

The Activity of Lenglangan Leaf Extract (*Leucas lavandulifolia* Sm.) as an Antibacterial for *Staphylococcus aureus*

Virgolie D. Ximenes^{1*}, Refli¹, Djeffry Amalo¹, Alfred Dima¹, Rony Mauboy¹, Maria Ruma¹

¹Program Studi Biologi, FST Universitas Nusa Cendana, Kupang, Indonesia.

Article History

Received : February 28th, 2022

Revised : March 20th, 2022

Accepted : April 10th, 2022

*Corresponding Author:

Virgolie D. Ximenes¹,
Program Studi Biologi,
Fakultas Sains dan Teknik,
Universitas Nusa Cendana,
Kupang, Indonesia.
Email:
virgisimenes@gmail.com

Abstract: Dafala village is one of the villages in NTT that uses lenglangan leaves as traditional medicine to treat diseases such as coughs, TBC, diarrhea and back pain. This present research aims to know the bioactive compounds and composition of the bioactive contained in Lenglangan (*Leucas lavandulifolia* Sm.) leaf extract, and too know the effectiveness of lenglangan leaf extract in inhibiting *Staphylococcus aureus* bacteria. We extracted leaves of Lenglangan by maceration method using ethanol. The extract was obtained and then tested in a qualitative way to determine the bioactive compounds are made by using reagents. While in the quantitative test to Determine of levels of flavonoids, phenols and tannins using UV-Vis spectrophotometry method, alkaloids and saponins using the gravimetric method. The Antibacterial test was carried out by disc paper method. Paper discs containing extract concentrations: 12.5%, 25%, 50%, 62.5% and 75%, positive control (gentamicin) and negative control (aquadest) were placed on MHA media containing *S. aureus* suspension, incubated at 37°C for 24 hours and then the diameter of the inhibition was observed. Qualitative test result show that the lenglangan leaf extract contains 5 bioactive compounds include alkaloids, flavonoids, saponins, tannins, and phenols. The composition of bioactive compounds in Lenglangan leaf extract: flavonoids 23.93%, saponins: 19.05%, alkaloids: 15.28%, tannins: 5.81%, and phenols: 2,335%. The antibacterial result reveal that lenglangan leaf extract was significantly affect in inhibiting *Staphylococcus aureus*. The higher concentration of extract lenglangan leaves used, the higher the inhibition zone produced. The highest level response inhibition showed from level of 12.5%: 11.3 mm, 25%: 12.4 mm, 50%: 13.43 mm, 62.5%: 14.43 mm and 75%: 15.58 mm, gentamicin: 17.4 mm aquadest: 0 mm.

Keywords: Antibacterial, bioactive, Lenglangan, *Staphylococcus aureus*.

Pendahuluan

Bakteri patogen merupakan salah satu penyebab penyakit infeksi di daerah beriklim tropis seperti Indonesia (Sari *et al*, 2017). Hal ini dikarenakan daerah beriklim tropis memiliki udara yang hangat dan lembab serta sanitasi yang buruk sehingga memudahkan penyebaran penyakit infeksi. Penyakit yang disebabkan oleh infeksi merupakan salah satu penyebab kematian yang cukup tinggi di Indonesia. Infeksi yang sering dialami oleh masyarakat antara lain infeksi kulit seperti bisul, luka bakar, luka karena gigitan ular, infeksi saluran pernafasan seperti batuk, TBC, asma, dll (Sumiyati, 2014). Penyebab penyakit infeksi tersebut adalah *Staphylococcus aureus*. Bakteri ini dapat hidup sebagai saprofit

pada permukaan kulit, saluran usus, kelenjar keringat dan saluran tubuh manusia (Ningsih *et al*, 2013) disertai peradangan ringan hingga akut. Upaya pencegahan (*preventive*) dan pengobatan (*kuratif*) sudah dilakukan dengan pendekatan medis dan penggunaan herbal alami.

Pendekatan medis dilakukan dengan pemberian antibiotik. Namun penggunaan antibiotik yang semakin meluas disertai ketidaksiplinan dan atau ketidaktahuan masyarakat menyebabkan peningkatan resistensi. Peningkatan resistensi bakteri menjadi permasalahan tetap tingginya prevalensi penyakit infeksi pada masyarakat jika tidak diimbangi penemuan antibiotik baru. Oleh karena itu, penggunaan pendekatan herbal alami menjadi salah satu alternatif untuk menghambat

penularan penyakit infeksi *Staphylococcus aureus*.

Penggunaan herbal dalam pencegahan dan pengobatan penyakit patogenik telah dilakukan sejak lama oleh masyarakat yang didasarkan pada pengetahuan tradisional (*traditional knowledge*) yang diwariskan secara turun-temurun. Salah satu tumbuhan yang sering dimanfaatkan oleh masyarakat Suku Tetun di Desa Dafala Kabupaten Belu Provinsi Nusa Tenggara Timur adalah Lenglenen (*Leucas lavandulifolia* Sm.).

Lenglenen (*Leucas lavandulifolia* Sm.) merupakan tumbuhan dikotil berbentuk herba dengan tinggi mencapai 0,95 meter (Anas *et al.*, 2015). Oleh masyarakat Desa Dafala, akar dan daun Lenglenen (*Leucas lavandulifolia* Sm.) yang pahit sering digunakan untuk mengobati penyakit infeksi pernafasan seperti batuk, TBC, dan sakit pinggang. Untuk pengobatan sakit pinggang masyarakat meminum rebusan tumbuhan ini. Sedangkan untuk penyakit batuk, TBC bisa dengan mengunyah langsung bagian akar dan daunnya ataupun dengan meminum air rebusannya. Efek kuratif yang dirasakan bisa dengan sekali minum ataupun beberapa kali diminum.

Hasil pengamatan dan pengalaman empiris diduga Lenglenen (*Leucas lavandulifolia* Sm.) mempunyai aktivitas antibakteri karena di samping digunakan dalam penyembuhan penyakit infeksius di atas juga digunakan sebagai obat oles untuk penyembuhan luka luar yang telah infeksi. Walaupun pengalaman masyarakat telah mengindikasikan bahwa Lenglenen (*Leucas lavandulifolia* Sm.) dapat menghambat bakteri, namun kajian dengan pendekatan ilmiah belum melaporkan mengenai senyawa bioaktif yang terkandung dan potensi sebagai antibakteri *Staphylococcus aureus*. Oleh karena itu peneliti tertarik dan telah melakukan penelitian dengan judul aktivitas ekstrak daun lenglenen (*Leucas lavandulifolia* Sm.) sebagai antibakteri *Staphylococcus aureus*.

Tujuan yang ingin dicapai dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kandungan senyawa bioaktif dalam ekstrak daun Lenglenen (*Leucas lavandulifolia* Sm.) dan juga untuk mengetahui komposisi kandungan senyawa bioaktif daun Lenglenen (*Leucas lavandulifolia* Sm.) serta untuk mengetahui ekstrak daun Lenglenen (*Leucas lavandulifolia* Sm.) efektif dalam menghambat bakteri *Staphylococcus aureus*.

Manfaat dari penelitian ini adalah dapat memberi informasi ilmiah tentang potensi daun

Lenglenen (*Leucas lavandulifolia* Sm.) sebagai antibakteri *Staphylococcus aureus* serta menstimulasi dilakukan penelitian-penelitian lanjutan untuk mengungkap lebih dalam tentang potensi Lenglenen (*Leucas lavandulifolia* Sm.) untuk dijadikan sebagai rujukan dalam memilih obat herbal sebagai obat alternatif obat paten yang sudah ada dan selanjutnya dikembangkan dan dikonservasi.

Bahan dan Metode

Bahan

Daun lenglenen (*Leucas lavandulifolia* Sm.), bakteri uji *S. aureus*. Pelarut yang digunakan adalah EtOH 70 % dan Aquades. Media yang digunakan untuk uji mikrobiologi adalah *Muller Hinton Agar* (MHA) dan *Nutrient Broth* (NB). Bahan-bahan lain yang digunakan adalah CH₃COOH pekat, H₂SO₄, HCl, larutan Mayer, baku standar quersetin, larutan NaOH, larutan FeCl₃, AlCl₃, Natrium Asetat, Kalium Asetat, Amonium Hidroksida, Petroleum.

Metode

Penelitian untuk uji kualitatif dan kuantitatif senyawa bioaktif telah dilaksanakan di Laboratorium Kimia Unika Kupang dan uji aktivitas antibakteri telah dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi FKIP Undana Kupang. Jenis Penelitian ini adalah *multivariat non parametrik* untuk mengetahui daya hambat pada bakteri *S. aureus* dengan menggunakan lima variasi konsentrasi yaitu: 12,5%, 25%, 50%, 62,5% dan 75% daun Lenglenen (*Leucas lavandulifolia* Sm.). Kontrol positif yaitu Gentamisin dan kontrol negatif yaitu akuades setiap kelompok berjumlah tujuh disk menggunakan metode difusi cakram (4 kali pengulangan). Data kandungan kualitatif dan kuantitatif senyawa bioaktif pada ekstrak etanol daun Lenglenen (*Leucas lavandulifolia* Sm.) dianalisis secara deskriptif kemudian hasil analisisnya disajikan dalam bentuk tabel dan gambar. Sementara data pengukuran zona hambat dianalisis menggunakan uji *Kruskall-Wallis* dan dilanjutkan dengan uji tengah perlakuan menggunakan Uji DMRT 5%.

Persiapan dan Sterilisasi Alat

Sterilisasi alat dan bahan dilakukan terlebih dahulu sebelum melakukan pengujian, baik secara mekanik untuk alat yang berbahan kaca seperti cawan petri, gelas ukur, labu ukur,

tabung reaksi dengan autoklaf pada suhu 121 °C, tekanan 1 atm selama 15 menit, maupun secara kimia dengan alkohol 70% untuk alat-alat yang berbahan karet sedangkan alat lain yang digunakan seperti jarum ose disterilisasi dengan 2. pemijaran atau dilewatkan pada nyala bunsen (Kharisma & Manan, 2019).

Pembuatan Simplisia

Daun ke tiga ke empat Lenglenen (*Leucas lavandulifolia* Sm.) segar, yang terpapar cahaya matahari, dipanen, dibersihkan, kemudian dikering anginkan. Daun yang sudah kering dihaluskan dan diayak, kemudian simplisia yang diperoleh disimpan dalam kantong plastik sampai siap digunakan.

Pembuatan Ekstrak

Maserasi

Simplisia (800 gram) dimaserasi dengan 1000 ml etanol 70% di dalam gelas piala 2 L tertutup selama 5 hari pada kondisi suhu kamar sambil sesekali diaduk agar proses maserasi 4. berlangsung secara merata. Setelah inkubasi campuran simplisia difiltrasi dengan menggunakan kertas saring *Whitman* No. 42. Maserasi dilakukan sebanyak dua kali setelah itu filtratnya disimpan dalam botol gelas pada suhu 4-7°C.

Ekstraksi

Filtrat yang diperoleh dievaporasi hingga 5. pekat menggunakan evaporator pada suhu 40-45°C, dengan kecepatan 50 RPM selama 4 jam. Ekstrak yang diperoleh diesterifikasi melalui penambahan CH₃COOH pekat dan H₂SO₄ pekat pada sampel ekstrak agar menghilangkan etanol yang terkandung dalam ekstrak.

Uji Kualitatif Kandungan Bioaktif Ekstrak

Identifikasi kandungan bioaktif secara kualitatif ditunjukkan pada lima senyawa metabolit utama yang meliputi alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan fenol.

1. Uji alkaloid. Sebanyak 0,5 gram ekstrak daun Lenglenen (*Leucas lavandulifolia* Sm.), ditambahkan HCl 2N sebanyak 1 mL, dipanaskan kemudian ditetesi dengan reagen Mayer dengan reagen *Dragendorf*. Jika dalam penambahan kedua reagen tersebut secara berurutan ke dalam ekstrak terjadi perubahan warna putih atau kuning kemudian diikuti dengan terbentuknya

endapan berwarna coklat, kuning sampai jingga pada campuran, maka dapat dinyatakan bahwa terdapat senyawa alkaloid dalam ekstrak (Harborne, 2006).

Uji flavonoid. Sebanyak 0,5 gram ekstrak daun Lenglenen (*Leucas lavandulifolia* Sm.) dilarutkan dalam etanol 70% sebanyak 2 mL kemudian ditetesi dengan 3 tetes larutan NaOH, dikocok secara perlahan selama 15 detik kemudian ditetesi dengan 3 tetes H₂SO₄. Jika pada penambahan NaOH menyebabkan ekstrak berwarna kuning, kemudian setelah ditetesi dengan H₂SO₄ warna kuning ekstrak menjadi tidak berwarna dapat dinyatakan bahwa ekstrak tersebut mengandung senyawa flavonoid (Tiwari *et al.*, 2011).

3. Uji saponin. Sebanyak 0,5 gram ekstrak daun Lenglenen (*Leucas lavandulifolia* Sm.) dilarutkan dalam 10 ml aquades. Setelah larut larutan kemudian dikocok selama 5-10 menit. Senyawa saponin yang terbentuk dalam ekstrak dapat dilihat dari adanya busa setinggi 1 cm (Tiwari *et al.*, 2011).

Uji tanin. Sebanyak 0,5 gram ekstrak daun Lenglenen (*Leucas lavandulifolia* Sm.) dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambah 10 ml aquadest kemudian dipanaskan hingga mendidih. Setelah ekstrak didinginkan, ekstrak disaring dan filtrat yang didapat ditetesi dengan 3 tetes larutan FeCl₃. Perubahan warna dari biru kehitaman atau hijau kecoklatan menunjukkan adanya senyawa tanin dalam ekstrak (Tiwari *et al.*, 2011)

Uji fenol. Sebanyak 0,5 gram ekstrak daun Lenglenen (*Leucas lavandulifolia* Sm.) dimasukkan dalam tabung reaksi, dilarutkan dalam 2 ml etanol 70% dan ditetesi dengan 3 tetes larutan FeCl₃. Senyawa fenol yang terbentuk dapat dilihat dari adanya perubahan warna pada campuran menjadi hitam kebiruan (Tiwari *et al.*, 2011). Warna hitam kebiruan yang terbentuk pada campuran dapat dinyatakan bahwa ekstrak mengandung senyawa fenol.

Uji Kuantitatif Kandungan Bioaktif Daun Lenglenen (*Leucas lavandulifolia* Sm.)

Kandungan Flavonoid Total

Pembuatan Kurva kuerstein

Baku standar kuerstein 25 mg, dimasukkan ke dalam labu ukur lalu ditambahkan EtOH 70% sampai tanda batas dengan konsentrasi 1000 ppm. Setiap lima labu ukur dengan konsentrasi 0, 0,5, 1, 1.5 dan 2 mL larutan standar dimasukkan ke dalam masing-masing labu ukur

10 mL kemudian ditambahkan EtOH sampai tanda batas untuk mendapatkan konsentrasi akhir secara berurutan yaitu 0 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, dan 200 ppm. Setelah itu dari larutan stok dipipet sebanyak 1 mL dari masing-masing konsentrasi lalu ditambahkan secara berurutan 3 mL EtOH 70%, 0.2 mL AlCl₃ 10% 0.2 mL Na asetat 1 M dan diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit kemudian diukur nilai absorbansi setiap konsentrasi larutan quersetin standar menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 438 nm, lalu dianalisis menggunakan regresi linear untuk mendapat kurva standar dan untuk menghitung kadar flavonoid digunakan persamaan regresi linear (*Leucas lavandulifolia* Sm.) (Winahyu *et al.*, 2019).

Penentuan Kadar Flavonoid

102,2 mg ekstrak dilarutkan dengan 25 mL EtOH dikocok secara perlahan-lahan. Larutan ekstrak (1 mL), dilarutkan secara bertahap dalam EtOH 70% sebanyak 3 mL, AlCl₃ 10% sebanyak 0.2 mL, Na-asetat 1 M sebanyak 0.2 mL dan ditambah ^{dd}H₂O hingga 10 mL. Larutan tersebut dikocok kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit. Setelah inkubasi diukur absorbansi ekstrak yang terbentuk dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 438 nm. Absorbansi yang diperoleh digunakan untuk menentukan kadar flavonoid ekstrak etanol daun Lenglengan (*Leucas lavandulifolia* Sm.) dengan menggunakan persamaan linear yang didapatkan dari pembuatan kurva baku standar (Winahyu *et al.*, 2019).

Persamaan linear dinyatakan sebagai $y = ax + b$ (Winahyu *et al.*, 2019).

Dimana:

y= Absorbansi ekstrak sampel

x= Konsentrasi Ekstrak Sampel

a= perpotongan garis atau *intercept*

b= kemiringan atau slope

Setelah diperoleh kadar flavonoid ekstrak per cuvet (nilai X), kemudian dihitung kadar flavonoid (KF) dalam sampel (%) dapat dihitung dengan persamaan

$$KF = \frac{C \times V \times fp}{W} 100\%$$

KF = Kadar flavonoid

C = Konsentrasi sampel

V = Volume sampel

fp = Faktor pengenceran

W = Berat sampel (mg)

Kadar Alkaloid Total

Ekstrak 2 g dilarutkan dalam 50 mL larutan CH₃COOH (10%) setelah itu dalam etanol dihomogenasi selama 4 jam menggunakan *magnetic stirrer* dan kemudian disaring. Setelah evaporasi, filtrat ditetesi dengan NH₄OH 1% sampai terbentuk endapan alkaloid. Kemudian endapan disaring dengan kertas saring yang telah diketahui beratnya. Kertas saring dan endapan dicuci dengan larutan NH₄OH 1%, kemudian ditimbang untuk mendapat bobot awal sampel (BAw), setelah itu dimasukkan dalam oven untuk dikeringkan pada suhu 60 °C selama 30 menit (Alasa *et al.*, 2017). Setelah dingin, endapan beserta kertas saring ditimbang hingga didapatkan bobot akhir sampel (BAk). Kadar alkaloid yang dihitung menggunakan persamaan berikut (Alasa *et al.*, 2017).

$$\text{Kadar Alkaloid (\%)} = \frac{X_2 - X_1}{A} \times 100\%$$

Dimana:

X₁ = bobot kertas saring (g)

X₂ = bobot kertas saring + endapan (g)

A= bobot ekstrak etanol daun Lenglengan (*Leucas lavandulifolia* Sm.)

Penetapan Kadar Saponin Total

Ekstrak 3,18 g di refluks dengan petroleum Eter sebanyak 50 mL selama 30 menit pada suhu 60°-80°C. Larutan petroleum eter yang telah dingin dibuang dan residu yang tertinggal dilarutkan dalam C₄H₈O₂ atau etil asetat sebanyak 50 mL. Setelah itu residu yang didapat dipisahkan menggunakan corong pisah dengan menambahkan etil asetat. Selanjutnya residu yang didapat dilarutkan lagi dalam 50 mL n-butanol dan diulang 3 kali (Alasa *et al.*, 2017). Seluruh larutan hasil penyaringan dievaporasi. Sisa evaporasi dilarutkan dengan 10 mL EtOH kemudian dilarutkan dalam dietil eter sebanyak 50 mL sambil diaduk. Kertas saring ditimbang terlebih dahulu untuk diketahui bobot awalnya (BAw). Kemudian kertas saring yang telah ditimbang digunakan untuk menyaring endapan yang terbentuk. Endapan beserta kertas saring ditimbang untuk mendapatkan bobot akhir sampel (BAk).. (Dumanauw *et al.*, 2015). Kadar saponin dihitung menggunakan persamaan seperti yang digunakan untuk menghitung kadar alkaloid.

Penetapan Kadar Tanin Total

Pembuatan Kurva Baku kuersetin

Baku standar kuersetin 25 mg, dimasukan ke dalam labu ukur, ditambahkan EtOH 70 % untuk mendapatkan konsentrasi 1000 ppm. Setiap lima labu ukur dengan konsentrasi 0, 0.5, 1, 1.5 dan 2 mL larutan standar dimasukan ke dalam masing-masing labu ukur 10 mL kemudian ditambahkan EtOH sampai tanda untuk mendapatkan konsentrasi akhir secara berurutan yaitu 0 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, dan 200 ppm. Setelah itu dari larutan stok dipipet sebanyak 1 mL dari setiap konsentrasi dan ditetesi 0,5 mL reagen Folin-Ciocalteu dikocok secara perlahan-lahan serta didiamkan pada suhu kamar selama 15 menit. Setelah itu larutan tersebut ditambah 2 mL Na_2CO_3 jenuh dan 7,5 mL $\text{d}_2\text{H}_2\text{O}$ diinkubasi pada suhu kamar selama 5 menit. Nilai absorbansi setiap konsentrasi larutan quersetin standar diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis, lalu dianalisis menggunakan regresi linear untuk mendapat kurva standar dan untuk menghitung kadar flavonoid digunakan persamaan regresi linear (*Leucas lavandulifolia* Sm.) (Alfian *et al.*, 2012).

Pembacaan Absorbansi Sampel

Ekstrak daun 102,2 mg dimasukan dalam labu ukur 25 mL dan dilarutkan dengan EtOH 70% sampai tanda batas serta dikocok hingga homogen. Satu mL larutan ekstrak tersebut dipipet ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan 0,5 mL reagen Folin-Ciocalteu dikocok secara perlahan-lahan serta didiamkan selama 15 menit pada suhu kamar. Setelah itu larutan tersebut ditambah 2 mL Na_2CO_3 jenuh dan 7,5 mL $\text{d}_2\text{H}_2\text{O}$ diinkubasi pada suhu kamar selama 5 menit, kemudian dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis diukur absorbansinya pada panjang gelombang 780 nm. Absorbansi yang diperoleh digunakan untuk menentukan kadar tanin yang terdapat pada daun Lenggen (*Leucas lavandulifolia* Sm.) dengan menggunakan persamaan linear kurva standar seperti yang digunakan untuk menghitung kadar flavonoid.

Penetapan Kadar fenol Total

Pembuatan Kurva Baku kuersetin

Baku standar kuersetin 25 mg dimasukan ke dalam labu ukur kemudian ditambahkan EtOH 70% untuk mendapatkan konsentrasi 1000 ppm. Setiap lima labu ukur dengan konsentrasi 0, 0.5, 1, 1.5 dan 2 mL larutan

standar dimasukan ke dalam masing-masing labu ukur 10 mL kemudian ditambahkan EtOH sampai tanda untuk mendapatkan konsentrasi akhir secara berurutan yaitu 0 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, dan 200 ppm. Satu mL dari setiap larutan dengan konsentrasi berbeda dimasukan ke dalam setiap labu ukur 10 mL dan ditambah 0,4 mL reagen *Folin-Ciocalteu* dikocok dan dibiarkan 8 menit, ditambahkan 4 mL larutan Na_2CO_3 7%, dikocok sampai homogen dan ditambah $\text{d}_2\text{H}_2\text{O}$ sampai tanda batas dan diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit. Nilai absorbansi setiap konsentrasi larutan quersetin standar diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 780 nm, lalu dianalisis menggunakan regresi linear untuk mendapat kurva standar dan untuk menghitung kadar flavonoid digunakan persamaan regresi linear (*Leucas lavandulifolia* Sm.) (Alfian *et al.*, 2012).

Pembacaan Absorbansi Sampel

Ekstrak 102,2 mg dilarutkan dengan EtOH sampai 25 mL. Satu mL larutan dipipet ke dalam labu ukur 10 mL ditambah 0,4 mL reagen Folin-Ciocalteu dikocok dan dibiarkan 4-8 menit, kemudian ditambahkan 4,0 mL larutan Na_2CO_3 7% dikocok kembali sampai homogen. Larutan tersebut ditambah $\text{d}_2\text{H}_2\text{O}$ sampai tanda batas dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar. Setelah inkubasi, kemudian dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis diukur absorbansi yang terbentuk pada panjang gelombang 780 nm. Absorbansi yang diperoleh dianalisis menggunakan regresi linear untuk menentukan kadar fenol yang terdapat dalam ekstrak daun Lenggen (*Leucas lavandulifolia* Sm.) seperti yang digunakan untuk menghitung kadar flavonoid dan tanin.

Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Bakteri uji *Staphylococcus aureus* diambil menggunakan jarum ose yang sudah disterilkan, kemudian disuspensikan pada media NB (*Nutrient Broth*) sebanyak 1 ml dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, setelah itu diencerkan dengan 5 mL larutan garam fisiologis steril 0,9% lalu kekeruhannya disesuaikan dengan larutan Mc. Farland yang sudah memenuhi standar dengan tingkat kekeruhan 0,5 ($1,5 \times 10^8$ CFU/mL). Hasil dari pengenceran yang dilakukan disebut sebagai suspensi bakteri.

Pengujian Aktivitas antibakteri daun Lenglengan (*Leucas lavandulifolia* Sm.) secara difusi

1 ml Suspensi bakteri uji diambil dari media NB, diinokulasikan menggunakan metode tuang dengan media agar MHA sebanyak 30 mL kemudian dibiarkan beberapa menit agar berbentuk agar. Setelah itu dibuat larutan stok ekstrak daun Lenglengan (*Leucas lavandulifolia* Sm.) diencerkan dengan d^dH_2O sampai mendapat konsentrasi 12,5%, 25%, 50%, 62,5% dan 75%. Pengenceran dilakukan dengan mengikuti rumus pengenceran. Kemudian Kertas cakram yang steril direndam dalam larutan stok ekstrak daun dari tiap-tiap konsentrasi, setelah itu diletakkan pada media yang terlebih dahulu dibuat penomoran pada setiap sisi cawan petri dengan menggunakan pinset dan ditekan sedikit lalu didiamkan pada suhu kamar 10-15 menit. Sebagai kontrol positifnya digunakan gentamisin dan kontrol negatif digunakan d^dH_2O . Lalu diulangi sebanyak 4 kali. Cawan petridish perlakuan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam.

Hasil dan Pembahasan

Hasil uji senyawa bioaktif Secara Kualitatif

Hasil uji senyawa bioaktif secara kualitatif ekstrak daun Lenglengan (*Leucas lavandulifolia* Sm.) disajikan pada Tabel 1.

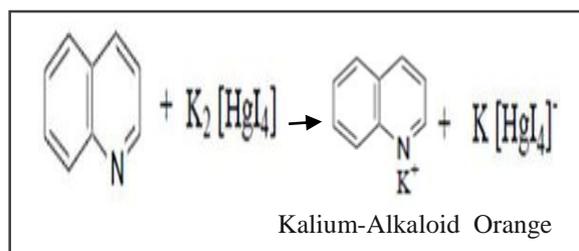
Tabel. 1. Hasil uji kandungan senyawa bioaktif ekstrak etanol daun Lenglengan (*Leucas lavandulifolia* Sm.)

Jenis bioaktif	Hasil pengujian
Alkaloid	+
Flavonoid	+
Saponin	+
Tanin	+
Fenol	+

Keterangan : + : positif mengandung bioaktif

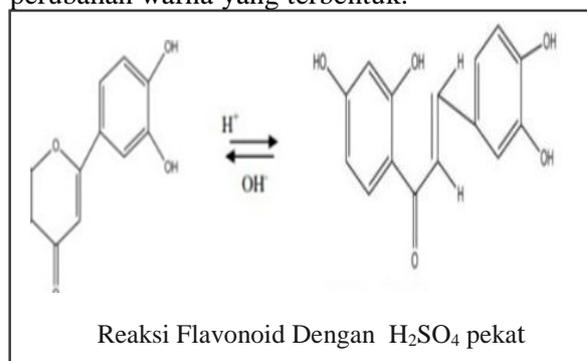
Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun Lenglengan (*Leucas lavandulifolia* Sm.) mengandung lima senyawa bioaktif utama yang meliputi alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan polifenol. Adanya senyawa bioaktif ditandai dengan berbagai ciri spesifik yang dimunculkan saat dilakukan pengujian dengan menggunakan reagen tertentu. Hasil uji ekstrak sampel dengan penambahan reagen dragendrof menunjukkan adanya pembentukan endapan berwarna kuning

hingga jingga. Reagen Dragendorff dalam larutan asam asetat (CH_3COOH) pekat merupakan kalium tetraiodobismutat (III) yang mengandung bismuth (III) nitrat dan kalium iodida (KI). Pada uji alkaloid terbentuk ikatan kovalen koordinat dengan K^+ membentuk endapan kompleks (kalium-alkaloid). Adanya senyawa alkaloid ini juga didukung oleh penelitian Astrid *et al* (2017) pada ekstrak etanol daun tamoenu (*Hibiscus surattensis* L.) yang dianalisis kadar metabolitnya.



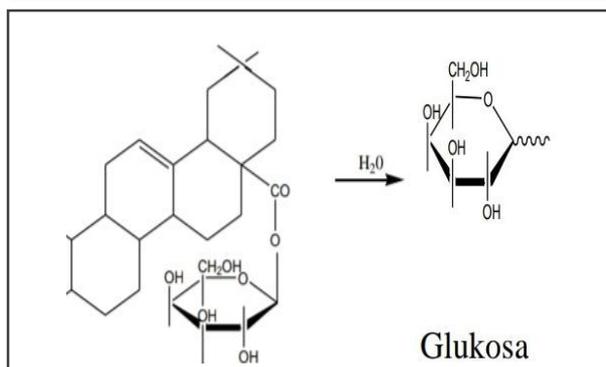
Gambar.1. Reaksi kimia terbentuknya senyawa alkaloid (Simaremare, 2014).

Senyawa flavonoid yang terbentuk ditandai perubahan warna dari kuning menjadi tidak berwarna dengan penambahan senyawa asam sulfat. Penambahan asam sulfat menyebabkan terjadinya reaksi oksidasi reduksi antara senyawa asam sulfat (H_2SO_4) yang pekat dan flavonoid, sehingga terbentuk senyawa kompleks yang dapat dilihat dari adanya perubahan warna yang terbentuk.



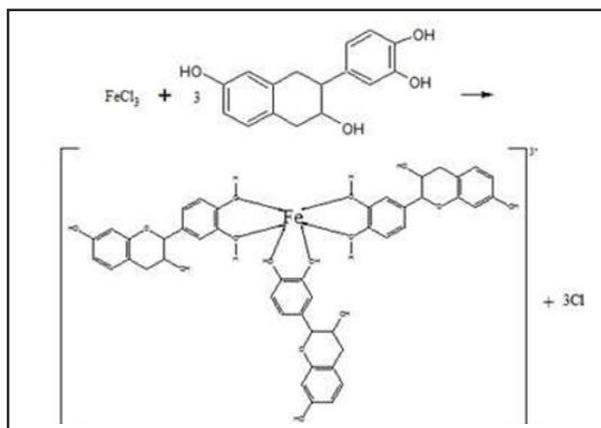
Gambar 2. Reaksi kimia terbentuknya senyawa flavonoid (Surah, 2020).

Terbentuknya busa setinggi 1 cm dengan penambahan larutan aquades pada ekstrak menunjukkan daun Lenglengan (*Leucas lavandulifolia* Sm.) mengandung senyawa saponin. Pembentukan busa terjadi karena adanya struktur glikosida yang mampu menarik senyawa yang bersifat polar seperti etanol.



Gambar. 2. Reaksi kimia terbentuknya senyawa saponin (Nugrahani *et al.*, 2016).

Terbentuknya warna hijau kecoklatan untuk senyawa tanin atau biru kehitaman untuk senyawa fenol setelah penambahan FeCl_3 juga terjadi pada ekstrak sampel Lenglenen (*Leucas lavandulifolia* Sm.). FeCl_3 akan membentuk senyawa kompleks dengan ion Fe^{3+} sehingga menyebabkan terjadinya perubahan warna. Hasil yang sama juga ditunjukkan oleh penelitian pada ekstrak buah pariyo (*Medinilla speciosa* Blume) oleh Niswah pada tahun 2014.



Gambar. 3. Reaksi kimia terbentuknya senyawa tanin dan fenol (ergina *et al.*, 2014)

Komposisi Kandungan Senyawa Bioaktif (%) yang Terkandung dalam Ekstrak Etanol Daun Lenglenen (*Leucas lavandulifolia* Sm.)

Hasil uji kuantitatif kandungan senyawa bioaktif (%) yang terkandung dalam ekstrak etanol daun Lenglenen (*Leucas lavandulifolia* Sm.) menunjukkan bahwa flavonoid merupakan senyawa bioaktif tertinggi sekitar 23,93% dan kadar terendah adalah senyawa fenol, yaitu berkisar 2,24% (Tabel 2).

Tabel 2. Persentase bioaktif yang terkandung dalam ekstrak daun Lenglenen (*Leucas lavandulifolia* Sm.)

Jenis Bioaktif	Kadar Bioaktif
Flavonoid	23,93%
Saponin	19,05%
Alkaloid	15,28%
Tanin	5,81%
Fenol	2,24%

Berdasarkan tabel diatas perbedaan kandungan dari tiap jenis senyawa bioaktif disebabkan oleh pelarut yang digunakan, usia daun, metode pengeringan dll. Pelarut yang digunakan akan memberikan hasil yang signifikan terhadap kadar dari suatu senyawa karena pelarut yang bersifat polar dapat melarutkan senyawa yang memiliki tingkat kepolaran yang sesuai begitupula pula sebaliknya. Polar tidaknya suatu pelarut ditentukan berdasarkan konstanta dielektriknya. Senyawa yang polar memiliki konstanta dielektrik yang tinggi. Konstanta dielektrik pada beberapa pelarut: air: 80, metanol: 33, etanol: 24 dan aseton: 21. Sesuai dengan konstanta dielektriknya etanol merupakan pelarut polar.

Flavonoid merupakan senyawa polar yang termasuk golongan fenol karena terdiri atas sejumlah gugus hidroksil yang tidak dapat disulih, sehingga dapat larut dalam pelarut yang bersifat polar seperti etanol. Pada penelitian yang sudah dilakukan menunjukkan bahwa flavonoid efektif larut dalam etanol yang bersifat polar karena memiliki tingkat kepolaran yang sesuai sehingga menghasilkan senyawa flavonoid dengan kadar tertinggi. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Alothman *et al* (2009) pada buah nanas. Kadar senyawa flavonoid yang tinggi membuat ekstrak daun Lenglenen (*Leucas lavandulifolia* Sm.) berpotensi sebagai antibakteri.

Saponin juga bersifat polar karena mengandung gugus gula sederhana seperti glukosa, galaktosa, dan juga xylosa, yang berikatan dengan suatu aglikon hidrofobik (sapogenin). Adanya sifat hidrofilik pada saponin menyebabkan ekstrak saponin banyak dihasilkan ketika dilarutkan dalam etanol. Hal ini berarti etanol juga memiliki tingkat kepolaran yang sesuai dengan saponin. Pada penelitian yang dilakukan Alkaloid juga dapat larut dalam pelarut semipolar hingga nonpolar hal ini dikarenakan alkaloid bersifat semi polar. Fenol merupakan senyawa bioaktif dengan

kadar bioaktif yang paling rendah yaitu sebesar 2,24. Fenol merupakan aglikon flavonoid yang bersifat kurang polar. Etanol merupakan senyawa polar sehingga membuat fenol tidak dapat larut dengan baik yang menyebabkan kadarnya menjadi lebih rendah.

Usia daun juga mempengaruhi banyak sedikitnya kadar senyawa bioaktif. Berdasarkan penelitian yang dilakukan terhadap daun muda dan tua dari beberapa jenis tanaman oleh Achakzai *et al* (2009), kandungan alkaloid dan saponin tertinggi terdapat pada daun muda sedangkan pada daun tua kandungan alkaloid dan saponinnya lebih rendah tetapi kandungan senyawa fenolik dan flavonoid lebih tinggi. Pada penelitian yang dilakukan daun yang diambil adalah daun yang memiliki kedudukan daun yang sama yaitu daun ke-3 dan ke-4 yang dihitung dari atas, sehingga memiliki variasi kadar senyawa bioaktif.

Proses pengeringan simplisia juga sangat mempengaruhi kandungan senyawa bioaktif pada tumbuhan. Pada proses pengeringan angin dengan durasi yang cukup lama dikhawatirkan dapat menyebabkan terjadinya penguraian senyawa fenolat. Penguraian senyawa fenolat dapat menyebabkan rendahnya kadar fenol. Pengaruh pengeringan angin terhadap penurunan kandungan senyawa bioaktif juga terdapat pada penelitian yang dilakukan oleh Widarta, *et al* (2019) pada ekstrak daun alpukat

Efektifitas Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Lenglenan (*Leucas lavandulifolia* Sm.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

Tabel 3. Hasil Pengukuran Zona Hambat Bakteri Secara difusi

Pengulangan	Diameter Zona Hambat (Mm)			
	Kontrol (-)	12,5%	25%	50%
1	0	11,5	12,6	13,7
2	0	11,1	12,2	13,3
3	0	11,5	12,6	13,7
4	0	11,1	12,2	13,0
Rata-rata	0 ^a	11,3 ^b	12,4 ^c	13,43 ^d
Daya Hambat	Tidak Ada	Sedang	Kuat	Kuat
	62,5%	75%	Kontrol (+)	

1	14,4	15,9	17,4	
2	14,1	15,6	17,8	
3	14,8	15,2	17,0	
4	14,4	15,6	17,4	
Rata-rata	14,4 ^d	15,58 ^e	17,4 ^f	
Daya Hambat	Kuat	Kuat	Kuat	

Keterangan : Huruf yang berbeda setiap rata-rata diameter hambat menunjukkan perbedaan yang signifikan menurut uji *Post-Hoc*

Berdasarkan tabel 3 dapat dikatakan bahwa ekstrak daun lenglenan mempunyai kemampuan daya hambat mulai dari sedang hingga kuat. Klasifikasi respon daya hambat bakteri ini berdasarkan klasifikasi yang dilakukan oleh Kurniawan (2018). Daya hambat dikategorikan sedang apabila rata-rata zona hambatnya berkisar $9 < O \leq 12$ mm, sedangkan dikategorikan kuat apabila rata-rata zona hambatnya berkisar $12 < O \leq 20$ mm.

Dari kelima konsentrasi tersebut juga terlihat bahwa konsentrasi 75% merupakan konsentrasi yang paling efektif dalam menghasilkan daya hambat tertinggi dengan rata-rata diameter hambat (15,58 mm). Berdasarkan hasil analisis Kruskal Wallis pada taraf 5% ada pengaruh konsentrasi ekstrak etanol daun Lenglenan (*Leucas lavandulifolia* Sm.) pada zona hambat *Staphylococcus aureus*.

Hasil uji *post-hoc* pada taraf 5% menunjukkan data memiliki nilai $p > 0,05$ pada tiap-tiap konsentrasi yang artinya data tersebut berbeda bermakna dengan konsentrasi lain hal ini membuktikan semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol daun Lenglenan (*Leucas lavandulifolia* Sm.) maka akan semakin tinggi daya hambatnya. Hal ini juga didukung oleh penelitian Purmaningsih *et al* (2020). bahwa diameter hambat daun kemangi yang paling kecil sebesar 10,23 mm terdapat pada konsentrasi terendah yaitu 20% dan daya hambat tertinggi sebesar 15,83 mm terdapat pada konsentrasi 100%. Aktivitas antibakteri yang ditimbulkan oleh ekstrak etanol daun Lenglenan (*Leucas lavandulifolia* Sm.) dapat terjadi karena kandungan bioaktif yang terkandung dalam ekstrak etanol daun Lenglenan (*Leucas lavandulifolia* Sm.). Peningkatan konsentrasi ekstrak akan diikuti oleh peningkatan kandungan senyawa antibakteri pada ekstrak tersebut sehingga terjadi peningkatan daya hambat pertumbuhan

bakteri. Senyawa flavonoid dalam ekstrak etanol daun Lenglangan (*Leucas lavandulifolia* Sm.) memiliki kadar tertinggi (23,93%). Adanya senyawa Flavonoid menyebabkan lapisan dinding sel bakteri yang tersusun atas peptidoglikan yang bersifat polar lebih mudah ditembus daripada nonpolar atau lapisan lipid. Flavonoid sebagai antibakteri melakukan beberapa mekanisme dalam menghambat pertumbuhan bakteri yaitu dengan menghambat sintesis asam nukleat, mengganggu membran sitoplasma dalam melaksanakan fungsinya, menghambat terbentuknya dinding sel sehingga pertumbuhan bakteri menjadi terganggu dan tidak dapat berkembang biak (Tansil *et al.*, 2016). Oleh karena itu dapat diasumsikan bahwa flavonoid merupakan zat yang paling kuat dalam ekstrak etanol daun Lenglangan (*Leucas lavandulifolia* Sm.).

Saponin mempunyai beberapa mekanisme sebagai antibakteri yaitu dengan cara melisis dinding sel bakteri apabila berinteraksi dengan dinding sel, mengganggu kestabilan permukaan dinding sel yang dapat menyebabkan denaturasi protein dan kebocoran sitoplasma sehingga mengakibatkan kematian sel. Alkaloid bekerja sebagai antibakteri dengan beberapa mekanisme yaitu merusak lapisan dinding sel bakteri yang tersusun atas peptidoglikan, sehingga terjadi kerusakan pada dinding sel bakteri. Tanin memiliki aktivitas antibakteri dengan cara merusak lapisan dalam sel bakteri, mengganggu transport protein dan terlibat dalam pengaktifan adhesin sel mikroba dan juga enzim (Ngajow *et al.*, 2013).

Kesimpulan

Berdasarkan tujuan dan manfaat penelitian kandungan senyawa bioaktif ekstrak etanol daun lenglangan (*Leucas lavandulifolia* Sm.) melalui uji kualitatif adalah flavonoid, saponin, alkaloid, tanin, dan fenol. Komposisi senyawa bioaktif dalam ekstrak etanol daun Lenglangan (*Leucas lavandulifolia* Sm.) melalui uji kuantitatif: yaitu flavonoid: 23,93%, saponin: 19,05%, alkaloid: 15,28%, tanin: 5,81%, dan fenol: 2,33%. Ekstrak etanol daun lenglangan (*Leucas lavandulifolia* Sm.) efektif menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dengan rata-rata ukuran zona hambat yang terbentuk yaitu: Konsentrasi 12,5% : 11,3 mm, 25%:12,4 mm, 50% : 13,43 mm, 62,5%: 14,43 mm dan 75 % : 15,58 mm.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Laboran Kimia Unika, Laboran Biologi Undana yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan penelitian ini. Ungkapan terimakasih juga penulis sampaikan kepada Bapak Dr. Refli, M.Sc., Bapak Drs. Djeffry Amalo., MPd sebagai Dosen Pembimbing dan Bapak Dr. Ir. Alfred O. M. Dima. MSi., Bapak Rony S. Mauboy, S.Si., M.Si., Ibu Dra. Maria T.L. Ruma, M.Si sebagai dosen penguji serta Bapak Miguel Ximenis dan Mama Filibertha Liuk yang telah membantu penulis dalam penelitian baik berupa dukungan moril maupun finansial.

Referensi

- Achakzai, AKK., Achakzai, P., Masood, A., Kayan, SA., & Tareen, RB. (2009). Response of Plant Parts and Age on The Distribution of Secondary Metabolites on Plants Found in Quetta. *Pak Journal Botany*, 41 (5): 2129-2135.
- Alasa, AN., Syariful, Anam., & Jamaluddin, J. (2017). Analisis Kadar Total Metabolit Sekunder Ekstrak Etanol Daun Tamoenu (*Hibiscus surattensis* L.). *Jurnal Riset Kimia*, 3(3):258-268.
- Alfian, R., & Susanti, H. (2012). Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Metanol Kelopak Bunga Rosella Merah (*Hibiscus sabdariffa* Linn) Dengan Variasi Tempat Tumbuh Secara Spektrofotometri. *Jurnal ilmiah Kefarmasian*, Vol 2 (1) : 73-8
- Alothman, M., AA, Karim., & R, Bhat. (2009). Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia extracted with different solvents. *Food Chemistry*, 115: 785-788.
- Anas, Y., RF, Fithria., MC, Nuria., MPL, Amprih., AE, Nugroho., P, & Astuti (2015). Aktivitas Antidiabetes Fraksi N-Heksan Ekstrak Etanol Daun Lenglangan (*Leucas lavandulifolia* JE. Smith) Pada Tikus Dm Tipe-2 yang Mengalami Resistensi Insulin. *Kartika-Jurnal Ilmiah Farmasi*. 3(1).
- Astrid, NA., Syariful, A., & Jamaludin. (2017). Analisis Kadar Metabolit Ekstrak Etanol Daun tamoenu (*Hibiscus surattensis* L.) telah Diuji Secara Kualitatif. *Jurnal Kovalen*, 3(3), 258–268.

- Dumanauw, Carolin, WA., & Anindita, P. (2015). Penetapan Kadar Saponin pada Ekstrak Daun Lidah Mertua (*Sansiovera trifasciata Prain* varietas *S. Laurentii*) secara Gravimetri. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kesehatan*, 2(2):65-69.
- Ergina, Siti Nuryanti., & Indarini, Dwi P. (2014). Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder pada Daun Palado (*Agave angustifolia*) yang Diekstraksi dengan Pelarut Air dan Etanol. *Jurnal Akademi Kimia*, 3(3): 165-172.
- Harborne, JB. (2006). *Metode fitokimia penuntun cara modern menganalisis tumbuhan*. Edisi IV. ITB.Bandung.
- Kharisma., Adnan., & Manan, A. (2012). Kelimpahan Bakteri *Vibrio* Sp pada Air Pembesaran Udang Vannamei (*Litopenaeus vannamei*) Sebagai Deteksi Dini Serangan Penyakit Vibriosis. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, 4 (2).
- Kurniawan, E., & Dwi, SDJ. (2018). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Batang Bidara Laut (*Strychnos ligustrina*) terhadap Bakteri Patogen. *Jurnal Biologi Tropis*. 19 (1) : 61 – 69.
- Ngajow, M., Jemmy, A., & Vanda, SK. (2013). Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara In Vitro. *Jurnal MIPA Unsrat Online*, 2 (2): 128 – 132. 4.
- Ningsih, Ayu Putri., Nurmiati., & Anthoni, A. (2013). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kental Tanaman Pisang Kepok Kuning (*Musa paradisiaca* Linn.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia Coli*. *Jurnal Biologi Universitas Andalas*, 2(3).
- Niswah (2014). Uji Aktivitas Ekstrak Buah Parijo (*Medinilla speciosa* Blume) Menggunakan Metode Difusi Cakram. *Skripsi*. Program Studi Farmasi. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. Universitas slam Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Nugrahani, Rizky., Yayuk Andayani., & Aliefman, H. (2016). Skrining Fitokima dari Ekstrak Buah Buncis (*Phaseolus vulgaris* L) dalam Sediaan Serbuk. *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA*, 2(1).
- Purmaningsih, Nur'Aini., & Francisca, Romana Sri S. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum sanctum* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis* Atcc 12228 . *Media Ilmu Kesehatan*, 9(3).
- Sari, R., Mutiara, M., & Inara, F. (2017). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Gaharu (*Aquilaria microcarpa* Baill.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Proteus mirabilis*. *Skripsi*. Program Studi Farmasi. Fakultas Farmasi. Universitas Tanjungpura. Pontianak.
- Simaremare, Eva S. (2014). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Gatal (*Laportea decumana* (Roxb.). *Pharmacy*, 11 (01).
- Sumiyati, E. (2014). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kloroform dan Ekstrak Etanol Biji Bidara Laut (*Strychnos ligustrina* Bl) Terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Salmonella thypi*. *Skripsi*. Program Studi S1 Keperawatan. Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan. Mataram.
- Surah, N. (2020). *Penuntun Praktikum Kimia Organik II*. Universitas Negeri Padang. Padang.
- Tansil, AYM., Edward, Nangoy., Jimmy, Posangi., & Robert, B. (2016). Uji Daya Hambat Ekstrak .Etanol Daun Srikaya (*Annona squamosa*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal e-Biomedik (eBm)*. 4 (2).
- Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., & Kaur, G. (2011). Phytochemical Screening And Extraction International Pharmateuika Scientia. *Internationale Pharmaceutica Scientia*, 1(1): 98-106.
- Widarta, Wayan Rai., & Wiadnyana, Anak Agung Istri Sri. (2019). Pengaruh Metode pengeringan terhadap Aktivitas Antioksidan Daun Alpukat Effect of Drying Methods on the Antioxidant Activity of Avocado Leaves. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 8 (3).
- Winahyu, DA., Retnaningsih, A., & Aprillia, M. (2019). Penetapan Kadar Flavonoid pada Kulit Batang Kayu Raru (*Cotylelobium melanoxylon* p) dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Jurnal Analis Farmasi*, 4(1) Hal 29 - 36 .