

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

1. Karakteristik sampel tumbuhan jukut pendul (*Kyllinga nemoralis*)

Sampel tanaman jukut pendul didapatkan dari lokasi persawahan yang bertempat di wilayah Desa Wanasari, Tabanan. Tanaman jukut pendul tumbuh bergerombol sebagai tanaman liar di sekitar area persawahan. Jumlah sampel tanaman jukut pendul yang dapat diperoleh oleh penulis dan telah melewati proses penyortiran yaitu seberat 1,5 kg. Sampel yang telah disortasi selanjutnya melalui tahap pengeringan yang berlangsung selama selama tujuh hari sehingga menghasilkan sampel yang sudah kering. Tahap berikutnya yaitu tahap sortasi kering dan penghalusan sampel kering untuk menghasilkan simplisia yang berupa bubuk halus. Berat simplisia yang dihasilkan setelah melalui tahap ini yaitu sebesar 240 g. Simplisia yang didapat diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi dalam pelarut etanol 96% dengan perbandingan sampel dengan pelarutnya yaitu 1:5. Maserat yang diperoleh dari proses ini dievaporasi sampai mendapatkan ekstrak etanol pekat. Berat ekstrak pekat yang didapatkan yaitu sebesar 40 g.



Gambar 5. Sampel Tanaman dan Ekstrak Kental Jukut Pendul

2. Skrining fitokimia

Dalam penelitian ini, uji skrining fitokimia yang dilakukan meliputi uji alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan steroid atau terpenoid. Dari data yang dihasilkan dalam pengujian fitokimia mengindikasikan bahwa terdapat senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak etanol jukut pendul yaitu senyawa flavonoid, tanin, dan saponin. Hasil uji skrining fitokimia disajikan pada Tabel 5.

Tabel 5
Hasil Uji Skrining Fitokimia

Uji fitokimia	Pereaksi	Hasil
Alkaloid	Dragendrof	Negatif (-)
	Mayer	Negatif (-)
	Wagner	Negatif (-)
Flavonoid	HCl pekat dan Mg	Positif (+)
Tanin	FeCl ₃	Positif (+)
Saponin	Air panas dan HCl 2N	Positif (+)
Steroid	H ₂ SO ₄	Negatif (-)

3. Diameter zona hambat

Pada penelitian yang telah dilakukan, diperoleh data hasil pengujian daya hambat antibakteri ekstrak etanol jukut pendul terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Seri konsentrasi ekstrak yang digunakan adalah 5, 10, 20, dan 40%. Data hasil pengukuran daya hambat ekstrak etanol jukut pendul terhadap bakteri *S. aureus* ditunjukkan pada Tabel 6.

Tabel 6
Diameter Zona Hambat pada Tiap Konsentrasi Ekstrak, Etanol 96%, dan Kontrol

Pengulangan	Etanol 96% (mm)	Kontrol positif (mm)	Diameter zona hambat tiap konsentrasi ekstrak (mm)			
			5%	10%	20%	40%
I	6,44	25,4	8,4	10,2	11,3	12,6
II	6,22	26,9	10,7	10,3	11,4	12,28
III	6,35	25,2	8,2	11,58	11,6	12,2
IV	6,24	26,68	9,72	11,8	11,2	12,2
V	6,20	26,9	9,82	10,4	12,7	11,5
Rata-rata	6,29	26,21	9,36	10,85	11,64	12,15

a. Diameter zona hambat antibiotik *Ciprofloxacin*

Dalam uji daya hambat antibakteri yang telah dilakukan, kontrol kerja yang digunakan yaitu cakram disk antibiotik *Ciprofloxacin* 5 µg. Uji sensitifitas antibiotik ini dilakukan dengan lima kali pengulangan. Berdasarkan hasil pengukuran diameter zona hambat yang terbentuk disekitar cakram disk antibiotik, diperoleh hasil rata-rata diameter zona hambat sebesar 26,21 mm ± 0,84.

b. Diameter zona hambat etanol 96%

Dalam penelitian ini, etanol 96% digunakan sebagai pelarut dalam proses ekstraksi dan sebagai kelompok kontrol dengan konsentrasi 0%. Banyaknya pengulangan yang dilakukan pada kelompok ini yaitu sebanyak lima kali. Berdasarkan hasil pengukuran, didapatkan hasil rata-rata diameter zona hambat yang terbentuk yaitu sebesar 6,29 mm ± 0,1.

c. Diameter zona hambat konsentrasi ekstrak 5, 10, 20, dan 40%

Dalam penelitian ini, variasi konsentrasi ekstrak 5, 10, 20, dan 40% digunakan sebagai kelompok eksperimen yang akan diuji daya hambatnya terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Variasi ini dipilih untuk memudahkan

peneliti untuk mengetahui konsentrasi berapa yang memiliki kemampuan efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Banyaknya pengulangan yang dilakukan pada kelompok ini yaitu sebanyak lima kali. Dari hasil pengujian daya hambat yang telah dilakukan, didapatkan hasil rata-rata pengukuran diameter zona hambat pada konsentrasi ekstrak 5% sebesar $9,36 \text{ mm} \pm 1,04$; konsentrasi ekstrak 10% sebesar $10,85 \text{ mm} \pm 0,76$; konsentrasi ekstrak 20% sebesar $11,64 \text{ mm} \pm 0,61$; dan konsentrasi ekstrak 40% sebesar $12,15 \text{ mm} \pm 0,4$.

4. Analisis data diameter zona hambat pada konsentrasi ekstrak 5, 10, 20, dan 40%

Dari uji analisis statistik *One-Way Anova*, diperoleh nilai signifikansi $<0,05$ yang menandakan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok penelitian. Perbedaan tersebut diperjelas oleh hasil uji *Post-Hoc* dengan *Games-Howell* yang menunjukkan bahwa kelompok kontrol etanol 96% memiliki signifikansi $<0,05$ pada tiap konsentrasi ekstrak, sementara, antar variasi konsentrasi, perbedaan yang nyata hanya terlihat pada konsentrasi 5% dengan konsentrasi 20 dan 40%. Zona hambat yang dihasilkan pada konsentrasi 10, 20, dan 40% menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna.

B. Pembahasan

1. Simplisia dan ekstrak etanol tumbuhan Jukut Pendul (*Kyllinga nemoralis*)

Tumbuhan Jukut Pendul sebagai sampel penelitian diperoleh dari kawasan persawahan yang berlokasi di Desa Wanasari Tabanan. Bagian tumbuhan yang diolah mejadi ekstrak yaitu bagian batang, daun, dan bunga jukut pendul. Simplisia dari tanaman ini diperoleh dari beberapa tahapan yang meliputi sortasi basah, pengeringan, dan sortasi kering, serta tahap penghalusan. Sampel yang telah

disortasi diangin-anginkan dan dipotong sebelum melewati tahap pengeringan. Tahap pengeringan sampel dilakukan dengan cara mengangin-anginkan tanaman di ruangan terbuka yang terhindar dari sinar matahari langsung. Tahap ini berfungsi untuk menjaga mutu simplisia dan penyimpanan dengan cara mengurangi kadar air dalam sampel dan menghentikan proses enzimatik. Tahap berikutnya yaitu tahap penghalusan yang dilakukan dengan tujuan agar memperluas ukuran permukaan sampel yang akan mengoptimalkan proses ekstraksi senyawa-senyawa yang terkandung di dalamnya oleh pelarut.

Simplisia yang didapat diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi dalam pelarut etanol 96% dengan perbandingan sampel dengan pelarutnya yaitu 1:5. Metode maserasi dipilih karena metode ini merupakan metode yang tidak memerlukan pemanasan dalam prosesnya sehingga dapat menjaga senyawa-senyawa aktif yang bersifat termolabil dari kerusakan. Metode ini juga memiliki tahapan dan peralatan yang sederhana dengan harga yang terjangkau. Namun, ekstraksi dengan metode ini membutuhkan waktu yang cukup lama untuk menyari senyawa-senyawa yang terkandung di dalam simplisia. Tahap terakhir yang dilewati untuk mendapatkan ekstrak pekat yaitu penguapan vakum atau evaporasi. Proses evaporasi dilakukan dengan menurunkan tekanan sehingga berdampak pada penurunan titik didih pelarut.

2. Skrining fitokimia

Senyawa metabolit sekunder merupakan senyawa sampingan yang dihasilkan oleh tanaman yang berfungsi sebagai salah satu dalam mekanisme pertahanan terhadap serangga, herbivora, dan mikroorganisme (Othman *et al.*, 2019). Selain sebagai perlindungan terhadap ancaman biotik, metabolit sekunder

juga melindungi tanaman dari tekanan abiotik yang meliputi suhu dan kelembaban yang lebih tinggi, cedera, atau keberadaan logam berat. Senyawa metabolit sekunder tumbuhan dapat dikelompokkan menjadi tiga golongan yang berbeda secara kimiawi, yaitu terpenes, fenolik, dan senyawa yang memiliki gugus N (nitrogen) dan S (sulfur) (Pagare *et al.*, 2015).

Kandungan senyawa metabolit sekunder dalam suatu ekstrak tanaman dapat diketahui secara kualitatif dengan melakukan pengujian skrining fitokimia. Pada penelitian ini, pengujian ini dilakukan pada ekstrak etanol jukut pendul yang meliputi pengujian terhadap senyawa alkaloid, flavonoid, tannin, saponin, dan steroid. Berdasarkan hasil pengujian, ekstrak ini positif mengandung senyawa flavonoid, tannin, dan saponin. Flavonoid dan tannin merupakan senyawa metabolit sekunder yang sama-sama termasuk dalam kelompok senyawa fenol. Karakteristik dari senyawa ini yaitu adanya gugus fenol yang merupakan gugus fungsi hidroksil. Berdasarkan struktur kimianya, flavonoid disusun oleh kerangka lima belas karbon yang terdiri atas dua cincin benzena yang disambungkan melalui cincin pyrene heterosiklik (C). Sebagian besar senyawa flavonoid menunjukkan aktivitas antioksidan, antiinflamasi, dan antitumor. Selain itu, flavonoid juga mempunyai aktivitas antibakteri (Pammi dan Giri, 2021). Tanin merupakan makromolekul polifenol yang memiliki dua bentuk senyawa yaitu tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Tanin mempunyai kemampuan dalam menghambat pertumbuhan beragam jenis mikroba, seperti bakteri Gram positif dan negatif, jamur, dan ragi. Sementara itu, saponin merupakan senyawa yang memiliki struktur yang terdiri atas gula (rantai gula) dan bagian non-gula (glikosida) yang dihubungkan oleh ikatan glikosidik. Saponin dapat menunjukkan aktivitas biologis meliputi aktivitas

antibakteri, antiinflamasi, antijamur, dan antivirus, yang didasarkan pada struktur kimianya.

3. Daya hambat antibakteri

Daya hambat antibakteri merupakan kemampuan suatu senyawa dalam menghambat pertumbuhan isolat bakteri uji yang dapat diketahui dari terbentuknya zona bening di sekitar disk yang berbanding lurus dengan sensitivitas isolat bakteri dan laju difusi antibiotik pada media agar. Pengujian daya hambat dilakukan dengan metode difusi disk cara *Kirby-Bauer* pada media MHA terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

a. Daya hambat antibiotik *Ciprofloxacin* terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*

Pada penelitian ini, terdapat kontrol kerja yang juga dilakukan selama uji daya hambat antibakteri ekstrak etanol jukut pendul terhadap *Staphylococcus aureus*. Kontrol kerja dibutuhkan dalam pengujian untuk memastikan kualitas dari isolat bakteri yang digunakan, kemampuan difusi zat, kualitas dari suspensi bakteri, sebagai validasi dari zona hambat yang terbentuk, serta kualitas media MHA yang digunakan dalam pengujian dengan melihat dari ketepatan zona hambat yang terbentuk. Kontrol kerja yang dipakai dalam penelitian ini adalah antibiotik *Ciprofloxacin* 5 µg.

Berdasarkan hasil pengujian daya hambat yang telah dilakukan, antibiotik *Ciprofloxacin* memberikan rata-rata hasil pengukuran diameter zona hambat sebesar 26,21 mm ± 0,84. Apabila hasil tersebut dimasukkan ke dalam kategori menurut David dan Stout (1971), maka daya hambat yang ditunjukkan oleh antibiotik *Ciprofloxacin* tergolong sangat kuat yaitu >20 mm. Sementara, menurut

CLSI, hasil uji sensitivitas antibiotik dapat digolongkan menjadi tiga kategori, yaitu *susceptible*, *intermediate*, dan *resistant*. Hasil dari uji daya hambat menunjukkan bahwa antibiotik *Ciprofloxacin* sebagai kontrol kerja tergolong *susceptible* atau memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* karena diameter zona hambat berada dalam rentang 22-30 mm. Hasil tersebut juga memberikan informasi terkait kualitas dari isolat bakteri uji, media yang digunakan, dan kemampuan difusi zat dalam media.

b. Daya hambat etanol 96% terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*

Penelitian uji daya hambat antibakteri dari ekstrak tumbuhan jukut pendul (*Kyllinga nemoralis*) menggunakan reagen etil alkohol atau etanol dengan konsentrasi 96% sebagai pelarut dari senyawa-senyawa yang terdapat dalam sampel tumbuhan jukut pendul dan sebagai bagian dari kelompok kontrol dalam pengujian. Dalam proses pembuatan ekstrak, etanol 96% lebih disukai karena pelarut ini mempunyai kemampuan penyerapan dan penyarian yang tinggi untuk mengekstrak senyawa yang bersifat non-polar, semi-polar, dan polar. Apabila dibandingkan dengan pelarut etanol yang berkonsentrasi rendah, etanol 96% lebih gampang berpenetrasi ke dalam dinding sel sehingga senyawa zat aktif dapat diekstraksi secara efektif untuk menghasilkan ekstrak yang pekat (Wendersteyt dkk., 2021).

Etanol 96% sebagai kelompok kontrol dalam penelitian ini digunakan untuk mengetahui efek antibakteri dari etanol 96% sebagai pelarut dari ekstrak. Berdasarkan hasil pengujian, rata-rata panjang diameter zona hambat yang dihasilkan dari cakram disk yang hanya berisi etanol 96% dalam lima kali pengulangan adalah $6,29 \text{ mm} \pm 0,1$. Hasil tersebut menunjukkan bahwa pelarut etanol 96% mempunyai kemampuan dalam menghambat bakteri uji walaupun

tergolong lemah. Kemampuan antimikroba dari etanol bergantung pada beberapa faktor, meliputi waktu kontak, konsentrasi, dan volume yang dipakai. Penurunan kualitas pelarut etanol yang digunakan juga dapat mempengaruhi besar zona hambat yang dihasilkan. Hal ini dapat terjadi akibat kesalahan dalam hal penyimpanan dan penggunaan reagen, seperti lamanya waktu penyimpanan setelah reagen digunakan pertama kali. Reagen etanol yang telah dibuka dan digunakan secara terus-menerus akan mengalami penurunan mutu seiring dengan berjalannya waktu. Hal ini diakibatkan oleh sifat dari etanol yang mudah menguap sehingga menyebabkan konsentrasi etanol yang terkandung semakin berkurang (Innocenzi *et al.*, 2008).

- c. Daya hambat ekstrak etanol jukut pendul konsentrasi 5, 10, 20, dan 40% terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*

Berdasarkan uji daya hambat antibakteri yang telah dilakukan, diketahui bahwa ekstrak etanol jukut pendul mempunyai kemampuan antibakteri yang ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambat di sekitar cakram disk. Data diameter zona hambat tersebut menunjukkan bahwa adanya perbedaan antar keempat variasi konsentrasi dengan besar zona yang semakin meningkat dengan meningkatnya konsentrasi. Untuk mengetahui signifikansi perbedaan antar kelompok, data zona hambat diakumulasikan dan dianalisis dengan menggunakan uji statistik Uji *One-Way Anova*. Berdasarkan analisis data yang telah dilakukan, dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok eksperimen pada tiap variasi konsentrasi. Hal tersebut ditunjukkan dengan nilai $p < 0,05$. Selanjutnya, untuk mengetahui perbedaan pada masing-masing konsentrasi ekstrak dilakukan uji *Post-Hoc* menggunakan uji

Games-Howell. Metode ini dipilih karena data yang diujikan tidak memiliki varians yang sama atau homogen. Hasil uji *Post-Hoc* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna dengan kelompok kontrol dengan semua variasi konsentrasi ekstrak etanol jukut pendul dengan nilai $p < 0,05$. Hal ini membuktikan bahwa sebagian besar kemampuan daya hambat yang dihasilkan oleh ekstrak etanol jukut pendul disebabkan oleh adanya kandungan senyawa antibakteri di dalamnya. Selanjutnya, nilai rata-rata zona hambat konsentrasi ekstrak 5% yang sebesar $9,36 \text{ mm} \pm 1,04$ menunjukkan perbedaan yang bermakna dengan kontrol dan konsentrasi ekstrak 20 dan 40%. Konsentrasi ekstrak 10% yang memiliki rata-rata zona hambat sebesar $10,85 \text{ mm} \pm 0,76$ hanya menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna dengan kontrol. Konsentrasi ekstrak 20% yang memiliki rata-rata zona hambat sebesar $11,64 \text{ mm} \pm 0,61$ menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna dengan kontrol dan konsentrasi ekstrak 5%. Konsentrasi ekstrak 40% yang memiliki rata-rata zona hambat sebesar $12,15 \text{ mm} \pm 0,4$ menunjukkan perbedaan yang bermakna dengan kontrol dan konsentrasi 5%. Dari hasil tersebut, dapat diketahui bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara zona hambat yang dihasilkan pada konsentrasi 10, 20, dan 40%. Adanya perbedaan yang signifikan antara konsentrasi 5% dengan konsentrasi 20 dan 40% menandakan bahwa jumlah senyawa zat aktif yang terkandung pada konsentrasi ekstrak 20 dan 40% dapat memberikan performa yang lebih efektif ketimbang ekstrak dengan konsentrasi yang lebih rendah. Sementara, adanya perbedaan yang tidak signifikan antara variasi konsentrasi 10, 20, dan 40% menunjukkan bahwa jumlah senyawa antibakteri pada ketiga konsentrasi tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan kekuatan yang hampir sama. Dengan kata lain, konsentrasi ekstrak

10% memiliki kemampuan daya hambat yang sama kuatnya dengan konsentrasi ekstrak 20 dan 40%.

Berdasarkan hasil yang diperoleh, daya hambat antibakteri dari tiap konsentrasi ekstrak dapat diketahui dengan menyocokkan diameter zona hambat yang diperoleh dengan kategori zona hambat yang telah ditetapkan. Menurut David dan Stout (1971), daya hambat suatu senyawa antibakteri dapat dikategorikan ke dalam empat kategori, yaitu daya hambat lemah jika diameter zona hambat <5 mm, sedang jika diameter zona hambat 5-10 mm, kuat jika diameter zona hambat 10-20 mm, dan sangat kuat jika diameter zona hambat >20 mm. Dari penggolongan tersebut, maka dapat diketahui daya hambat antibakteri yang ditunjukkan pada konsentrasi ekstrak 5% (9,36 mm) tergolong kategori sedang, sementara konsentrasi 10% (10,85 mm), 20% (11,64 mm), dan 40% (12,14 mm) mempunyai daya hambat yang tergolong kategori kuat.

Dalam penelitian serupa yang dilakukan oleh Trisia dkk. (2018), ekstrak etanol daun kalanduyung menunjukkan kemampuan daya hambat antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa variasi konsentrasi 20, 40, 60, dan 80% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan terbentuknya zona hambat dengan rata-rata masing-masing yaitu 6,875; 8,5; 10,175; dan 14,925 mm (Trisia dkk., 2018). Zona daya hambat yang dihasilkan oleh ekstrak etanol daun kalanduyung relatif lebih kecil dibandingkan zona daya hambat yang dihasilkan oleh ekstrak etanol jukut pendul pada konsentrasi 20 dan 40%. Penelitian lainnya oleh Sudarmi dkk. (2017) terkait uji fitokimia dan daya hambat ekstrak etanol daun juwet, memperoleh hasil bahwa ekstrak daun juwet dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* pada

konsentrasi ekstrak 5, 10, 15, 25, dan 50% dengan zona hambat masing-masing yaitu 8 mm yang tergolong kategori sedang, 14,6; 15,1; 15,4; dan 16,5 mm yang tergolong kategori kuat. Dari hasil tersebut, diketahui bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara zona hambat pada konsentrasi 10, 15, 25, dan 50% (Sudarmi dkk., 2017). Hasil dari penelitian tersebut tidak jauh berbeda dengan hasil uji daya hambat ekstrak etanol jukut pendul yang menunjukkan bahwa tidak adanya perbedaan yang signifikan antar variasi konsentrasi.

Kemampuan antibakteri yang ditunjukkan oleh suatu ekstrak tanaman dapat terjadi akibat adanya senyawa-senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak tersebut yang berkontribusi dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji (Jirna dan Ratih, 2021). Jumlah senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak memengaruhi kekuatan ekstrak dalam melawan bakteri uji (Tamam dkk., 2013). Terdapat tiga kelas besar dari senyawa fitokimia yang terkandung dalam tumbuhan, antara lain terpenoid, metabolit fenolik, dan alkaloid. Dari ketiga kelas tersebut, fenolik merupakan golongan senyawa yang paling penting dalam sistem pertahanan tanaman terhadap hama dan penyakit. Senyawa fenol terbagi lagi menjadi asam fenolik (*hydroxybenzoic* dan *hydroxycinnamic acids*), polifenol (*hydrolyzable* dan *condensed tannins*), dan flavonoid (Do *et al.*, 2014).

Dalam penelitian ini, kemampuan daya hambat yang ditunjukkan oleh ekstrak etanol jukut pendul terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dapat disebabkan oleh karena adanya senyawa fenolik dan kandungan saponin yang terkandung dalam ekstrak. Hal ini didukung dari hasil pengujian skrining fitokimia yang telah dilakukan peneliti yang menunjukkan bahwa kandungan senyawa zat aktif yang terkandung dalam ekstrak etanol jukut pendul meliputi flavonoid, tannin,

dan saponin. Ketiga senyawa tersebut diketahui memiliki kemampuan antibakteri dengan mekanismenya masing-masing.

Konsentrasi senyawa fenolik diketahui memiliki korelasi positif terhadap aktivitas antibakteri ekstrak. Senyawa flavonoid dan tannin sebagai kelompok senyawa polifenol diketahui memiliki aktivitas antibakteri dengan mekanismenya masing-masing. Kemampuan antibakteri dari flavonoid dan tannin diketahui dapat bersifat bakterisida dan bakteristatik. Mekanisme kerja antibakteri flavonoid dilakukan dengan membentuk ikatan untuk membentuk suatu kompleks protein melalui gaya nonspesifik seperti ikatan hidrogen dan efek hidrofobik, serta dengan pembentukan ikatan kovalen. Kemampuan tersebut memungkinkan senyawa ini untuk menonaktifkan adesis, sistem enzim, protein transpor di membran sel, dan sebagainya. (Kumar dan Pandey, 2013). Senyawa flavonoid juga dapat mengganggu fungsi dari membran sel bakteri yang diakibatkan oleh sifat lipofilik yang dimiliki oleh senyawa ini (Othman *et al.*, 2019). Sama halnya dengan flavonoid, senyawa tannin memiliki kemampuan untuk berikatan dengan protein dan membentuk kompleks protein, serta dapat berinteraksi dengan polisakarida pada dinding sel bakteri yang akan menyebabkan disintegrasi pada fungsi membrane dan dinding sel bakteri sehingga berdampak pada pertumbuhan dan perbanyakan sel bakteri. Hal ini didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Sindhu *et al.* (2014) bahwa ekstrak metanol *K. nemoralis* mengandung senyawa total fenol, flavonoid, flavonol, dan tanin dalam jumlah yang nyata. Hal ini terbukti dari hasil pengujian aktivitas antimikroba terhadap lima spesies bakteri penyebab patogen pada manusia, meliputi *S. pneumonia*, *S. saprophyticus*, *S. aureus*, *S. mutans*, dan *E. faecalis*. Selain senyawa fenolik, senyawa yang ditemukan dalam

ekstrak jukut pendul adalah saponin. Kemampuan antibakteri dari saponin memiliki mekanisme yang hampir sama dengan sefalosporin yang berkaitan dengan sistem membran sel bakteri (Dong *et al.*, 2020). Senyawa saponin dapat berpenetrasi ke dalam lapisan lipid bilayer dan berikatan dengan kolesterol untuk membentuk kompleks kolesterol-saponin yang akhirnya akan melisiskan sel bakteri (Arabski *et al.*, 2012).

Komposisi dan jumlah senyawa fitokimia yang terkandung dalam suatu ekstrak bergantung pada beberapa faktor, antara lain kondisi geografi dari sampel tanaman yang diambil, teknik persiapan simplisia yang meliputi tahap sortasi basah, pengeringan, dan sortasi kering, jenis pelarut ekstraksi, dan metode ekstraksi yang dipilih. Jenis pelarut dalam proses ekstraksi merupakan salah satu faktor yang berpengaruh pada komposisi dan jumlah senyawa zat aktif yang terkandung dalam ekstrak (Wahab dan Rahman, 2022). Pelarut yang tepat untuk mengekstraksi senyawa polifenol dari matriks tanaman adalah pelarut yang bersifat polar. Beberapa pelarut polar yang sering digunakan untuk melarutkan senyawa ini, yaitu campuran aquades dengan etanol, metanol, aseton, dan etil asetat. Etanol diketahui memiliki kemampuan yang baik dalam mengekstraksi senyawa polifenol dan aman untuk dikonsumsi. Metanol juga ditemukan lebih efisien dalam ekstraksi senyawa polifenol dengan berat molekul yang lebih kecil, sementara pelarut aseton lebih bagus untuk melarutkan senyawa flavanol dengan berat molekul yang lebih besar. Untuk mengekstraksi flavonoid dari teh, etanol bekerja lebih baik daripada metanol dan aseton dalam pelarut air (Do *et al.*, 2014). Dari penelitian yang dilakukan oleh Supriyanto dkk. (2017), ekstrak etanol dan ekstrak metanol tanaman nimba memberikan hasil uji fitokimia yang sama yaitu keduanya teruji positif

mengandung flavonoid, tannin, terpenoid, dan saponin. Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol dengan metanol memiliki persamaan dalam kemampuan menarik senyawa fitokimia yang sama.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, terdapat beberapa kelemahan dari hasil pengujian daya hambat yang diperoleh. Kelemahan dapat dilihat dari hasil yang diperoleh dari pengujian pada kelompok kontrol yang menunjukkan adanya pembentukan zona hambat di sekitar cakram disk. Zona hambat yang diharapkan dari kelompok kontrol adalah tidak ada yang berarti tidak terdapat pengaruh dari pelarut etanol terhadap pertumbuhan bakteri. Untuk memastikan penyebab dari hal tersebut, diperlukan beberapa pengujian lebih lanjut. Selain itu, keterbatasan pada penelitian ini juga terlihat dari interpretasi hasil kemampuan daya hambat yang dihasilkan ekstrak. Peneliti tidak dapat mengetahui apakah senyawa antibakteri dalam ekstrak bersifat bakteristatik atau bakterisida. Hal ini dikarenakan pengukuran zona hambat ekstrak hanya dilakukan selama sehari atau setelah 18-24 jam inkubasi sehingga peneliti tidak dapat menentukan sifat antibakteri yang dimiliki ekstrak. Untuk itu, pengukuran zona hambat sebaiknya dilakukan selama dua hari. Dengan begitu, peneliti dapat melihat apakah ekstrak cenderung bersifat bakteristatik yang ditandai dengan adanya pertumbuhan di area zona hambat pada hari kedua atau bersifat bakterisida yang ditandai dengan tidak adanya pertumbuhan di area zona hambat. Pengujian *time-kill test* atau MBC (*Minimal Bactericidal Concentration*) juga dapat dilakukan untuk mengetahui secara sifat antibakteri ekstrak. *Time-kill test* membantu untuk mengetahui efek dari senyawa antibakteri yang ditentukan pada waktu dan konsentrasi. Selanjutnya, kelemahan juga ditemukan pada metode pengujian daya hambat yang digunakan yaitu metode difusi

cakram. Metode ini memiliki keterbatasan dalam mendifusikan ekstrak dengan konsentrasi tinggi atau pekat ke media agar. Hal ini disebabkan oleh ketidakmampuan cakram disk untuk menyerap ekstrak yang memiliki konsistensi lebih kental sehingga ekstrak tidak dapat terdifusi dengan baik ke media yang akan menyebabkan bias pada hasil pengukuran zona hambat. Maka dari itu, pemilihan metode pengujian antibakteri perlu dipertimbangkan seiring dengan konsistensi ekstrak dan konsentrasi yang akan digunakan.