan bakteri, tetapi juga berkontribusi dalam mengganggu berbagai proses biokimia yang

penting bagi kelangsungan hidup bakteri (Fatia Al-Haq *et al.*, 2022).

Senyawa flavonoid merupakan bahan aktif yang memiliki sifat antibakteri dan juga ditemukan dalam ekstrak daun gamal. Cincin B yang terdapat pada struktur flavonoid berperan penting dalam proses interkalasi yaitu pengikatan hidrogen dengan basa pada asam nukleat. Proses ini menjelaskan bagaimana flavonoid dapat menghambat sintesis DNA dan RNA, yang esensial bagi reproduksi dan pertumbuhan bakteri. Selain itu, flavonoid juga berperan untuk mengurangi kestabilan membran sel bakteri, yang dapat menyebabkan kerusakan pada membran tersebut. Kerusakan ini mengganggu berbagai proses metabolisme energi dalam sel bakteri, mirip dengan cara kerja antibiotik yang menghambat proses respirasi. Akibatnya, ketersediaan energi dalam sel bakteri berkurang, yang pada akhirnya dapat menyebabkan kematian sel bakteri. Dengan demikian, flavonoid tidak hanya berperan sebagai penghambat pertumbuhan bakteri, tetapi juga berkontribusi dalam mengganggu struktur seluler dan merusak fungsi vital yang dibutuhkan untuk kelangsungan hidup bakteri (Ngelu *et al.*, 2022).

Sementara saponin menampilkan efek antibakteri melalui membentuk interaksi langsung dengan porin suatu protein transmembran yang terletak pada membran luar dinding sel bakteri. Interaksi ini menghasilkan ikatan polimer yang kuat kemudian menyebabkan kerusakan pada porin. Ketika porin rusak, kemampuan membran sel bakteri untuk mengatur masuk dan keluarnya senyawa menjadi terganggu. Hal ini mengakibatkan penurunan permeabilitas membran

sel, yang menyebabkan sel bakteri kekurangan nutrisi yang diperlukan untuk pertumbuhannya. Akibatnya, pertumbuhan bakteri dapat terhambat bahkan menyebabkan kematian (Oktaviani & Al Zahra, 2024)

Senyawa terpenoid memiliki mekanisme kerja antibakteri dengan cara berikatan dengan porin (protein transmembran) yang tersusun pada membran luar dinding sel bakteri, sehingga menciptakan ikatan polimer kuat yang menimbulkan kerusakan pada porin tersebut (Wulansari, *et al.*, 2022)