

Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun dan Ranting *Castanopsis argentea* (Blume) A.DC. terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Antibacterial Activity of Leaf and Twig Extracts of *Castanopsis argentea* (Blume) A.DC. Against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*

Alifa Amalia^{1,*}, Muhammad Imam Surya², Intani Quarta Lailaty², Frisca Damayanti²,
Tri Rini Nuringtyas³

¹Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada, Jl. Teknik Selatan, Sekip Utara, Bulaksumur Yogyakarta, 55281 Indonesia.

²Kebun Raya Cibodas, Pusat Penelitian Konservasi Tumbuhan dan Kebun Raya, Institut Ilmu Pengetahuan Indonesia, Jawa Barat, 4325, Indonesia.

³Pusat Penelitian Bioteknologi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, 55281, Indonesia.

*Corresponding Author: tririni@ugm.ac.id

Abstrak: *Castanopsis argentea* merupakan salah satu sumber potensial antibiotik alami yang belum banyak diteliti. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menganalisa aktivitas antibakteri dan mempelajari kandungan senyawa metabolit sekunder dari ekstrak daun dan ranting *Castanopsis argentea* terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini menggunakan metode *paper disk* untuk melihat aktivitas antibakteri. Aktivitas antibakteri ditunjukkan oleh terbentuknya zona bening di sekitar kertas cakram. Sampel dibuat menjadi 3 perlakuan yaitu konsentrasi 20 mg/ml; 40 mg/ml; dan 80 mg/ml. Pelarut yang digunakan dipilih berdasarkan tingkat kepolaran yaitu etil asetat, etanol 70%, dan akuades. Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak paling potensial menghambat pertumbuhan bakteri adalah ekstrak ranting etil asetat konsentrasi 80 mg/ml dengan rata-rata diameter 6 mm untuk bakteri *Escherichia coli* dan 8.67 mm untuk bakteri *Staphylococcus aureus*. Kandungan senyawa yang teridentifikasi pada ekstrak ranting etil asetat adalah terpenoid, fenolik, dan flavonoid. Hasil profiling dengan spektrofotometri UV-Vis menunjukkan bahwa serapan maksimum senyawa terpenoid, flavonoid, dan fenolik terdapat pada rentang panjang gelombang 300-600 nm. Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak daun dan ranting *Castanopsis argentea* mengakibatkan spesies tersebut berpotensi sebagai antibakteri alami.

Kata kunci: Antibakteri; *Castanopsis argentea*; Metabolit Sekunder

Abstract: *Castanopsis argentea* is a potential source of natural antibiotics that has not been studied much. The purpose of this study was to analyze the antibacterial activity and study the content of secondary metabolites from leaves and twigs extract of *Castanopsis argentea* against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* bacteria. This study used the *paper disk* method to see antibacterial activity. Antibacterial activity was indicated by the formation of a clear zone around the *paper disk*. Samples were made into three treatments, namely the concentration of 20 mg/ml; 40 mg/ml; and 80 mg/ml. the solvent used was selected based on the level of polarity namely ethyl acetate, 70% ethanol, and aquades. The results of the antibacterial activity test showed that the extract with the most potential to inhibit bacterial growth was ethyl acetate twig extract at a concentration of 80 mg/ml with an average diameter of 6mm for *Escherichia coli* bacteria and 8.67 mm for *Staphylococcus aureus* bacteria. The compounds identified in the ethyl acetate twig extract are terpenoids, phenolics, and flavonoids. The results of profiling using UV-Vis spectrophotometry showed that the maximum absorption of terpenoids, flavonoids, and phenolics compounds was found in the wavelength range of 300-600 nm. The secondary metabolite compounds contained in the leaf and twig extracts of *Castanopsis argentea* make this species a potential natural antibacterial.

Keywords: *Antibacterial; Castanopsis argentea; Secondary Metabolites*

Dikumpulkan: 7 Desember 2024 Direvisi: 6 Februari 2025

Diterima: 15 April 2025 Dipublikasi: 30 April 2025

Pendahuluan

Indonesia adalah negara yang memiliki ekosistem tinggi karena terdapat keragaman iklim, jenis tanah, dan faktor lingkungan lainnya. Hal tersebut mengakibatkan Indonesia memiliki keanekaragaman spesies yang sangat tinggi. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Kurniasih dan Halimah (2019), dilaporkan bahwa tanaman yang berpotensi sebagai obat herbal memiliki kandungan senyawa yang berperan sebagai antibakteri. Salah satu tumbuhan yang berpotensi sebagai antibakteri adalah *Castanopsis argentea*. *Castanopsis* adalah salah satu tanaman herbal yang memiliki banyak khasiat sebagai imunomodulator.

Menurut penelitian Alkhandari *et al.* (2019), sebagai agen imunomodulator, ekstrak daun *C. costata* berpotensi sebagai antidiabetes, antimalaria, analgetik, anti-inflamasi, antijamur, antioksidan, dan antibakteri. Potensi tersebut berasal dari senyawa metabolit sekunder diantaranya alkaloid, flavonoid, glycoside, antraquinon, tannin, dan triterpenoid. Lebih lanjut, penelitian oleh Gao *et al.* (2019), menyebutkan bahwa ekstrak metanol dari daun, batang, dan kulit akar *C. lamontii* menunjukkan aktivitas antibakteri berspektrum luas yang dapat melawan bakteri Gram positif dan Gram negatif.

C. argentea masih termasuk ke dalam genus *Castanopsis* yang sama dengan spesies *C. lamontii* sehingga memiliki kecenderungan berpotensi sebagai antibakteri pula. Penelitian mengenai potensi tanaman sebagai antibakteri telah banyak dilaporkan. Disisi lain, resistensi antibakteri terhadap antibiotik masih muncul dan belum ada penurunan secara signifikan. Eksplorasi potensi aktivitas antibakteri daun dan ranting *C. argentea* belum banyak dilakukan terutama di Indonesia.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menganalisa Aktivitas Antibakteri tertinggi terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* dan mempelajari kandungan golongan senyawa metabolit sekunder dari ekstrak daun dan ranting

C. argentea yang dapat menjadi Antibakteri terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Oleh karena itu, dalam penelitian ini dilakukan pengujian terhaktivitas antibakteri ekstrak daun dan ranting *C. argentea* terhadap *E. coli* dan *S. aureus*.

Bahan dan Metode

Bahan

Bahan utama yang digunakan pada penelitian ini adalah simplisia daun dan ranting *C. argentea* yang diperoleh dari Kebun Raya Cibodas Jawa Barat. Bahan yang digunakan untuk ekstraksi adalah pelarut etil asetat (Merck), etanol 70% (Merck), akuades, kertas saring, alumunium foil, dan plastic seal. Bahan yang digunakan untuk preparasi dan suspensi bakteri adalah media *Mueller Hinton Agar* (MHA), *Mueller Hinton Broth* (MHB), akuades, kapas steril, kasa steril, plastic seal, alumunium foil, subkultur bakteri *E. coli* FNCC 0091 dan subkultur bakteri *S. aureus* FNCC 0047.

Bahan yang digunakan untuk uji aktivitas Antibakteri adalah subkultur bakteri *E. coli* FNCC 0091 dan *S. aureus* FNCC 0047 yang sudah diukur dengan spektrofotometer OD600 nm dan telah memenuhi absorbansi 0,1-0,5, kertas cakram antibiotik Blank Disc Oxoid, sampel daun dan ranting *C. argentea* dengan konsentrasi 20 mg/ml, 40 mg/ml, 80 mg/ml, kontrol positif antibiotik kloramfenikol 1 mg/ml, kontrol negatif DMSO 10%, alkohol, spiritus, cotton bud, pemantik api.

Bahan yang digunakan untuk KLT adalah sampel ekstrak etil asetat ranting *C. argentea* 100.000 ppm, plat silika gel GF₂₅₄, kertas saring, alumunium foil, n-hexan (Merck), etil asetat (Merck), vanillin sulfat, FeCl₃, dragendorff, sitroborat, *thymol blue*, folin-ciocalteu, cafein, *quercetine*, dan kardus. Bahan yang digunakan untuk spektrofotometri UV-Vis adalah larutan stok ekstrak daun dan ranting *C. argentea* 1 mg/ml, pelarut etil asetat (Merck), etanol 70% (Merck), dan akuades.

Alat

Alat untuk ekstraksi antara lain Erlenmeyer 250 ml, gelas ukur 250 ml, dan lemari maserasi. Alat untuk preparasi dan suspensi bakteri antara lain erlenmeyer 250 ml dan 100 ml, gelas ukur 250 ml, *microwave*, tabung reaksi, cawan petri, *yellow tip*, *blue tip*, dan *microtube*. Alat untuk uji aktivitas Antibakteri antara lain *Laminar Air Flow* (LAF), inkubator, mikropipet P20, dan *yellow tip*. Alat untuk uji KLT antara lain lemari asam, oven, Erlenmeyer 25 ml, gelas *chamber*, pipet ukur, propipet, *UV transilluminator*, *hair dryer*, mikropipet, *blue tip*, dan *white tip*. Alat untuk uji spektrofotometer antara lain kuvet kuarsa, gelas beaker, mikropipet P1000, dan *blue tip*.

Ekstraksi Daun dan Batang *C. argentea*

Sebanyak 25 g simplisia ditambahkan 250 ml pelarut etil asetat, etanol 70%, dan akuades. Sampel akuades dilakukan dekoksi. Selanjutnya dilakukan pengadukan simplisia dan pelarut yang telah tercampur di dalam Erlenmeyer selama satu menit. Erlenmeyer kemudian dimasukkan ke dalam lemari maserasi selama 3-4 hari. Ekstrak kemudian disaring menggunakan kertas saring. Larutan hasil filtrasi diuapkan menggunakan *rotary evaporator* hingga didapatkan filtrat kental.

Pofil Seyawa Organik

Ekstrak daun dan ranting etil asetat, etanol 70%, dan akuades *C. argentea* diidentifikasi menggunakan *sacnning* UV/Vis. Larutan blanko yang digunakan disesuaikan dengan masing-masing pelarut sampel. Sampel yang telah divortex selanjutnya dimasukkan ke dalam kuvet kuarsa kurang lebih 2 ml dan dibaca absorbansinya menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Konsentrasi yang digunakan untuk menghasilkan hasil kromatogram sesuai pada sampel adalah 500 ppm.

Preparasi dan Suspensi Bakteri

Sebanyak 9,5 gram MHA dilarutkan ke dalam 250 ml akuades. Media MHA selanjutnya dimasukkan ke dalam *microwave* dan dipanaskan hingga larutan MHA terlihat jernih. Media disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C,

tekanan 1.5 atm, dan selama 15 menit. Media MHA dituang ke dalam tabung reaksi untuk agar miring dan kedalam petri.

Sebanyak 2,1 gram MHB ditimbang dan dilarutkan ke dalam 100 ml akuades lalu dimicrowave hingga jernih. Larutan MHB dituang ke dalam 10 tabung reaksi sebanyak 9 ml. Tabung reaksi yang berisi media MHB kemudian diautoklaf.

Uji Antibakteri Daun dan Ranting *C. argentea* Terhadap *E.coli* dan *S. aureus*

Bakteri *E. coli* dan *S. aureus* yang sudah dikultivasi dalam kultur cair MHB selama 24 jam selanjutnya dikuantifikasi dengan spektrofotometer UV-Vis hingga absorbansi 0.5 pada panjang gelombang 600 nm, akan menghasilkan jumlah sel 1.5×10^8 cfu/ml (0.5 McFarland) (Mahmudah *et al.*, 2021). Kultur cair bakteri *dispread* ke dalam media MHA dengan *cotton bud* steril. Sampel konsentrasi 20 mg/ml, 40 mg/ml, dan 80 mg/ml, kontrol positif kloramfenikol 1 mg/1ml, dan kontrol negatif DMSO 10% masing-masing ditetaskan ke dalam kertas cakram sebanyak 20 μ l lalu dimasukkan ke permukaan media MHA. Aktivitas Antibakteri ditentukan setelah 24 jam dengan ditandai adanya zona hambatan. Perhitungan diameter zona bening dilakukan berdasarkan metode Mahmudah *et al.*, (2021). Diameter zona bening dihitung dari 2 sisi yaitu sisi vertikal dan sisi horizontal.

Identifikasi Golongan Senyawa Aktif dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Ekstrak sampel yang berpotensi sebagai antibakteri, diambil sebanyak 20 mg dan dilarutkan dengan 0,2 ml pelarut yang digunakan saat ekstraksi. Plat KLT diberi batas atas 0,5 cm dan batas bawah 1,5 cm lalu diaktivasi dengan oven pada suhu 80°C selama 15 menit. Eluen atau fase gerak yang digunakan adalah n-heksan:etil asetat 7:3. Ekstrak sampel dan larutan standar ditotolkan pada batas bawah plat silika gel dan dielusi ke dalam gelas chamber. Identifikasi golongan metabolit sekunder pada ekstrak sampel dapat diketahui setelah dilakukan penyemprotan dengan pereaksi semprot spesifik.

GC-MS

Ekstrak etil asetat ranting *C. argentea* dianalisis menggunakan Kromatografi Gas-Spektrofotometri Massa di Laboratorium Kimia Organik Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Gadjah Mada.

Hasil dan Pembahasan

Hasil

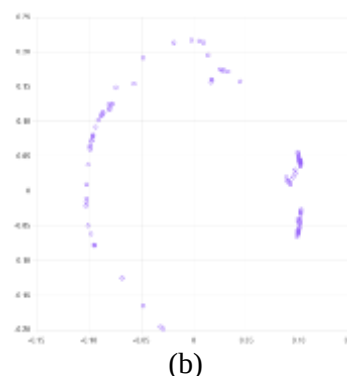
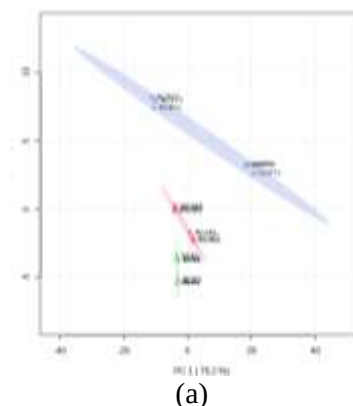
Ekstraksi Daun dan Ranting *Castanopsis argentea*

Table 1. Hasil ekstrak daun dan ranting *C. argentea*

Sa mp el	Pelarut	Berat (gr)		Rende men %
		Simp licia	Extr act	
Dau n	Etil Asetat	25	2,31	9,24
	Etanol 70%	25	3,79	15,16
	Akuades	25	3,67	14,68
Ran ting	Etil Asetat	25	1,9	7,6
	Etanol 70%	25	4,76	19,04
	Akuades	25	3,63	14,52

Pada sampel ranting yang diekstraksi menggunakan pelarut etanol 70%, rendemen tertinggi adalah 19,04%. Begitu juga dengan pelarut kuades menghasilkan rendemen 14,52% (Tabel 1). Perbedaan jumlah hasil disebabkan oleh berbagai kandungan metabolit sekunder. Dari hasil ketiga sampel tersebut, ditemukan bahwa ekstrak etanol 70% menghasilkan rendemen tertinggi. Ini menunjukkan bahwa sampel daun dan ranting *Castanopsis argentea* mengandung lebih banyak senyawa polar.

Profil Senyawa Organik Daun dan Ranting *Castanopsis argentea*



Gambar 1. Visualisasi *score plot* ekstrak etil asetat (biru), etanol 70% (hijau), dan akuades (merah) untuk Gambar (a) dan *Loading plot* untuk Gambar(b).

Senyawa yang larut dalam pelarut etil asetat dan senyawa yang larut dalam pelarut akuades berada di kuadran yang hampir sama yaitu kuadran II dan IV (Gambar 1 (a)). Ekstrak akuades berada pada kuadran II, III, dan IV sementara ekstrak etanol berada di kuadran III saja (Gambar 1 (a)).

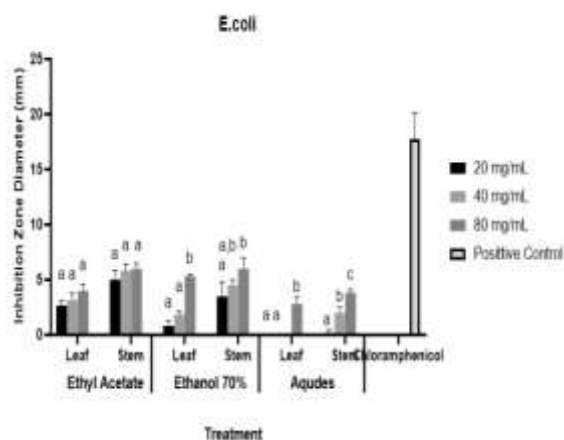
Panjang gelombang yang berpengaruh terhadap pembentukan diagram etil adalah 260, 265, 280, 285, 560, 665 (Gambar 1(b)). Pada panjang gelombang tersebut, tidak ada senyawa yang terdeteksi pada ekstrak etil, sementara senyawa dalam ekstrak etanol dan senyawa dalam akuades terdeteksi. Disisi lain pada panjang gelombang 375, 380, dan 385 terdeteksi senyawa pada ekstrak etil asetat dan sangat sedikit terdeteksi kandungan senyawa pada ekstrak etanol serta ekstrak akuades (Gambar 1 (b)).

Tabel 2. Absorbansi maksimum dari panjang gelombang yang diserap dari senyawa ekstrak

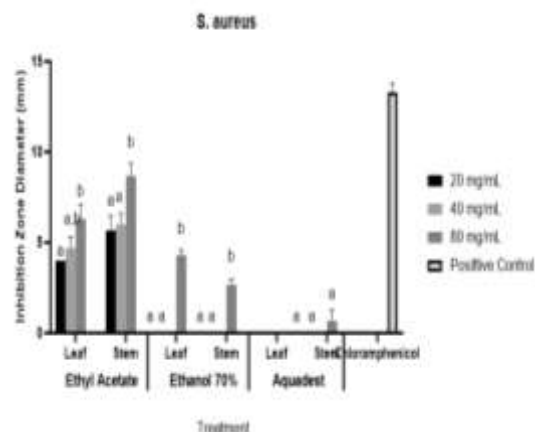
Ekstrak	Absorbansi Panjang Gelombang (nm)	Metabolit Sekunder
Etil Asetat	370 - 665	Tannins, terpenoids, flavonoids, phenols
Etanol 70%	265-300	Chlorophyll, carotene, proteins
Akuades	255-285	Chlorophyll, protein, carotene

Tabel 2, menyatakan bahwa pada panjang gelombang 400-600 nm merupakan panjang gelombang yang mewakili metabolit sekunder asam klorogenat (448 nm), asam ferulic (465 nm), asam sinaptik (436 nm), tanin (506 nm), karotenoid (532 nm), flavonoid atau favin (522 nm), klorofil (680-730 nm) dan antosianin (560 nm) (Jeveevitha et al, 2021).

Analisis Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun dan Ranting *C. argentea* terhadap Bakteri *E. coli* dan *S. aureus*



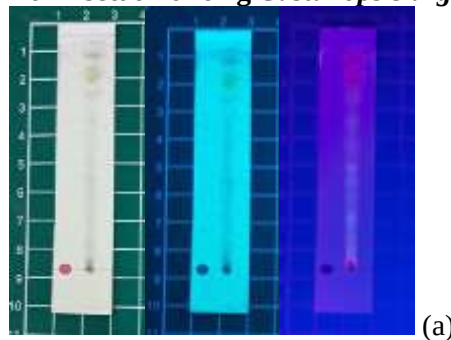
Gambar 2. Aktivitas antibakteri daun dan ranting *C. argentea* terhadap bakteri *E. coli*. Perbedaan huruf menunjukkan berbeda signifikan berdasarkan Uji Duncan pada $p < 0.05$.



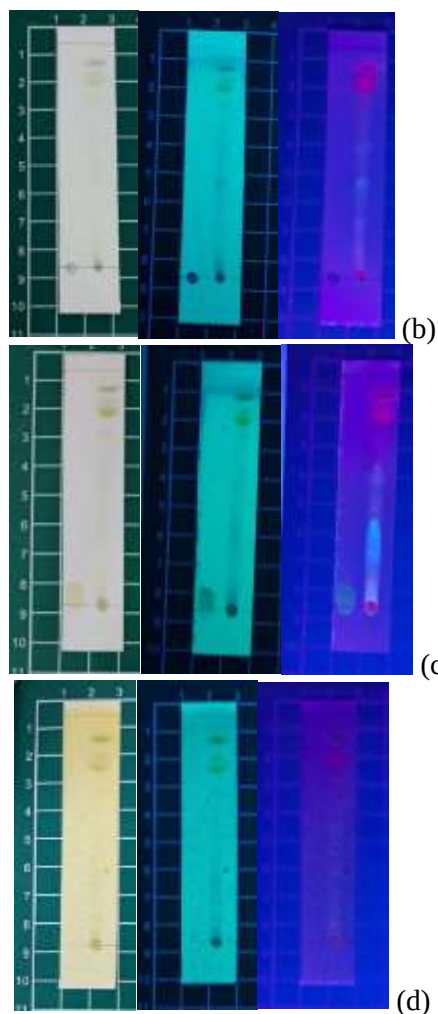
Gambar 15. Aktivitas antibakteri daun dan ranting *C. argentea* terhadap *S. aureus*. Perbedaan huruf menunjukkan berbeda signifikan berdasarkan Uji Duncan pada $p < 0.05$.

Ekstrak etil asetat *C. argentea* konsentrasi 80 mg/ml terhadap *E. coli*, menghasilkan diameter 4 mm untuk daun dan 6 mm untuk ranting. Hasil uji statistik menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat ranting *C. argentea* konsentrasi 80 mg/ml tidak berbeda nyata dengan konsentrasi 20 mg/ml dan 40 mg/ml (Gambar 2). Ekstrak etil asetat *C. argentea* konsentrasi 80 mg/ml terhadap bakteri *S. aureus*, menghasilkan diameter 6.3 mm untuk daun dan 8.67 mm untuk ranting. Hasil statistik *S. aureus* menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat ranting *C. argentea* 80 mg/ml berbeda signifikan dengan konsentrasi 20 mg/ml dan 40 mg/ml (Gambar 3).

Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Ekstrak Etil Asetat Ranting *Castanopsis argentea*



(a)



Gambar 6. Deteksi kandungan metabolit sekunder dalam ekstrak etil asetat ranting *C. argentea*. a: Terpenoid; b: Fenolik; c: Flavonoid; d: Alkaloid dalam cahaya tampak, UV 254 nm, dan 366 nm.

Hasil TLC menunjukkan bahwa sampel positif mengandung terpenoid, fenolik, dan flavonoid. Uji terpenoid ditunjukkan dengan adanya noda ungu pada pelat TLC setelah disemprot dengan vanilin sulfat. Uji fenolik dengan adanya bintik-bintik biru-hitam pada pelat TLC setelah disemprot dengan FeCl_3 . Uji flavonoid ditunjukkan dengan adanya warna kuning kehijauan hingga oranye kemerahan pada pelat TLC setelah disemprotkan menggunakan sitroborat. Kandungan senyawa alkaloid tidak terdeteksi pada plat KLT setelah disemprot dragendorff. (Gambar 6).

Tabel 3. Hasil pengujian kandungan metabolit sekunder ekstrak etil asetat ranting *C. argentea*

Metabolit Sekunder	Ekstrak Ranting Etil Asetat	Rf (cm)
Terpenoids	+	1) 0.4
		2) 0.53
		3) 0.73
Phenolis	+	1) 0.85
		2) 0.9
Flavonoids	+	1) 0.2
		2) 0.3
Alkaloids	-	-

Senyawa yang memiliki Rf lebih besar memiliki kepolaran lebih rendah. Hal ini disebabkan karena fase diam bersifat polar. Oleh karena itu, senyawa yang lebih polar akan tertahan pada fasa diam dan menghasilkan nilai Rf yang rendah (Forestryana Arnida, 2020).

GC-MS

Tabel 4. Metabolit sekunder dan aktivitas biologis ekstrak etil asetat ranting *C. argentea*.

R Time	Senyawa	Area (%)	Kelompok	Aktivitas Biologi
16.0475	Hexadecane	1.3179	Alkanes	Antibacterial, antioxidant
21.4794	Hentriacotane	2.3036	Alkanes	Anti-inflammatory, antitumor, antimicrobial activities
27.7053	Eicosane	3.1986	Alkanes	Antibacterial, antifungal
19.5889	Hexadecanoic acid, methyl ester	3.2601	Fatty acid esters	Antibacterial and antifungal

Hasil GC-MS menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat ranting *C. argentea* mengandung empat jenis metabolit sekunder yang terdiri dari alkana dan ester asam lemak (Tabel 4). Kelimpahan senyawa ditunjukkan oleh % luas yang menunjukkan hasil bahwa Hexadecanoic acid, methyl ester merupakan senyawa paling tinggi dengan kelimpahan sebesar 3.26% diikuti oleh eicosane dengan %

luas 3.19%. Hexadecanoid acid, methyl ester tergolong kedalam ester asam lemak dan eicosane tergolong kedalam alkana. Empat jenis metabolit sekunder pada ekstrak etil asetat ranting *C. argentea* memiliki Aktivitas Antibakteri (Table 4).

Pembahasan

Ekstraksi Daun Dan Ranting *Castanopsis argentea*

Pada penelitian ini, dipilih tiga jenis pelarut berbeda yang sesuai dengan jenis kepolarannya. Adapun pelarut yang digunakan antara lain etil asetat, etanol 70%, dan akuades. Senyawa yang terkekstrak pada proses maserasi adalah senyawa yang memiliki polaritas yang sesuai dengan pelarut yang digunakan (Kiswando, 2011). Proses pemisahan senyawa dalam simplisia suatu pelarut pada prinsipnya didasari hukum *like dissolve like* yaitu senyawa polar akan larut dalam senyawa polar dan senyawa non polar akan larut dalam pelarut non polar (Mariana *et al.*, 2018).

Hasil menunjukkan bahwa daun dan ranting *C. argentea* lebih banyak mengandung senyawa polar karena rendemen tertinggi didapatkan dari pelarut etanol 70% dan disusul pelarut akuades, sementara etil asetat memberikan rendemen terendah. Perbedaan jumlah rendemen dari kedua sampel disebabkan karena kandungan metabolit sekunder pada tumbuhan yang bervariasi. Pelarut etanol lebih umum digunakan sebagai pelarut ekstrak berbagai senyawa serta polaritas pelarut etanol lebih rendah dibandingkan polaritas pelarut akuades. Etanol juga merupakan pelarut yang baik untuk senyawa yang relatif kurang polar. Sementara pelarut akuades bersifat polar sehingga tidak dapat melarutkan senyawa-senyawa bersifat kurang polar dengan baik (Fardhyanti dan Riski, 2015).

Pelarut etil asetat merupakan pelarut semi polar yang memiliki tingkat kepolaran 4,4 sementara pelarut etanol merupakan pelarut polar dengan tingkat kepolaran 5,2 (Anova dan yeni, 2020). Adanya gugus etoksi yang terdapat pada struktur kimia etil asetat menyebabkan etil asetat dapat

membentuk ikatan hidrogen dengan senyawa yang terdapat pada sampel. Ikatan hidrogen yang terbentuk pada pelarut etil asetat lebih lemah dibandingkan ikatan hidrogen pada pelarut etanol. Akibatnya, rendemen etil asetat lebih sedikit dibandingkan rendemen etanol (Tursiman *et al.*, 2012).

Profil Senyawa Organik Daun dan Ranting *Castanopsis argentea*

Metode yang sering digunakan untuk mengolah data multivariat yaitu *Principal Component Analysis* atau PCA. Senyawa-senyawa didalam *C. argentea* mengelompok berdasarkan jenis ekstraknya yaitu etil asetat, etanol 70%, dan akuades. *Score plot* dibentuk oleh PC-1 dan PC-2. Sampel yang memiliki *score* dekat di sepanjang PC yang sama memiliki karakter yang sama atau serupa (Munawar dan Hasanuddin, 2020). Grafik *score plot* bertujuan menunjukkan hubungan antar sampel yang diuji pada komponen PC1 dan PC2 (Azizi *et al.*, 2021).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Manik *et al.* (2016), menyebutkan bahwa sampel-sampel yang berdekatan memiliki karakteristik relatif mirip. Sementara sampel yang berjauhan memiliki perbedaan karakteristik. Senyawa dalam pelarut etil asetat dan senyawa dalam akuades terlihat memiliki karakteristik yang relatif dekat. Lain halnya dengan senyawa yang larut dalam pelarut etanol, berdiri sendiri pada kuadran III yang mengindikasikan bahwa senyawa yang larut dalam pelarut etanol memiliki karakteristik berbeda dari kedua ekstrak lainnya walaupun memiliki jarak yang tidak terlalu jauh dengan senyawa yang larut dalam akuades.

Kontribusi variabel dalam *loading plot* didasarkan atas jarak yang digunakan. Semakin jauh jarak variabel dari titik awal, maka semakin besar kontribusi variabel terhadap proses PCA (Arina *et al.*, 2022). Terdapat dua aksis yaitu *Loadings 1* yang menunjukan PC-1 dan *Loadings 2* yang meunjukkan PC-2. Dari *loading plot*, dapat diketahui rentang panjang gelombang yang menjadi ciri dari masing-masing sampel.

Analisis Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun dan Ranting *Castanopsis argentea* Terhadap

Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun dan ranting *C. argentea* pada penelitian ini menggunakan metode *paper disk*. Metode ini memiliki kelebihan lebih cepat dalam melakukan pengujiannya, mudah, dan sederhana. Metode difusi *paper disk* memiliki prinsip kerja zat uji (ekstrak daun dan ranting *C. argentea*) berbagai konsentrasi diteteskan pada kertas cakram sehingga dapat berdifusi pada permukaan media padat yang telah diinokulasi dengan bakteri uji (Widyawati, 2018).

Ranting memiliki aktivitas antibakteri yang lebih tinggi dibanding daun, dapat diduga karena akumulasi produksi metabolit sekunder di ranting lebih tinggi dibandingkan daun. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Handayani *et al.* (2020), melaporkan bahwa metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, terpenoid berpotensi sebagai antibakteri. Dari hasil penelitian menunjukkan jika ekstrak ranting etil asetat dengan konsentrasi 80 mg/ml memiliki aktivitas antibakteri lebih dominan pada bakteri Gram positif *S. aureus* dibanding bakteri Gram negatif *E. coli*. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Nurhayati *et al.* (2020). bahwa zona hambat Aktivitas Antibakteri Gram positif *S. aureus* lebih besar dibandingkan dengan Gram negative (*E. coli*). Hal tersebut dapat disebabkan karena bakteri gram negatif memiliki dinding sel yang lebih kompleks sehingga memiliki resistensi lebih baik terhadap senyawa Antibakteri.

Hampir 95% dinding sel bakteri Gram positif tersusun atas peptidoglikan. Sementara itu, dinding sel bakteri Gram negatif tersusun atas lipidprotein, lipopolisakarida, dan mengandung sedikit peptidoglikan sebesar 5-10% saja. Lapisan lipopolisakarida pada bakteri Gram negatif memperkuat kekuatan atau rigiditas dinding selnya melalui ikatan kationik intermolekuler. Akibatnya, bakteri Gram negatif menjadi lebih kokoh dan sulit ditembus oleh senyawa Antibakteri. Sedangkan struktur dinding sel bakteri Gram positif lebih sederhana sehingga memudahkan senyawa Antibakteri masuk ke dalam sel (Septiani *et al.*, 2017).

Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Ekstrak Etil Asetat Ranting *Castanopsis argentea*

Ekstrak yang paling berpotensi sebagai antibakteri selanjutnya diidentifikasi golongan senyawa aktifnya menggunakan Kromatografi Lapis Tipis. Senyawa metabolit sekunder yang akan dianalisis dari ekstrak etil asetat ranting *C. argentea* adalah terpenoid, fenolik, flavonoid, dan alkaloid. Golongan senyawa terpenoid memiliki potensi sebagai antimikroba yaitu sebagai antijamur, antibakteri, dan antivirus. Mekanisme kerja senyawa terpenoid sebagai antibakteri adalah merusak dinding sel bakteri dengan mengganggu komponen peptidoglikan sel bakteri sehingga lapisan dinding sel lisis, dinding sel rusak, isi sel keluar, dan bakteri mengalami kematian (Ibrahim dan Kuncoro, 2012).

Senyawa fenol menyebabkan koagulasi protein, mengubah permeabilitas membran bakteri sehingga sel membran mengalami lisis (Nurhasanah dan Gultom, 2020). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Hidayah *et al.* (2017), gugus hidroksil senyawa fenol (OH) memiliki pengaruh terhadap aktivitas antibakteri. Semakin tinggi senyawa fenol yang teroksidasi, maka penghambatan pertumbuhan organisme semakin kuat. Mekanisme toksisitas fenol terhadap mikroorganisme melalui penghambatan enzim oleh senyawa yang teroksidasi.

Flavonoid pada tumbuhan diketahui memiliki sifat antibakteri. flavonoid dapat menghambat motilitas bakteri dengan cara melepaskan energi transduksi terhadap membran sitoplasma. Struktur flavonoid yang mengandung gugus hidroksil dapat mengakibatkan perubahan komponen organik transpor nutrisi sehingga menimbulkan efek toksik terhadap bakteri.

Deteksi golongan senyawa alkaloid menggunakan senyawa pembanding kafein dan pereaksi semprot dragendorff. Hasil KLT menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat ranting *C. argentea* tidak mengandung alkaloid karena tidak muncul bercak noda berwarna kuning hingga kuning keabuan pada plat KLT setelah disemprot dragendorff. Alkaloid dapat ditemukan diberbagai bagian tanaman seperti bunga, biji, daun, ranting, akar, dan kulit batang. Namun, alkaloid memiliki kadar yang kecil dan harus dipisahkan dari campuran senyawa rumit dari jaringan tumbuhan (Ningrum *et al.*, 2016).

GC-MS

GC-MS memiliki sensitivitas tinggi sehingga dapat memisahkan senyawa yang saling bercampur. Selain itu, GC-MS dapat menganalisa berbagai senyawa dalam kadar atau konsentrasi rendah (Candradiningrat, 2021). Komponen senyawa yang terdeteksi pada ekstrak etil asetat ranting *C. argentea* antara lain hexadecane, hentriacontane, dan eicosane yang termasuk dalam kelompok alkana, serta hexadecanoid acid, methyl estery yang termasuk dalam kelompok asam lemak ester.

Senyawa hexadecane memiliki Aktivitas biologis sebagai Antibakteri dan antioksidan (Yogeswari *et al.*, 2012). Hentriacontane memiliki Aktivitas biologis sebagai antinflamatory, antitumor, dan Aktivitas antimikroba (Khajuria *et al.*, 2017). Sementara itu, eicosane dan hexadecanoid acid, methyl ester memiliki Aktivitas biologis sebagai antifungal dan Antibakteri (Zona *et al.*, 2021; Karunia dan Sumarni, 2017).

Kesimpulan

Kesimpulan pada penelitian ini adalah aktivitas antibakteri tertinggi, didapatkan dari ekstrak ranting etil asetat konsentrasi 80 mg/ml untuk bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Kandungan senyawa metabolit sekunder dari ekstrak ranting etil asetat diantaranya terpenoid, fenolik, dan flavonoid. Berdasarkan profiling metabolit sekunder daun dan ranting *C. argentea* serapan maksimum senyawa flavonoid adalah 400-600 nm. Senyawa fenolik pada panjang gelombang 450-500 nm, dan senyawa terpenoid pada panjang gelombang 500-530 nm.

Ucapan terima kasih

Terimakasih kepada Kebun Raya Cibodas dan Badan Riset dan Inovasi Indonesia yang telah memberikan dukungan pada penelitian ini.

Referensi

Alkhandari, M.Y., Berbudi, A., Utami, N.V. and Subarnas, A. (2019). Antimalarial activity of extract and fractions of

Castanopsis costata (Blume) A.DC. *Avicenna Journal Phytomed*, 9(5): 474-481.

url:<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6727430/>

Anova, I. dan Yeni, G. (2020). Rasio pelarut etnaol dan etil asetat pada proses ekstraksi terhadap karakteristik katekin dari gambir. *Jurnal Litbang Indutri*, 10(2): 121-127. Doi: [org/10.24960/jli.v10i2.6506.121-127](https://doi.org/10.24960/jli.v10i2.6506.121-127)

Arina, Y., Shiyan, S. dan Suprayetno. (2022). Analisis kemometrik ekstrak akar tunjuk langit (*Helminthostachys zeylanica* (L)) melalui analisis fourier transformed infrared dari berbagai daerah Sumatra Selatan. *Jurnal Aisyiyah Medika*, 7(1): 243-258. url: <https://jurnal.stikes-aisyiyah-palembang.ac.id/index.php/JAM/article/view/806>

Azizi, A., Sari, D.A.P., Sari, D.A.P., dan Agusti, A.T. (2021). Metode Analisis Next Generation Sequencing (NGS). Nas Media Pustaka, Makassar. ISBN: 6233511747,p. 32.

Candradiningrat, I. D. A. A.D., Santika, A. A. G. J., dan Prayascita, D. P. W. (2021). Review Kemampuan GC-MS Dalam Identifikasi Flunitrazepam Terkait Dengan Aspek Forensik dan Klinik. *Jurnal Kimia*, 15 (1): 12-19. Doi: [org/10.24843/JCHEM.2021.v15.i01.p03](https://doi.org/10.24843/JCHEM.2021.v15.i01.p03)

Fardhyanti,D.S. dan Riski, D. (2015). Pemungutan brazilin dari kayu secang (*Caesalpinia sappan* L) dengan metode maserasi dan aplikasinya untuk pewarnaan kain. *Jurnal Bahan Alam Terbarukan*, 4(1): 6-13. Doi: [org/10.15294/jbat.v4i1.3768](https://doi.org/10.15294/jbat.v4i1.3768)

Forestryana, D. dan Arnida. (2020). Phytochemical screenings and thin layer chromatography analysis of

- ethanol extract jeruju leaf (*Hydrolea spinosa* L.). *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari*, 11(1):113-124. url: [file:///C:/Users/asus/AppData/Local/Temp/MicrosoftEdgeDownloads/ee945534-5cf5-493f-864f-1fb0d0c1c931/859-2419-1-PB%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/asus/AppData/Local/Temp/MicrosoftEdgeDownloads/ee945534-5cf5-493f-864f-1fb0d0c1c931/859-2419-1-PB%20(1).pdf)
- Gao, Y., Wang, J.Q., FU, Y.Q., Yin, J.F., Shi, J. and Xu, Y.Q. (2020). Chemical composition, sensory properties and bioactivities of *Castanopsis lamontii* buds and mature leaves. *Journal Food Chemistry*, 316. Doi: 10.1016/j.foodchem.2020.126370
- Handayani, S.N., Purwanti, A., Windasari. Dan Ardian, M.N. (2020). Uji fitokimia dan aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kencana ungu (*Ruellia tuberosa* L.). *Walisongo Journal of Chemistry*, 3(2): 66-70. Doi: 10.21580/wjc.v3i2.6119
- Hidayah, N., Mutikaningtyas, D. dan Bintari, S.H. (2017). Aktivitas antibakteri infusa simplisia *Sargasum muticum* terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *Life Science*, 6(2): 48-54. url: <file:///C:/Users/asus/AppData/Local/Temp/MicrosoftEdgeDownloads/da5ec95a-1b00-47bc-a9eb-90fd64028ba9/25345-Article%20Text-54398-1-10-20180831.pdf>
- Ibrahim, A. dan Kuncoro, H. (2012). Identifikasi metabolit ekunder dan aktivitas antibakteri ekstrak daun sungkai (*Peronema canescens* JACK.) terhadap beberapa bakteri patogen. *Journal of Tropical Pharmacy Chemical*, 2(1): 9-18. Doi: [org/10.25026/jtpc.v2i1.43](https://doi.org/10.25026/jtpc.v2i1.43)
- Karunia, S. D., Supartono. And Sumarni, W. (2017). Analisis sifat Antibakteri ekstrak biji srikaya (*Ammona squamosa* L) dengan pelarut organik. *Indonesia Journal of Chemical Science*, 6(1): 56-60. Doi: [10.15294/IJCS.V6i1.11288](https://doi.org/10.15294/IJCS.V6i1.11288)
- Khajuria, V., Gupta, S., Sharma, N., Kumar, A., Lone, N. A., Khullar, M., Dutt, P., Sharma, P. R., Bhagat, A. and Ahmed, Z. (2017). Antiinflammatory potential of hentriacontane in LP stimulated RAW 264.7 cells and mice mode. *Biomedic & Pharmacotherapy*, 92: 175-186. Doi: 10.1016/j.biopha.2017.05.063.
- Kiswandono, A. A. (2011). Perbandingan dua ekstraksi yang berbeda pada daun kelor (*Moringa oleifera*, lamk) terhadap rendemen ekstrak dan senyawa bioaktif yang dihasilkan. *Jurnal Sains Natural Universitas Nusa Bangsa*, 1(1): 45-51. Doi: [org/10.31938/jsn.v1i1.13](https://doi.org/10.31938/jsn.v1i1.13)
- Kurniasih, E. dan Halimah, E. (2019). Review artikel: aktivitas antibakteri dari ekstrak berbagai spesies tumbuhan *Mangrove*. *Farmaka*, 17(2): 359-366. doi: doi.org/10.24198/jf.v17i2.22265
- Mahmudah, A.F., Kusumastuti, Y, Petrus, T.B.M. dan Purwestri, Y.A. (2021). Antibacterial effectiveness of synthesized copper nanoparticles by ultrasomication assisted method. *Advances in Biological Sciences Research*, 22: 471-481. Doi: 10.2991/absr.k.220406.066
- Manik, M., Restuhadi, F. dan Rossi, E. (2016). Analisis pemetaan kesukaan konsumen terhadap lempuk dikalangan mahasiswa Universitas Riau. *Jurnal Online Mahasiswa Faperta*, 3(2): 1-15. url: https://jom.unri.ac.id/index.php/JOM_FAPERTA/article/view/12255
- Mariana, E., Cahyono, E., dan Nurcahyo, B. (2018). Validasi Metode Penetapan Kuantitatif Metanol dalam Urin Menggunakan Gas Chromatography-

- Flame Ionization Detector. Indonesia Journal Chemical Science*, 7(3): 277-284. url: <http://journal.unnes.ac.id/sju/index.php/ijcs>
- Munawar, A.A. dan Hasanuddin. (2020). Analisis data Multivariat Menggunakan The Unscrambler X. Syiah Kuala University Press, Banda Aceh. ISBN: 9786237780328, p.30.
- Ningrum, R., Purwanti, E. dan Sukarsono. (2016). Identifikasi senyawa alkaloid dari batang karamunting (*Rhodymyrtus tomentosa*) sebagai bahan ajar biologi untuk SMA kelas X. *Jurnal Pendidikan Biologi Indonesia*, 2(3): 231-236. url: <https://media.neliti.com/media/publications/118168-ID-none.pdf>
- Nurhasanah. Dan Gultom, E.S. (2020). Uji aktivitas antibakteri ekstrak metanol daun kirinyuh (*Chromolaena odorata*) terhadap bakteri MDR (*Multi Drug Resistant*) dengan metode KLT Bioautografi. *Jurnal Biosains*, 6(2): 45-52. Doi: [org/10.24114/jbio.v6i2.16600](https://doi.org/10.24114/jbio.v6i2.16600)
- Nurhayati, L.S., Yahdiyani, N. dan Hidayatulloh, A. (2020). Perbandingan pengujian aktivitas antibakteri starter yougyrt dengan metode difusi sumuran dan metode difusi cakram. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*, 1(2): 41-46. Doi: [org/10.24198/jthp.v1i2.27537](https://doi.org/10.24198/jthp.v1i2.27537)
- Septiani., Dewi, E.N. dan Wijayanti, I. (2017). Aktivitas antibakteri ekstrak lamun (*Cymodocea rotundata*) terhadap bakteri *Staphylococcus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Saintek Perikanan*, 13(1): 1-6. Doi: [org/10.14710/ijfst.13.1.1-6](https://doi.org/10.14710/ijfst.13.1.1-6)
- Tursiman., Ardiningsih, P. dan Nofiani, R. (2012). Total fenol fraksi etil asetat dari buah asam kandis (*Gracinia dioica* Blume). *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 1(1): 45-48. url: <file:///C:/Users/asus/AppData/Local/Temp/MicrosoftEdgeDownloads/3126064e-4374-4ef1-81e0-7241ddfc994e/982-2912-1-PB.pdf>
- Widyawati. (2018). Efektifitas ekstrak etil asetat tumbuhan *Myrmecodia pendans* terhadap bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175. *Jurnal B-Dent*, 5(2): 135-143. Doi: [org/10.33854/jbd.v5i2.160.g105](https://doi.org/10.33854/jbd.v5i2.160.g105)
- Yogeswari, S., Ramalakshmi, S., Neelavathy, R. and Johnpaul, M. (2012). Identification and comparative studies of different volatile fractions from *Monochaetia kansensis* by GCMS. *Global Journal of Pharmacology*, 6(2): 65-71. url: https://www.researchgate.net/publication/264972359_Identification_and_Comparative_Studies_of_Different_Volatile_Fractions_from_Monochaetia_kansensis_by_GCMS
- Zona, O., Novianty, R., Suraya, N. and Saryono. (2021). Antimicrobial activity and GC-MS anlysis of bioactive constituents of *Apergillus fumigatus* 269 isolated from Sungai Pinang Hot Spring, Riau, Indonesia. *Biodiversitas*, 22(4): 1839-1845. Doi: [org/10.13057/biodiv/d220429](https://doi.org/10.13057/biodiv/d220429)