

Antibacterial activity of gempol (*Nauclea orientalis* L.) leaf ethanolic extract and its fractions against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*

Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan fraksi daun gempol (*Nauclea orientalis* L.) terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Nia Kristiningrum*, Reny Diastri Noviriana, Lesty Wulandari

Fakultas Farmasi Universitas Jember

*Corresponding author: niakristiningrum.farmasi@unej.ac.id

Abstract

Background: The leaves of gempol (*N. orientalis* L.), a family of *Rubiaceae*, have an antibacterial activity.

Objective: The aim of this research was to determine the antibacterial activity of gempol leaf ethanolic extract and its fractions.

Methods: The antibacterial activity test was carried out using the disk diffusion method. The positive and negative controls used were a disk of 10 µg gentamicin and 10% DMSO solution, respectively. The test solution concentrations for each sample, including for the ethanolic extract, hexane fraction, ethyl acetate, and residue of gempol leaves, were 0.25%, 0.5%, 1%, 2%, and 5%.

Results: The antibacterial activity of the ethanolic extract, hexane fraction, ethyl acetate fraction, and residue of gempol leaves against *E. coli* and *S. aureus* was significantly different from each other. The residue had the highest antibacterial activity followed by that of the ethyl acetate fraction, hexane fraction, and ethanolic extract.

Conclusion: The antibacterial activity of gempol leaves against *S. aureus* was greater than against *E. coli*.

Keywords: Gempol, *Nauclea orientalis*, extract, fractions, antibacterial, diffusion

Intisari

Latar Belakang: Daun gempol (*N. orientalis* L.) merupakan salah satu famili *Rubiaceae* yang telah diketahui memiliki aktivitas anthelmintik dan antibakteri.

Tujuan: penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri berdasarkan zona hambat ekstrak etanol dan fraksi daun gempol.

Metode: yang digunakan ialah metode difusi cakram yang menghasilkan diameter zona hambat sebagai hasil dari uji aktivitas antibakteri. Kontrol positif yang digunakan yaitu cakram gentamisin 10 µg sedangkan kontrol negatif yang digunakan yaitu DMSO 10%. Larutan uji meliputi ekstrak etanol, fraksi heksana, etil asetat, dan residu daun gempol dengan masing-masing konsentrasi yaitu 0,25%; 0,5%; 1%; 2%; dan 5%.

Hasil: Aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol, fraksi heksan, etil asetat dan residu daun gempol terhadap *E. coli* dan *S. aureus* menunjukkan perbedaan yang signifikan. Residu memiliki aktivitas antibakteri tertinggi diikuti oleh fraksi etil asetat, fraksi heksana dan ekstrak etanol.

Kesimpulan: Aktivitas antibakteri pada *S. aureus* lebih besar dari pada *E. coli*.

Kata kunci : Gempol, *Nauclea orientalis*, ekstrak, fraksi, antibakteri, difusi

1. Pendahuluan

Salah satu masalah kesehatan yang paling utama di negara-negara berkembang seperti Indonesia yaitu penyakit infeksi. Pada negara berkembang atau negara dengan penghasilan rendah sekitar 3,5 juta orang meninggal setiap tahunnya dikarenakan penyakit infeksi (WHO, 2014). Selain itu, menurut data WHO pada tahun 2016 menunjukkan bahwa penyakit infeksi menjadi penyebab terbesar anak usia 1 bulan sampai 4 tahun mengalami kematian yang dikarenakan penyakit infeksi pernapasan, malaria, dan diare (WHO, 2018). Penyakit infeksi dapat disebabkan oleh bakteri antara lain seperti *Staphylococcus aureus* (infeksi nosokomial, infeksi saluran cerna, dan infeksi kulit), *Eschericia coli* (diare, meningitis, dan pneumonia), *Klebsiella pneumoniae* (pneumonia), dan lainnya.

Penggunaan tanaman herbal telah dipercaya secara turun menurun sehingga pemanfaatannya sebagai alternatif pengobatan dapat dijadikan referensi untuk pengembangan obat pada masa mendatang (Sharif, 2006). Salah satu tanaman herbal yang dapat digunakan yaitu gempol (*Nauclea orientalis* L.). Secara empiris kulit kayu gempol digunakan untuk pereda nyeri, gigitan hewan, luka, dan antidiare. Daun gempol juga digunakan secara empiris sebagai penghilang rasa nyeri, obat racun dari ikan, dan obat bisul dengan cara dioleskan (Cruz & Jubilo, 2014; Erdelmeier *et al.*, 1991).

Pada penelitian yang telah dilakukan sebelumnya *N. orientalis* L. memiliki beberapa aktivitas antara lain sebagai anthelmintik (Raghavamma & Rao, 2010) dan antibakteri pada *S. aureus* (ekstrak etanol cair daun *N. orientalis* L.) (Cruz & Jubilo, 2014). Skrining fitokimia dari ekstrak daun *N. orientalis* L. memiliki kandungan antara lain alkaloid, tanin, dan glikosida saponin (Cruz & Jubilo, 2014; Takayama *et al.*, 2005). Berdasarkan latar belakang tersebut peneliti ingin melakukan penelitian mengenai aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan fraksi daun gempol (*N. orientalis* L.) terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*.

2. Metode

2.1. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun gempol yang diambil secara acak dari pohonnya daun ke 2-3 tangkai di bawah pucuk kemudian dikeringkan dan diserbuk sehingga menjadi serbuk kering daun gempol. Daun gempol diperoleh dari Desa Ledokdawan, Kecamatan Geyer, Kabupaten Grobogan, Provinsi Jawa Tengah. Bahan yang digunakan untuk skrining fitokimia adalah sampel ekstrak dan fraksi, plat silika gel 60 GF₂₅₄ (Merck), kertas saring Whatman, HCl (smartlab), NaCl, larutan Mayer, larutan Wagner, NH₄OH 28% (Merck), kloroform (Merck), metanol

(Merck), larutan Dragendorff, asam asetat anhidrida (UNIVAR), H₂SO₄ p.a (Smartlab), etanol (Merck), anisaldehida asam sulfat, aquades, FeCl₃ (Sigma Aldrich) dan sitrat borat. Bahan untuk uji antibakteri adalah NaCl fisiologis, akuades steril, kertas saring, DMSO (Dimetil Sulfoksida) 10%, bakteri uji yang digunakan adalah *E. coli* ATCC 25922 dan *S. aureus* ATCC 6538. Media bakteri untuk peremajaan bakteri adalah *Nutrient Agar* (NA) (Merck) sedangkan media bakteri untuk uji metode difusi adalah *Mueller Hinton* (MH). Kontrol positif antibakteri menggunakan gentamisin cakram dengan konsentrasi 10 µg. Bahan kimia lain yang digunakan adalah etanol 96% (Merck), aquades, heksana p.a (Merck), etil asetat p.a, (Merck), dan metanol p.a (Merck).

2.2. Prosedur penelitian

2.2.1 Pengumpulan sampel dan determinasi tanaman

Sampel yang digunakan adalah daun gempol (*N. orientalis* L.) yang diambil secara acak dari pohonnya serta dipilih yang tidak muda dan tidak tua yaitu diambil daun ke 2-3 tangkai dibawah pucuk seperti pada Gambar 1. Daun gempol muda berwarna kemerahan dan daun tuanya berwarna hijau tua. Selanjutnya, determinasi dilakukan di Laboratorium Tanaman, Jurusan Produksi Pertanian, Politeknik Negeri Jember, Jawa Timur.



Gambar 1. Bagian daun gempol (Sumber: Koleksi pribadi)

2.2.2 Pembuatan simplisia

Daun gempol (*N. orientalis* L.) yang diambil, dicuci dengan air untuk menghilangkan kotoran. Daun gempol dikeringkan dengan cara diangin-anginkan yang diletakkan di wadah nampan dan tempat yang terbuka serta tidak terkena sinar matahari langsung. Daun gempol tersebut disimpan selama lima hari hingga daun menjadi kering ditandai dengan hancur saat diremas. Pembuatan serbuk daun gempol dilakukan dengan cara diblender dan diayak, hasil ayakan dipindahkan pada wadah yang tidak lembab.

2.2.3 Ekstraksi

Serbuk simplisia daun gempol sebanyak 200 gram dimaserasi menggunakan bantuan ultrasonik dengan 1,5 L etanol 96% selama 3 jam (terdapat jeda tiap 1 jam agar tidak terjadi panas yang tinggi) dengan perbandingan pelarut dan serbuk 1:7,5. Selanjutnya dilakukan remaserasi dengan cara dan pelarut yang sama. Ekstrak diuapkan dengan *rotary evaporator* dan dipekatkan dengan oven suhu 40-45°C. Ekstrak kental kemudian ditimbang untuk perhitungan rendemen.

2.2.4 Fraksinasi

Fraksinasi ekstrak dilakukan dengan metode partisi cair-cair secara bertingkat menggunakan pelarut heksana dan etil asetat. Ekstrak etanol daun gempol sebanyak 5 gram dilarutkan dalam 5 mL metanol dan 45 mL akuades. Perbandingan pelarut fraksinasi dengan larutan ekstrak etanol kental adalah 1:1, sehingga semua pelarut menggunakan volume 50 mL. Hasil fraksinasi kemudian ditimbang untuk perhitungan rendemen.

2.2.5 Skrining fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk menentukan komponen bioaktif yang terdapat pada ekstrak etanol dan fraksi daun gempol. Skrining fitokimia yang dilakukan terdiri dari uji alkaloid, glikosida saponin, polifenol/tanin, dan flavonoid. Uji skrining fitokimia dilakukan dengan 2 metode yaitu uji tabung dan KLT (Kromatografi Lapis Tipis).

2.2.6 Tahapan uji aktivitas antibakteri

1) Pembuatan media

Media NA dibuat dengan cara menimbang serbuk NA sebanyak 23 gram dilarutkan dalam 1 L akuades lalu dipanaskan sampai mendidih dan tepat larut sedangkan media MHA dibuat dengan menimbang serbuk MHA sebanyak 38 gram dilarutkan dalam 1 L akuades dan dipanaskan sampai mendidih hingga semuanya larut. Selanjutnya media NA dan MHA disterilkan menggunakan autoklaf suhu 121°C selama 15 menit.

2) Peremajaan biakan bakteri

Biakan bakteri murni diremajakan pada media NA dalam tabung reaksi dengan cara menggoreskan pada media NA miring kemudian diinkubasi selama 24 jam dalam inkubator pada suhu 37°C.

3) Pembuatan larutan uji

Larutan uji ekstrak dibuat dengan lima seri konsentrasi yaitu 0,25%; 0,5%; 1%; 2%; dan 5% sedangkan larutan uji fraksi dibuat juga dengan 5 seri konsentrasi yaitu 0,25%; 0,5%; 1%; 2%; dan 5% dengan menggunakan pelarut DMSO 10% untuk masing-masing konsentrasi. Larutan uji dibuat dengan cara menimbang sebanyak 500 mg dalam 1 mL. Kemudian dilakukan pengenceran konsentrasi ekstrak dan fraksi sebanyak 1 mL untuk tiap masing-masing konsentrasi.

4) Pembuatan suspensi bakteri

Bakteri yang diremajakan pada umur 24 jam diambil sebanyak 1 ose dan dimasukkan dalam 5 mL NaCl fisiologis. Suspensi bakteri divortex dan diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 625 nm hingga absorbansinya sama dengan standar Mc Farland 0,5 (Wiegand *et al.*, 2008).

5) Uji aktivitas antibakteri

Metode uji aktivitas antibakteri yang digunakan adalah metode difusi cakram. Stok bakteri *E. coli* dan *S. aureus* dalam larutan NaCl fisiologis 0,9% sebanyak 100 µL suspensi bakteri dituangkan pada permukaan media MHA di cawan petri dan diratakan menggunakan *spreader* kemudian plat kultur didiamkan hingga 15 menit. Setelah itu, diletakkan cakram steril yang telah dipreparasi sebelumnya dengan ditambahkan larutan uji sebanyak 10 µL masing-masing konsentrasi. Kontrol positif dan kontrol negatif yang digunakan berturut-turut adalah antibiotik gentamisin 10 µg dan larutan DMSO 10%. Masing-masing cawan petri kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 20 jam menggunakan inkubator. Diameter zona hambat yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong dan data dicatat dalam satuan milimeter. Data diameter zona hambat ekstrak etanol dan fraksi daun gempol kemudian dilakukan analisis data secara statistik.

3. Hasil dan pembahasan

3.1. Ekstraksi

Ekstrak etanol yang diperoleh kemudian selanjutnya ditimbang dan dihitung persen rendemennya. Hasil ekstrak etanol didapatkan sebanyak 29,98 gram dan persen rendemen sebesar 14,99%. Pembuatan ekstrak daun gempol menggunakan metode maserasi dengan bantuan ultrasonik dan pelarut etanol 96%. Metode maserasi dengan bantuan ultrasonik dipilih karena mampu meningkatkan rendemen dan mengurangi waktu ekstraksi suatu sampel (Clark & Macquarrie, 2002). Selain itu ultrasonik tidak menggunakan proses pemanasan sehingga metabolit zat aktif didalam ekstrak yang tidak tahan panas tidak ikut terdegradasi akibat pemanasan. Pelarut etanol dipilih karena pelarut *universal* bersifat polar dan mudah menguap serta

mampu mengekstrak senyawa aktif yang lebih banyak dibandingkan jenis pelarut organik lainnya (Poeloengan *et al.*, 2007).

3.2. Fraksinasi

Hasil fraksinasi yang diperoleh selanjutnya ditimbang dan dihitung persen rendemennya. Rendemen fraksi merupakan persentase perbandingan fraksi kental yang diperoleh dengan berat ekstrak kental yang difraksinasi. Perhitungan persen rendemen fraksi ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil fraksinasi sampel daun gempol (*N. orientalis* L.)

Sampel	Bobot ekstrak (g)	Bobot fraksi (g)	Rendemen (%) dalam ekstrak	Rendemen (%) dalam simplisia
Fraksi heksana	5,00	0,24	4,80	0,72
Fraksi etil asetat	5,00	0,56	11,20	1,68
Residu	5,00	2,32	46,40	6,96

Berdasarkan hasil rendemen yang diperoleh, residu memiliki rendemen tertinggi dilanjutkan fraksi etil asetat dan fraksi heksana. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa yang paling banyak dalam residu daun gempol adalah senyawa polar. Adanya perbedaan persen rendemen dari setiap fraksi dikarenakan adanya perbedaan distribusi komponen senyawa yang dapat larut dalam pelarut tertentu (Dai & Mumper, 2010).

3.3. Skrining fitokimia

Hasil uji tabung dan KLT di dalam ekstrak etanol daun gempol terdapat senyawa alkaloid, saponin, tanin, dan flavonoid. Pada uji tabung dan KLT di dalam fraksi heksana terdapat senyawa alkaloid. Uji tabung dan KLT di dalam fraksi etil asetat terdapat senyawa alkaloid dan tanin. Uji tabung dan KLT di dalam residu terdapat senyawa alkaloid, saponin, tanin, dan flavonoid. Hasil skrining fitokimia dapat dilihat pada Tabel 2 dan Gambar 2.

Tabel 2. Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol dan fraksi daun gempol (*N. orientalis* L.)

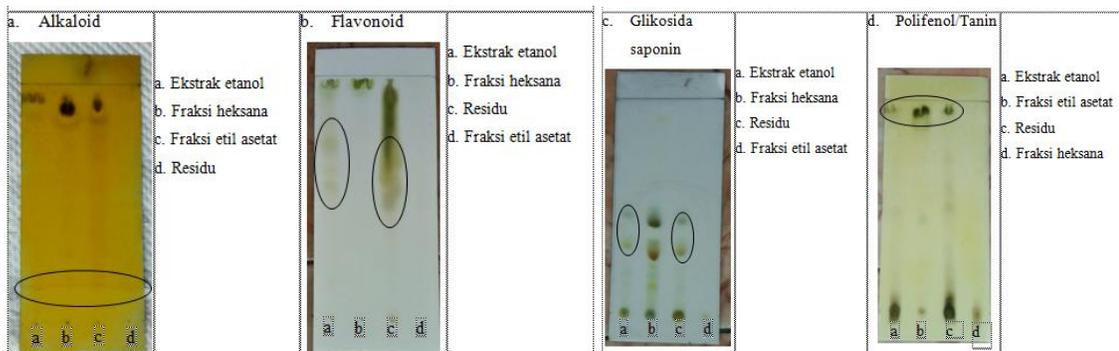
Kandungan kimia	Ekstrak etanol		Fraksi heksana		Fraksi etil asetat		Residu	
	Uji tabung	KLT	Uji tabung	KLT	Uji tabung	KLT	Uji tabung	KLT
Alkaloid	+	++	+	+	+	+	+	+
Glikosida saponin	+	+	-	-	-	-	+	+
Polifenol/ Tanin	+	+	-	-	+	++	+	+
Flavonoid	+	+	-	-	-	-	+	++

Keterangan:

Tanda (-) : tidak terdeteksi

Tanda (+) : terdeteksi

Tanda (++) : terdeteksi, intensitas lebih besar



Gambar 2. Hasil skrining KLT ekstrak etanol, fraksi heksana, fraksi etil asetat, dan residu daun gempol (*N. orientalis* L.)

Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun gempol mengandung senyawa alkaloid, saponin, tanin, dan flavonoid yang dapat memiliki aktivitas antibakteri. Alkaloid sebagai antibakteri yaitu dengan cara mengganggu sel bakteri pada komponen penyusun peptidoglikan sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Karou *et al.*, 2006). Glikosida saponin sebagai antibakteri yaitu dapat menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel bakteri serta saponin memiliki zat aktif yang permukaannya mirip detergen, akibatnya saponin akan menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri dan merusak permeabilitas membran (Madduluri & Rao, 2013). Tanin sebagai antibakteri yaitu kemampuannya menghambat sintesis khitin yang digunakan untuk pembentukan dinding sel pada mikroba dan merusak membran sel sehingga pertumbuhan mikroba terhambat (Sudira *et al.*, 2011). Flavonoid sebagai antibakteri yaitu dengan menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel, dan menghambat metabolisme energi (Hendra *et al.*, 2011).

3.4. Uji aktivitas antibakteri

Perbedaan hasil pengamatan diameter zona hambat ekstrak etanol dan fraksi daun gempol terhadap *E. coli* dan *S. aureus* ditunjukkan pada Tabel 3 dan Tabel 4. Hasil yang ditunjukkan oleh kontrol positif yaitu gentamisin menunjukkan adanya hambatan terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus*, sedangkan kontrol negatif tidak memberikan hambatan pada bakteri uji, hal ini menunjukkan bahwa metode uji aktivitas antibakteri yang dilakukan sudah benar. Berdasarkan Tabel 3 dan Tabel 4, ekstrak etanol belum menunjukkan aktivitas penghambatan pada konsentrasi 0,25%, sedangkan untuk fraksi heksana, etil asetat, dan residu telah menunjukkan aktivitas penghambatan bakteri *E. coli* pada konsentrasi 0,25%. Pada keempat sampel yang diujikan terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*, residu memberikan hambatan yang paling besar dibandingkan dengan sampel lainnya. Hal ini kemungkinan karena kandungan senyawa metabolit

sekunder yang berkontribusi terhadap aktivitas antibakteri banyak terdapat pada residu seperti golongan alkaloid, glikosida, polifenol dan flavonoid. Aktivitas antibakteri dari terbesar hingga terkecil jika diurutkan yaitu residu, fraksi etil asetat, fraksi heksana, dan ekstrak.

Tabel 3. Hasil pengamatan diameter zona hambat ekstrak etanol, fraksi heksana, fraksi etil asetat, dan residu daun gempol (*N. orientalis* L.) terhadap bakteri *E. coli*

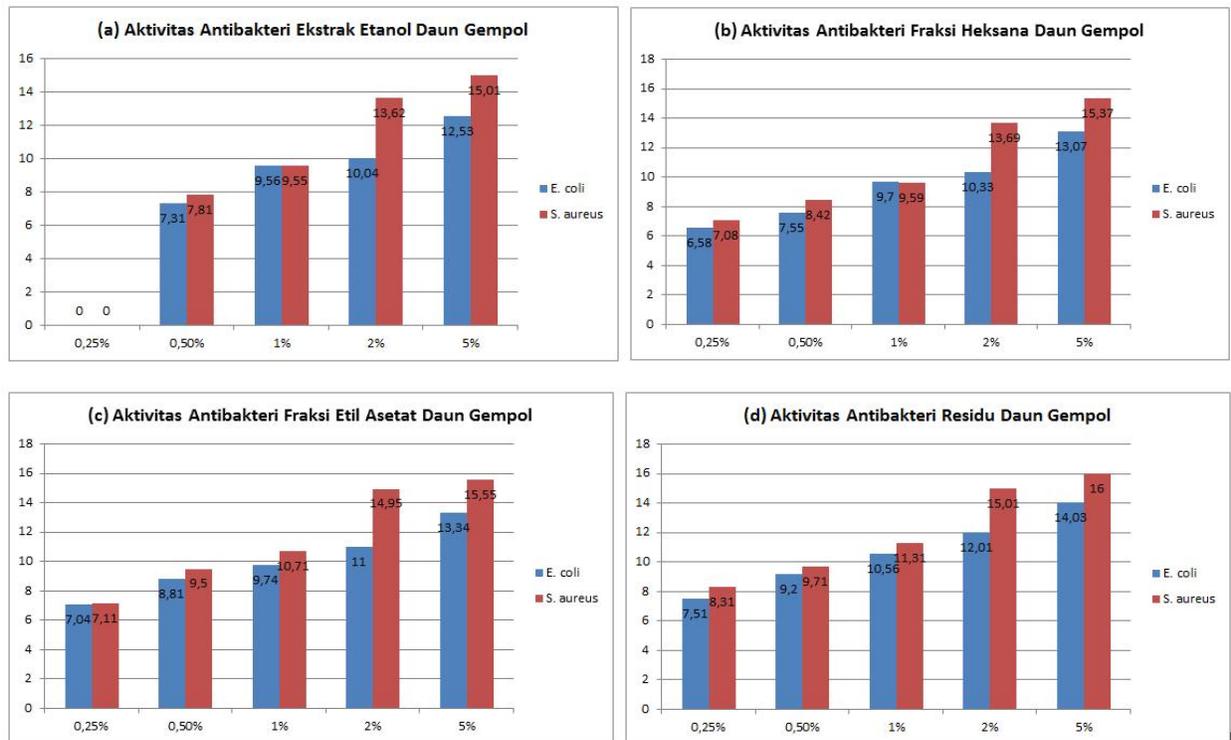
Konsentrasi (%)	Diameter zona hambat ± SD (mm) (n=3)			
	Ekstrak etanol	Fraksi heksana	Fraksi etil asetat	Residu
0,25	0,00 ± 0,00	6,58 ± 0,03	7,04 ± 0,05	7,51 ± 0,01
0,5	7,31 ± 0,02	7,55 ± 0,04	8,81 ± 0,01	9,20 ± 0,01
1	9,56 ± 0,05	9,70 ± 0,01	9,74 ± 0,04	10,56 ± 0,01
2	10,04 ± 0,03	10,33 ± 0,77	11,00 ± 0,00	12,01 ± 0,02
5	12,53 ± 0,03	13,07 ± 0,01	13,34 ± 0,01	14,03 ± 0,03
Kontrol +	28,55 ± 0,04	29,11 ± 0,01	29,62 ± 0,04	30,00 ± 0,00
Kontrol -	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00

Tabel 4. Hasil pengamatan diameter zona hambat ekstrak etanol, fraksi heksana, fraksi etil asetat, dan residu daun gempol (*N. orientalis* L.) terhadap bakteri *S. aureus*

Konsentrasi (%)	Diameter zona hambat ± SD (mm) (n=3)			
	Ekstrak etanol	Fraksi heksana	Fraksi etil asetat	Residu
0,25	0,00 ± 0,00	7,08 ± 0,04	7,11 ± 0,01	8,31 ± 0,01
0,5	7,81 ± 0,01	8,42 ± 0,03	9,50 ± 0,01	9,71 ± 0,01
1	9,55 ± 0,07	9,59 ± 0,04	10,71 ± 0,01	11,31 ± 0,01
2	13,62 ± 0,03	13,69 ± 0,07	14,95 ± 0,01	15,01 ± 0,02
5	15,01 ± 0,01	15,37 ± 0,06	15,55 ± 0,00	16,00 ± 0,00
Kontrol +	29,96 ± 0,10	30,31 ± 0,02	30,03 ± 0,02	29,90 ± 0,09
Kontrol -	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00

Pengujian antibakteri ekstrak etanol dan fraksi daun gempol menggunakan metode difusi cakram. Metode ini dipilih karena dapat digunakan untuk melakukan skrining awal untuk mengetahui aktivitas antibakteri suatu larutan uji, serta merupakan metode yang sederhana dibandingkan metode uji yang lain seperti metode difusi sumuran (Balouiri *et al.*, 2016). Gentamisin sebagai kontrol positif digunakan untuk mengetahui kesesuaian metode yang digunakan pada penelitian ini. Gentamisin dipilih karena memiliki spektrum yang luas baik pada bakteri gram positif maupun gram negatif (Katzung *et al.*, 2015). Pelarut DMSO 10% sebagai kontrol negatif digunakan untuk mengetahui pengaruh pelarut ekstrak terhadap penghambatan bakteri dan merupakan pelarut organik yang tidak bersifat bakterisidal. Pelarut ini dapat digunakan untuk pelarut ekstrak maupun fraksi uji karena mampu melarutkan senyawa polar maupun non polar. Pada uji antibakteri gentamisin menunjukkan aktivitas antibakteri dan DMSO 10% tidak memberikan aktivitas antibakteri.

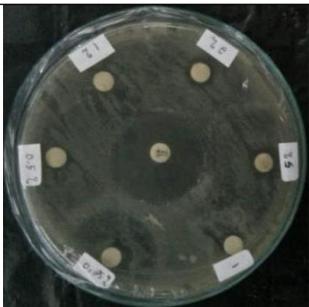
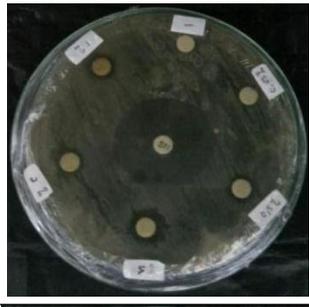
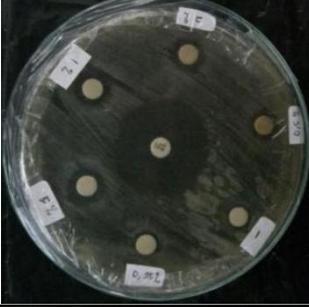
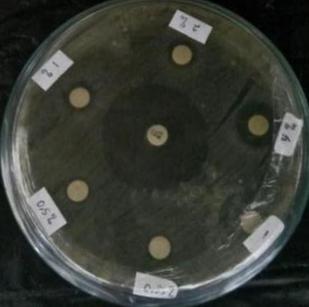
Ekstrak etanol dan fraksi daun gempol memiliki aktivitas antibakteri yang hampir sama terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Aktivitas antibakteri tersebut dapat dilihat pada Gambar 3 dan dokumentasi pengamatan dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 3. Grafik aktivitas antibakteri daun gempol (*N. orientalis* L.)
Keterangan: x= konsentrasi ekstrak atau fraksi (%), y= diameter zona hambat (mm)

Grafik pada Gambar 3 menunjukkan bahwa residu memiliki aktivitas penghambatan yang tinggi pada kedua bakteri uji dibandingkan ekstrak etanol, fraksi heksana, dan fraksi etil asetat daun gempol dimungkinkan banyak senyawa yang tertinggal didalamnya dibuktikan dengan skrining fitokimia pada residu mengandung metabolit sekunder seperti alkaloid, glikosida saponin, tanin dan flavonoid. Diantara kedua bakteri tersebut, ekstrak etanol dan fraksi daun gempol menunjukkan aktivitas penghambatan yang dominan lebih tinggi terhadap *S. aureus* dibandingkan aktivitas penghambatan terhadap *E. coli*. Hal tersebut dapat dilihat dari nilai diameter hambat yang dihasilkan dimana diameter hambat terhadap *S. aureus* relatif lebih besar dibandingkan diameter hambat terhadap *E. coli*. Aktivitas yang lebih tinggi terhadap *S. aureus* daripada *E. coli* ini sesuai dengan sifat dinding sel yang dimiliki bakteri tersebut. Struktur dinding sel bakteri gram negatif lebih kompleks dibandingkan bakteri gram positif. Bakteri gram negatif memiliki dinding sel yang terdiri dari 3 lapisan yaitu, lapisan luar, lapisan tengah, dan lapisan dalam, sedangkan bakteri gram positif hanya mempunyai lapisan tunggal pada dinding selnya. Struktur dinding sel yang lebih

kompleks pada bakteri gram negatif menyebabkan senyawa antibakteri lebih sukar masuk ke dalam sel dan menemukan sasaran untuk bekerja (Biswas *et al.*, 2013). Data hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan fraksi daun gempol menunjukkan perbedaan secara signifikan.

No.	Sampel	Zona hambat terhadap <i>E. coli</i>	Zona hambat terhadap <i>S. aureus</i>
1.	Ekstrak etanol		
2.	Fraksi heksana		
3.	Fraksi etil asetat		
4.	Residu		

Gambar 4. Hasil pengamatan zona hambat ekstrak etanol dan fraksi daun gempol (*N. orientalis* L.) terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*

4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan zona hambat antara ekstrak etanol dan fraksi daun gempol (*N. orientalis* L.) terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* yaitu nilai aktivitas antibakteri zona hambat dari yang tinggi ke rendah secara berurutan adalah residu, fraksi etil asetat, fraksi heksana, dan ekstrak. Selain itu, nilai aktivitas antibakteri ekstrak, fraksi maupun residu daun gempol terhadap bakteri *S. aureus* lebih baik dibandingkan terhadap bakteri *E. coli*.

Daftar pustaka

- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibsouda, S. K. (2016). Methods for In Vitro Evaluating Antimicrobial Activity: A Review. *J Pharm Anal*, 6(2), 71-79. doi:10.1016/j.jpha.2015.11.005
- Biswas, B., Rogers, K., McLaughlin, F., Daniels, D., & Yadav, A. (2013). Antimicrobial Activities of Leaf Extracts of Guava (*Psidium guajava* L.) on Two Gram-Negative and Gram-Positive Bacteria. *Int J Microbiol*, 2013, 746165. doi:10.1155/2013/746165
- Clark, J., & Macquarrie, D. J. (2002). *Handbook of Green Chemistry and Technology* (T. J. Mason & P. Cintas ed.). London: Blackwell Science Ltd.
- Cruz, J. P., & Jubilo, R. M. (2014). Evaluation of the Anti - Staphylococcal Activity of *Nauclea Orientalis* Linn. *European Scientific Journal*, 10(27). doi:https://doi.org/10.19044/esj.2014.v10n27p0p
- Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. *Molecules*, 15(10), 7313-7352. Retrieved from <https://www.mdpi.com/1420-3049/15/10/7313>
- Erdelmeier, C. A., Wright, A. D., Orjala, J., Baumgartner, B., Rali, T., & Sticher, O. (1991). New Indole Alkaloid Glycosides from *Nauclea orientalis*. *Planta Med*, 57(2), 149-152. doi:10.1055/s-2006-960052
- Hendra, R., Ahmad, S., Sukari, A., Shukor, M. Y., & Oskoueian, E. (2011). Flavonoid Analyses and Antimicrobial Activity of Various Parts of *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl Fruit. *Int J Mol Sci*, 12(6), 3422-3431. doi:10.3390/ijms12063422
- Karou, S. D., Savadogo, A., Canini, A., Yameogo, S., Montesano, C., Simpore, J., Colizzi, V., & Traore, A. (2006). Antibacterial Activity of Alkaloids from *Sida acuta*. *african journal of biotechnology*, 5, 195-200. doi:10.4314/ajb.v4i12.71463
- Katzung, B. G., Masters, S. B., & Anthony, J. T. (2015). *Basic and Clinical Pharmacology* (13 ed.). San Fransisco: Mc Graw Hill.
- Madduluri, S., & Rao, K. B. (2013). *In Vitro Evaluation of Antibacterial Activity of Five Indigenous Plants Extracts Against Five Bacteria Pathogens of Humans*.
- Poeloengan, M., Andriani, A., M.N, S, Komala, I., & Hasnita, M. (2007). Uji Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Batang Bungur (*Largerstoremia speciosa* Pers.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* Secara In Vitro Paper presented at the Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner, Bogor. <http://repository.ipb.ac.id/handle/123456789/83469>
- Raghavamma, D. S. T. V., & Rao, N. (2010). In Vitro Evaluation of Anthelmintic Activity of *Nauclea orientalis* Leaves. *Indian journal of pharmaceutical sciences*, 72, 520-521. doi:10.4103/0250-474X.73932
- Sharif, M. (2006). *Status and Utilization of Medicinal Plants in Rangamati of Bangladesh*.

- Sudira, I. W., Merdana, I., & Wibawa, I. (2011). Uji daya hambat ekstrak daun kedondong (*Lannea Grandis Engl*) terhadap pertumbuhan bakteri *Erwinia carotovora*.
- Takayama, H., Kitajima, M., & Kogure, N. (2005). Chemistry of Indole Alkaloids Related to the Corynanthe-Type from *Uncaria*, *Nauclea* and *Mitragyna* Plants. *Current Organic Chemistry*, 9, 1445-1464. doi:10.2174/138527205774370559
- WHO. (2014). World Health Statistics 2014. Retrieved from <https://www.who.int/news/item/15-05-2014-world-health-statistics-2014>
- WHO. (2018). World Health Statistics 2018: Monitoring Health For The SDGS, Sustainable Development Goals. Retrieved from <https://apps.who.int/iris/handle/10665/272596>
- Wiegand, I., Hilpert, K., & Hancock, R. E. (2008). Agar and Broth Dilution Methods to Determine the Minimal Inhibitory Concentration (MIC) of Antimicrobial Substances. *Nat Protoc*, 3(2), 163-175. doi:10.1038/nprot.2007.521