

WIDYA BIOLOGI

**PROFIL FITOKIMIA DAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK
DAUN *ACANTHUS ILICIFOLIUS* TERHADAP *ESCHERICHIA COLI*****PHYTOCHEMICAL PROFILE AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY
OF *ACANTHUS ILICIFOLIUS* LEAF EXTRACT AGAINST
*ESCHERICHIA COLI***

Ni Luh Putu Ari Sundari¹, I Nyoman Arsana^{1*}, Anak Agung Ayu Sauca Sunia Widyantari¹

¹Program Studi Biologi Fakultas Kesehatan dan Sains Universitas Hindu Indonesia

*Email: arsana@unhi.ac.id

ABSTRAK

Potensi jeruju (*Acanthus ilicifolius*) sebagai agen antibakteri alami belum banyak dieksplorasi. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis fitokimia dan aktivitas antibakteri ekstrak daun jeruju (*Acanthus ilicifolius*) terhadap pertumbuhan *Escherichia coli*. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan desain Post-Test Only Control Group Design. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram (Kirby-Bauer) dengan variasi konsentrasi 0,5 ppm, 1 ppm, 1,5 ppm, dan 2 ppm, serta metode mikrodilusi untuk penentuan nilai MIC. Data dianalisis menggunakan One-Way ANOVA dan uji lanjut Duncan. Skrining fitokimia menunjukkan ekstrak daun *A. ilicifolius* positif mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin. Daya hambat ekstrak etanol daun jeruju berbeda secara signifikan antarkonsentrasi. Rata-rata daya hambat pada konsentrasi 0.5 ppm, 1 ppm, 1.5 ppm, dan 2 ppm berturut-turut adalah 1.58 mm, 4.21 mm, 5.92 mm, dan 9.61 mm. Konsentrasi terendah (MIC) yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* adalah 0,25 ppm. *Acanthus ilicifolius* berpotensi untuk dikembangkan sebagai bahan baku obat herbal antibakteri.

Kata kunci: *Acanthus ilicifolius*; Antibakteri; *Escherichia coli*

ABSTRACT

The potential of jeruju (*Acanthus ilicifolius*) as a natural antibacterial agent remains underexplored. This study aimed to analyze the phytochemical profile and antibacterial activity of *Acanthus ilicifolius* leaf extract against *Escherichia coli*. The study employed a Completely Randomized Design (CRD) with a Post-Test Only Control Group Design. Extraction was carried out using the maceration method with 70% ethanol as the solvent. Antibacterial activity was evaluated using the Kirby-Bauer disk diffusion method at concentrations of 0.5 ppm, 1 ppm, 1.5 ppm, and 2 ppm, while the minimum inhibitory concentration (MIC) was determined using the microdilution method. Data were analyzed using one-way ANOVA followed by Duncan's multiple range test. Phytochemical screening revealed that *A. ilicifolius* leaf extract was positive for alkaloids, flavonoids, saponins, and tannins. The inhibitory activity of the ethanolic leaf extract differed significantly among concentrations. The mean inhibition zones at concentrations of 0.5 ppm, 1 ppm, 1.5 ppm, and 2 ppm were 1.58 mm, 4.21 mm, 5.92 mm, and 9.61 mm, respectively. The lowest concentration capable of inhibiting *Escherichia coli* growth (MIC) was 0.25 ppm. These

WIDYA BIOLOGI

findings suggest that Acanthus ilicifolius has promising potential for development as a raw material for herbal antibacterial agents.

Keywords: *Acanthus ilicifolius; antibacterial activity; Escherichia coli*

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi bakteri masih menjadi tantangan besar bagi kesehatan global, terutama karena peningkatan resistensi antimikroba yang terus menurunkan efektivitas terapi standar dan mempersempit pilihan pengobatan yang tersedia. Sebuah penelitian menunjukkan bahwa resistensi antimikroba bakteri menjadi masalah kesehatan masyarakat utama yang memerlukan pengembangan agen antibakteri baru, khususnya untuk patogen yang sulit dikendalikan (GBD, 2021).

Salah satu bakteri yang tetap sangat relevan secara klinis adalah *Escherichia coli*, yaitu bakteri Gram-negatif yang dapat bertindak sebagai flora komensal maupun patogen pada manusia (Sora et al., 2021). Strain patogen *E. coli* berperan penting dalam berbagai infeksi, terutama infeksi saluran kemih, bakteremia, sepsis, dan meningitis neonatal. Pada kasus infeksi saluran kemih, uropathogenic *E. coli* dilaporkan sebagai penyebab utama, baik pada kejadian dengan komplikasi maupun tanpa komplikasi. Hal ini tidak hanya berkaitan dengan frekuensi infeksi, tetapi

juga dengan kemampuan adaptasi dan virulensinya yang memungkinkan bakteri ini bertahan, berkolonisasi, dan merusak jaringan inang (Zhou et al., 2023).

Selain itu, sebagai bakteri Gram-negatif, *E. coli* memiliki amplop sel yang kompleks dengan membran luar yang menjadi penghalang penting terhadap masuknya banyak senyawa antibakteri. Karakteristik struktural ini menjadikan bakteri Gram-negatif secara umum lebih menantang untuk dikendalikan dan merupakan salah satu alasan utama perlunya eksplorasi senyawa antimikroba baru dari sumber alam (Yan et al., 2024). Dalam konteks tersebut, tumbuhan obat mendapat perhatian luas sebagai sumber kandidat antibakteri karena menghasilkan beragam metabolit sekunder dengan mekanisme aksi yang bervariasi (Zouine et al., 2024).

Kelompok senyawa tumbuhan seperti flavonoid, fenolik, terpenoid, alkaloid, saponin, dan tanin telah banyak dilaporkan berkontribusi terhadap aktivitas antimikroba melalui gangguan membran sel, hambatan terhadap sistem enzim, serta interferensi pada target intraseluler seperti

WIDYA BIOLOGI

DNA gyrase (Yan et al., 2024). Pendekatan bioprospeksi terhadap tumbuhan obat menjadi semakin rasional ketika diarahkan pada spesies yang secara etnomedisin telah lama digunakan untuk kondisi yang berkaitan dengan infeksi atau inflamasi (Matos et al., 2022).

Salah satu spesies yang menarik untuk dikaji adalah jeruju (*Acanthus ilicifolius* L.), tumbuhan mangrove dari famili Acanthaceae yang tersebar luas di wilayah tropis pesisir dan telah lama dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional (Purwanto et al., 2026). Kajian etnomedisin menunjukkan bahwa spesies-spesies dalam genus *Acanthus*, terutama *A. ilicifolius*, digunakan untuk berbagai gangguan pada sistem pernapasan, saluran cerna, saluran kemih, serta penyakit kulit (Matos et al., 2022). Nilai farmakologis jeruju juga dianggap terkait dengan habitat mangrove yang ekstrem, karena tekanan lingkungan seperti salinitas dan fluktuasi pasang surut sering diasosiasikan dengan akumulasi metabolit sekunder yang beragam (Singh & Aeri, 2013).

Berbagai publikasi melaporkan bahwa *A. ilicifolius* mengandung banyak kelas senyawa bioaktif, termasuk flavonoid, alkaloid, lignan, terpenoid, glikosida, steroid, fenilethanoid, coumarin, saponin, dan tanin. Keberagaman kimia

tersebut menjadikan jeruju sebagai kandidat yang layak dievaluasi lebih lanjut dalam penelitian antibakteri berbasis bahan alam (Purwanto et al., 2026). Namun demikian, dari sudut pandang mikrobiologi, bahwa keberadaan metabolit sekunder tidak otomatis menjamin potensi antibakteri yang kuat, sehingga efektivitasnya tetap harus dibuktikan secara eksperimental terhadap mikroba target tertentu (Yan et al., 2024).

Sejumlah studi sebelumnya memang telah menunjukkan bahwa ekstrak *A. ilicifolius* memiliki aktivitas antimikroba terhadap beberapa bakteri dan jamur patogen. Pada penelitian terhadap patogen infeksi kulit, berbagai ekstrak *A. ilicifolius* menunjukkan aktivitas penghambatan dengan nilai MIC dan MBC yang berbeda-beda tergantung jenis pelarut dan mikroba uji (Govindasamy & Arulpriya, 2013a). Penelitian in vitro lain juga melaporkan bahwa *A. ilicifolius* mempunyai potensi antimikroba yang terdeteksi melalui metode difusi cakram, yang mengindikasikan bahwa tumbuhan ini memang mengandung komponen aktif yang layak ditelusuri lebih lanjut (Pothiraj, 2021). Penelitian lain mengungkapkan *A. ilicifolius* digunakan untuk mengobati batuk, asma, dan kelumpuhan (Naher et al., 2022).

WIDYA BIOLOGI

Namun demikian, aktivitas antibakteri tumbuhan sangat dipengaruhi oleh bagian tanaman yang digunakan, jenis pelarut, metode ekstraksi, konsentrasi ekstrak, serta strain bakteri yang diuji, sehingga hasil antarpelitian tidak selalu dapat digeneralisasi secara langsung. Di samping itu, meskipun jeruju telah dilaporkan memiliki potensi antimikroba, bukti yang terfokus secara spesifik pada ekstrak daun jeruju terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* masih relatif terbatas dibandingkan dengan urgensi klinis bakteri tersebut. Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian mengenai aktivitas antibakteri ekstrak daun jeruju terhadap *E. coli* perlu dilakukan sehingga dapat memperkuat dasar ilmiah untuk pengembangan kandidat antibakteri nabati yang mendukung pencarian alternatif terhadap masalah resistensi antimikroba. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis fitokimia dan aktivitas antibakteri ekstrak daun jeruju (*Acanthus ilicifolius*) terhadap pertumbuhan *Escherichia coli*.

BAHAN DAN METODE**Bahan**

Sampel daun tanaman *A. ilicifolius* diambil di kawasan Ekowisata Mangrove Batu Lumbang, wilayah Taman Hutan

Raya (TAHURA) Ngurah Rai, Provinsi Bali. Daun yang diambil adalah daun yang telah dewasa (terletak pada urutan ketiga hingga kelima dari pucuk batang) untuk memastikan kandungan metabolit sekunder yang optimal. Bahan tanaman yang telah dikumpulkan kemudian dibersihkan dari kotoran yang menempel menggunakan air mengalir, ditiriskan, dan dimasukkan ke dalam wadah pengangkut untuk proses preparasi selanjutnya.

Metode**Ekstraksi**

Ekstrak diperoleh melalui metode maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 70%. Sebanyak 250 gram simplisia daun *A. ilicifolius* dalam 3 wadah kaca bervolume 3 L ditambahkan pelarut etanol sebanyak 1.250 mL. Setelah 24 jam, campuran disaring menggunakan kertas saring Whatman. Filtrat yang diperoleh disimpan, dan residu direndam kembali dalam pelarut baru selama 24 jam, kemudian diulangi hingga pelarut tidak berwarna (Ni Kadek Yunita Sari et al., 2021). Filtrat kemudian diuapkan menggunakan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 50 °C.

Uji Alkaloid

WIDYA BIOLOGI

Ekstrak sampel masing-masing 3 mL direaksikan dengan reagen Mayer, Dragendorff, dan Wagner. Keberadaan alkaloid ditunjukkan oleh formasi endapan spesifik: endapan putih dengan reagen Mayer, endapan merah dengan reagen Dragendorff, dan endapan cokelat dengan reagen Wagner(Wiradana, Permatasari, Sari, et al., 2025).

Uji Flavonoid

Alikuot 3 mL dari ekstrak sampel ditempatkan dalam tabung reaksi, diikuti dengan penambahan 0,1 g bubuk magnesium, 1 mL HCl pekat, dan 1 mL amil alkohol. Setelah divorteks, campuran dibiarkan terpisah menjadi lapisan yang berbeda. Penampilan warna merah pada lapisan amil alkohol mengkonfirmasi keberadaan flavonoid(Wiradana, Permatasari, Sari, et al., 2025).

Uji Saponin

Ekstrak sampel sebanyak 3 mL ditransfer ke tabung reaksi, digoyangkan dengan kuat, dan dibiarkan tegak selama 10 menit. Pembentukan busa persisten menunjukkan adanya saponin(Wiradana, Permatasari, Sari, et al., 2025).

Uji Tanin

Tiga mililiter ekstrak sampel ditempatkan dalam tabung reaksi dan direaksikan dengan 3 tetes larutan $FeCl_3$ 1%. Pembentukan warna biru atau

kehijauan hitam mengkonfirmasi keberadaan senyawa tanin(Wiradana, Permatasari, Sari, et al., 2025).

Uji Triterpenoid

Ekstrak sampel (3 mL) dilarutkan dalam etanol panas dan dipanaskan selama 5 menit, diikuti dengan penyaringan. Filtrat yang dihasilkan dikeringkan di bawah panas, kemudian dilarutkan dengan 1 mL dietil eter. Tiga tetes fraksi eter ditempatkan pada pelat spot dan diobati dengan 3 tetes anhidrida asetat dan 1 tetes H_2SO_4 yang terkonsentrasi. Triterpenoid diidentifikasi dengan warna kemerahan-violet, sedangkan steroid ditunjukkan oleh warna hijau biru(Wiradana, Permatasari, Sari, et al., 2025).

Uji Aktivitas antibakteri

Aktivitas antibakteri diuji terhadap pertumbuhan *E. coli* menggunakan metode difusi cakram dengan kertas cakram berdiameter 6 mm. Pengujian menggunakan konsentrasi ekstrak sebesar 0,5 mg/L; 1 mg/L ;1,5 mg/L; dan 2 mg/L yang diaplikasikan dengan cara mencelupkan cakram selama 5 menit sebelum diletakkan pada media kultur *Mueller Hinton Agar* (MHA) yang telah diinokulasi dengan suspensi bakteri dengan kepadatan standar McFarland 0,5. Prosedur ini dilengkapi dengan penggunaan *disk Chloramphenicol* sebagai

WIDYA BIOLOGI

kontrol positif untuk melihat efektivitas antibiotik standar dan pelarut etanol sebagai kontrol negatif guna memastikan bahwa zona hambat yang terbentuk murni berasal dari senyawa aktif ekstrak jeruju, bukan dari pengaruh pelarut, di mana seluruh pengujian dilakukan dengan tiga kali pengulangan (triplo) kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Aktivitas antibakteri ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambat di sekitar kertas cakram, kemudian diukur menggunakan jangka sorong (Wiradana, Permatasari, Widhiantara, et al., 2025).

Uji Minimum Inhibitory Concentration (MIC)

Pengujian MIC dilakukan menggunakan metode dilusi cair dengan pengukuran berbasis spektrofotometri. Uji dilakukan setelah diperoleh hasil pengujian daya hambat dengan menurunkan konsentrasinya. Prosedur diawali dengan menyiapkan deret pengenceran ekstrak dalam berbagai konsentrasi, yaitu 2 ppm; 1,5 ppm; 1 ppm; 0,5 ppm; 0,25 ppm; 0,125 ppm; dan 0,0625 ppm, yang kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 5 mL media *Brain Heart Infusion Broth* (BHIB) yang telah diinokulasi dengan suspensi bakteri *E. coli* setara standar McFarland 0,5. Pengukuran nilai absorbansi dilakukan

menggunakan ELISA *reader* pada panjang gelombang 660 nm yang dicatat sebagai data awal (T-0). Selanjutnya, seluruh tabung diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Setelah masa inkubasi, dilakukan pengukuran kembali pada panjang gelombang yang sama (T-24) untuk melihat selisih nilai absorbansi sebagai indikator pertumbuhan bakteri. Pengamatan dilakukan dengan mengamati tingkat kekeruhan (*turbidity*) yang terbentuk pada setiap tabung (Waruwu et al., 2024). Nilai MIC ditetapkan berdasarkan konsentrasi terendah yang masih menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri dengan menghitung nilai % Inhibisi dengan rumus berikut :

CFU/mL

$= 1$

$$= \frac{OD \text{ sampel } 24 \text{ jam} \times OD \text{ sampel } 0 \text{ jam}}{OD \text{ blanko } 24 \text{ jam} \times OD \text{ blanko } 0 \text{ jam}} \times 100\%$$

Analisis Data

Profil fitokimia dari ekstrak *A. ilicifolius* dan MIC dianalisis secara deskriptif kualitatif. Diameter zona hambat dianalisis secara statistik menggunakan *One-Way Anova* dan dilanjutkan dengan Uji Lanjut *Duncan* (*Duncan's Multiple Range Test*), dan dikerjakan dengan menggunakan SPSS.

WIDYA BIOLOGI

HASIL DAN PEMBAHASAN

Profil fitokimia ekstrak daun *Acanthus ilicifolius*

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun *A. ilicifolius*

memiliki kandungan tannin, saponin, flavonoid, dan alkaloid, namun tidak positif mengandung terpenoid seperti disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Identifikasi profil fitokimia kualitatif pada ekstrak daun *A. ilicifolius*

Parameter	Hasil	Keterangan
Tanin	+	Biru kehitaman
Terpenoid	-	Berbentuk cincin interface, tidak berubah
Saponin	+	Buih Tidak Hilang
Flavonoid	+	Merah Muda Pekat
Alkaloid	+	Cokelat Kemerahan

Hasil reaksi menunjukkan tanin menghasilkan warna biru kehitaman. Hal ini terjadi akibat ion-ion Fe^{3+} dari FeCl_3 bertemu dengan gugus fenolik (-OH) yang tersusun dalam struktur kompleks pada tanin terkondensasi, terjadi pembentukan kompleks koordinasi. Kompleks Fe^{3+} -fenolat ini memiliki sifat transfer muatan dari ligand ke logam, yang menyebabkan penyerapan cahaya pada panjang gelombang tertentu di spektrum tampak. Kompleks besi dengan tanin terkondensasi yang besar dan kompleks, panjang gelombang yang diserap cenderung menghasilkan warna biru, biru-hitam, hijau-biru, atau hijau-kebiruan. Warna kehitaman muncul karena larutan ekstrak daun *A. ilicifolius* biasanya berwarna cokelat atau hijau tua (tergantung pada usia

daun). Campuran warna biru dari kompleks dengan warna dasar ekstrak yang gelap menghasilkan nuansa biru kehitaman (N K Y Sari & Sumadewi, 2021).

Ekstrak daun *A. ilicifolius* juga menghasilkan saponin. Hal ini diperlihatkan dari munculnya indikator berupa surfaktan atau busa alami yang dimiliki oleh molekul saponin. Mekanisme pembentukannya menjelaskan bagaimana struktur amfifiliknya memungkinkannya menstabilkan gelembung udara dalam air, kemudian menghasilkan busa yang bertahan lama (Putra et al., 2021) (Widhiantara & Jawi, 2021)

Ekstrak daun *A. ilicifolius* memperlihatkan indikator warna merah muda pekat atau merah jambu terang yang

WIDYA BIOLOGI

merupakan indikator positif flavonoid. Flavonoid memiliki sistem cincin dengan gugus keto ($C=O$) dan gugus hidroksil ($-OH$) pada posisi tertentu (misalnya, pada posisi 4-keto dan 3-OH atau 5-OH) (Putra et al., 2020) (Rahmawati et al., 2024). Kepekatan warna berbanding lurus dengan konsentrasi flavonoid dalam ekstrak. Semakin banyak flavonoid, semakin banyak kompleks logam-flavonoid yang terbentuk, sehingga warna yang dihasilkan semakin intens. Kompleks ini mengubah sifat penyerapan cahaya molekul flavonoid, sehingga memantulkan cahaya dalam rentang warna merah hingga merah muda. Warna yang pekat menandakan kandungan flavonoid yang tinggi dalam ekstrak daun *A. ilicifolius*. Namun, hasil ini perlu diujikan lebih lanjut kadar total flavonoidnya sehingga dapat mendukung hasil kualitatif yang dihasilkan dari metode ini.

Uji kualitatif alkaloid umumnya bekerja berdasarkan reaksi antara alkaloid (sebagai basa nitrogen) dengan reagen asam atau garam logam berat untuk membentuk kompleks berwarna atau endapan yang khas. Reaksi ini terjadi karena gugus nitrogen pada alkaloid memiliki pasangan elektron bebas yang dapat berikatan dengan ion logam atau bagian elektrofilik dari reagen. Skrining

fitokimia untuk alkaloid menghasilkan warna coklat kemerahan terutama karena terbentuknya kompleks garam berwarna yang tidak larut antara kation alkaloid dengan anion kompleks bismut iodida ($[BiI_4]^-$) dari Reagen Dragendorff. Warna ini berasal dari sifat optik kompleks transfer muatan yang terbentuk. Uji ini adalah indikator awal yang kuat untuk keberadaan senyawa basa nitrogen, khususnya alkaloid, dalam ekstrak daun *A. ilicifolius* (Dey et al., 2020).

Daya hambat ekstrak daun *Acanthus ilicifolius*

Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun *A. ilicifolius* terhadap *E. coli* menggunakan metode *disc diffusion* menunjukkan adanya perbedaan zona hambat pada tiap konsentrasi serta kontrol negatif (K-) dan kontrol positif (K+). Rerata hasil pengukuran diameter zona hambat tersebut disajikan pada Tabel 2.

Konsentrasi 2 ppm menunjukkan rerata daya hambat tertinggi di antara konsentrasi ekstrak lainnya, yaitu sebesar $9,61 \pm 1,65$ mm, yang berbeda secara signifikan ($p < 0,05$) dengan ketiga konsentrasi lainnya. Menariknya, rerata daya hambat ekstrak dengan konsentrasi 2 ppm lebih tinggi jika dibandingkan dengan kontrol +, namun secara statistik tidak

WIDYA BIOLOGI

berbeda secara signifikan ($p > 0,05$), seperti ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Daya Hambat Ekstrak Daun Jeruju Konsentrasi 0,5 ppm, 1 ppm, 1,5 ppm, dan 2 ppm Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*

Perlakuan	Ulangan			Rerata $\pm$ SD	Katagori
	I	II	III		
K-	0	0	0	0 ± 0	-
K+	9,08	8,63	7,80	$8,50 \pm 0,64^a$	Sedang
0,5 ppm	1,75	1,90	1,10	$1,58 \pm 0,42^b$	Lemah
1 ppm	5,13	3,80	3,70	$4,21 \pm 0,79^c$	Lemah
1,5 ppm	6,78	5,60	5,40	$5,92 \pm 0,74^c$	Sedang
2 ppm	11,05	7,80	10,00	$9,61 \pm 1,65^a$	Sedang

Keterangan : Rata-rata yang huruf superskrip berbeda menunjukkan berbeda secara signifikan ($p < 0.05$; *Duncan's Multiple Range Test*)

Aktivitas antibakteri ekstrak daun *A. ilicifolius* diduga berasal dari senyawa fitokimia seperti flavonoid, tanin, dan saponin (Firdaus et al., 2013; Govindasamy & Arulpriya, 2013b)(Bose & Bose, 2008)., yang diketahui memiliki mekanisme kerja dalam merusak dinding sel bakteri, mengganggu permeabilitas membran, serta menghambat sintesis protein dan enzim esensial bakteri. Rerata daya hambat yang ditunjukkan oleh konsentrasi tertinggi ekstrak *A. ilicifolius* pada konsentrasi 2 ppm yang memiliki kategori penghambatan sedang (Wiradana, Permatasari, Widhiantara, et al., 2025).

Tanin dan flavonoid termasuk senyawa fenolik yang dikenal mampu mendonorkan atom hidrogen atau elektron untuk menetralkan radikal bebas, sehingga diduga berperan sebagai sumber utama

aktivitas antioksidan dan antibakteri (Zahra et al., 2024). Tannin adalah senyawa polifenol yang terbukti menghambat pertumbuhan bakteri melalui proses seperti kelasi besi, disrupti membrane sel, penghambatan biosintesis asam lemak, dan penghambatan pembentukan dinding sel (Farha et al., 2020). Sedangkan flavonoid dapat berinterkalasi ke dalam membrane bakteri, mengudah fluiditas dan permeabilitasnya serta menghambat enzim – enzim penting seperti DNA gyrase dan topoisomerase yang berakibat pada penghambatan replikasi dan transkripsi DNA (De Rossi et al., 2025; Górnaiak et al., 2019; Kumar et al., 2025).

Saponin dan alkaloid dapat berkontribusi sebagai antioksidan pendukung, misalnya melalui

WIDYA BIOLOGI

penghambatan peroksidasi lipid atau pengkelatan ion logam pemicu reaksi oksidatif (Elbouzidi et al., 2025). Alkaloid bekerja dengan mengganggu integritas bakteri, sehingga menyebabkan peningkatan permeabilitas, kebocoran isi sel, dan kematian sel bakteri (Lou et al., 2025). Senyawa ini juga terlibat dalam induksi produksi ROS di dalam sel bakteri yang menyebabkan stres oksidatif dan kerusakan. Senyawa saponin termasuk dalam golongan glikosida yang terdiri dari aglikon dan gugus gula hidrofilik yang bekerja dengan berinteraksi dengan kolesterol dan lipid yang terdapat dalam membran bakteri sehingga menyebabkan disrupti membran dan lisis sel (Korchowiec et al., 2015). Ketiadaan terpenoid yang terdeteksi menunjukkan bahwa golongan ini bukan komponen utama yang menyumbang aktivitas antioksidan dan antibakteri dalam ekstrak *A. ilicifolius*.

Persentase MIC dari ekstrak daun *Acanthus ilicifolius*

Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi 2 ppm menunjukkan nilai rerata persentase inhibisi tertinggi sebesar 79,63%, yang mengindikasikan kemampuan penghambatan yang kuat terhadap pertumbuhan *E. coli*. Daya hambat masih teramati hingga konsentrasi 0,25 ppm dengan persentase inhibisi sebesar 16,77%. Namun, pada dua konsentrasi terendah selanjutnya, yaitu 0,125 ppm dan 0,0625 ppm, media BHIB menunjukkan kondisi keruh dengan nilai inhibisi negatif masing-masing sebesar -24,54% dan -31,15% (Tabel 3). Hal ini menandakan kedua konsentrasi tersebut tidak mencukupi untuk menghambat pertumbuhan *E. coli* selama 24 jam masa inkubasi. Berdasarkan hasil pengujian, konsentrasi 0,25 ppm ditetapkan sebagai nilai MIC, karena merupakan titik konsentrasi terendah yang masih memberikan nilai inhibisi positif sebelum aktivitas hambatan hilang sepenuhnya pada konsentrasi di bawahnya.

Tabel 3. Persentase inhibisi dari MIC ekstrak *A. ilicifolius* terhadap pertumbuhan *E. coli*

Jam	Ulangan	Konsentrasi (ppm)							
		2	1,5	1	0,5	0,25	0,125	0,0625	K+
0 Jam	U1	84.54	61.10	40.58	22.63	14.46	-25.03	-35.50	88.89
	U2	78.96	59.98	48.56	26.06	16.87	-30.01	-33.70	
24Jam	U1	84.11	62.24	49.62	34.30	17.59	-19.75	-29.75	85.57
	U2	70.92	60.84	50.69	45.61	18.16	-23.36	-25.65	
	Rerata	79.63	61.04	47.36	32.15	16.77*	-24.54	-31.15	87.22

WIDYA BIOLOGI

Keterangan: tanda * pada nilai rerata menunjukkan konsentrasi terendah yang masih menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri.

Konsentrasi hambat minimum atau *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) didefinisikan sebagai konsentrasi terendah dari obat antimikroba yang diujikan sebagai kandidat obat baru yang memiliki sifat seperti antibiotik dan digunakan untuk mencegah pertumbuhan mikroorganisme tertentu setelah masa inkubasi standar (Kowalska-Krochmal & Dudek-Wicher, 2021). Metode MIC yang dilakukan pada kultur media cair menggunakan metode mikrodilusi dapat memberikan evaluasi potensi suatu zat secara presisi, kuantitatif, dan terstandar (Hulankova, 2022). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun jeruju memiliki nilai MIC terendah pada konsentrasi 0.25 ppm, yaitu sebesar 16.77%. Jika dibandingkan dengan beberapa penelitian sebelumnya, nilai ini menunjukkan potensi antibakteri yang sangat kuat. Sebagai perbandingan, nilai MIC dari ekstrak ampas apel berkisar antara 1,25 hingga >20 ppm (Zhang et al., 2016). Fraksi ekstrak etil asetat dan air dari *Sonneratia caseolaris* yang memiliki nilai MIC pada konsentrasi 4 ppm (Biswas et al., 2025), serta ekstrak daun *Avicennia marina* terhadap *Enterococcus faecium*

dan *Klebsiella pneumoniae* bervariasi antara 4 sampai 16 ppm (Alizadeh Behbahani et al., 2018). Jika dibandingkan dengan ekstrak methanol buah *Rhizophora stylosa* (6,67 ppm) dan ekstrak kloroform dari *A. marina* (8,26 ppm) (Burhanuddin et al., 2020). Dengan demikian, dapat dikatakan bahwa nilai MIC ekstrak daun jeruju dalam penelitian ini jauh lebih rendah. Hal ini diduga terjadi karena perbedaan senyawa aktif yang terkandung pada spesies tumbuhan penelitian lain mempertegas bahwa perbedaan nilai MIC sangat dipengaruhi oleh kelimpahan dan jenis senyawa aktif yang berhasil ditarik oleh pelarut.

Ekstrak daun *R. stylosa* dengan fraksi air mampu menghambat pertumbuhan *K. pneumoniae* pada nilai MIC sebesar 400 ppm (Kalasuba et al., 2025). Selanjutnya, ekstrak etil asetat batang *Bruguiera gymnorhiza* memiliki nilai MIC sebesar 62,50 ppm yang didukung oleh aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ sebesar 255,03 mg/l (termasuk antioksidan kuat) (Yami et al., 2020). Ekstrak kulit kayu dari mangrove *R. apiculata* memiliki nilai MIC sebesar 3,02 ppm terhadap *Penicillium chrysogenum*.

WIDYA BIOLOGI

Rendahnya nilai tersebut disebabkan oleh penggunaan kombinasi pelarut metanol/etanol/kloroform (60:20:20) yang mampu mengekstraksi lebih banyak senyawa flavanol dibandingkan dengan penggunaan metanol saja (Acharya et al., 2023).

Penggunaan etanol sebagai pelarut terbukti efektif mengekstraksi senyawa fitokimia esensial *A. ilicifolius* seperti flavonoid, tanin, saponin, dan alkaloid yang teridentifikasi pada Tabel 4.1, karena memiliki tingkat kepolaran yang tinggi yang mampu melarutkan berbagai senyawa metabolit sekunder. Penelitian lain menunjukkan bahwa penggunaan pelarut metanol pada daun *A. ilicifolius* menghasilkan aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* yang terlihat signifikan pada rentang konsentrasi 8% hingga 30% (Puspitasari & Munisih, 2022). Konsentrasi tersebut setara dengan nilai yang jauh lebih tinggi, yaitu 80.000–300.000 ppm. Sebaliknya, penelitian ini berhasil mencapai daya hambat pada bakteri *E. coli* dengan nilai MIC yang sangat rendah, yaitu sebesar 0,25 ppm.

Perbedaan hasil ini membuktikan bahwa ekstrak etanol daun Jeruju memiliki efektivitas yang jauh lebih tinggi dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

Meskipun metanol sering kali dianggap sebagai pelarut universal, etanol cenderung lebih efektif dalam mengekstraksi senyawa spesifik yang memiliki afinitas tinggi terhadap target seluler bakteri Gram-negatif seperti *E. coli*. Senyawa aktif esensial dalam daun jeruju memiliki afinitas yang sangat kuat terhadap target seluler bakteri *E. coli*, sehingga konsentrasi yang sangat kecil pun mampu memberikan hambatan pertumbuhan bakteri.

SIMPULAN

Ekstrak etanol daun *Acanthus ilicifolius* mengandung tannin, saponin, flavonoid, dan alkaloid yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan zona hambat terbesar yang dicapai pada konsentrasi 2 ppm. Konsentrasi terendah (MIC) yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* adalah 0,22 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- Acharya, S., Jali, P., Pradhan, M., Pradhan, C., & Mohapatra, P. K. (2023). Antimicrobial and Antioxidant Property of a True Mangrove *Rhizophora apiculata* Bl. *Chemistry & Biodiversity*, 20(9). <https://doi.org/10.1002/cbdv.202201144>
- Alizadeh Behbahani, B., Tabatabaei Yazdi, F., Shahidi, F., Noorbakhsh,

WIDYA BIOLOGI

- H., Vasiee, A., & Alghooneh, A. (2018). Phytochemical analysis and antibacterial activities extracts of mangrove leaf against the growth of some pathogenic bacteria. *Microbial Pathogenesis*, 114, 225–232. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.12.004>
- Biswas, B. B., Islam, M. N., Dey, A., Bessho, Y., & Biswas, N. N. (2025). Exploring Sonneratia caseolaris: A mangrove plant source for novel antibacterial compounds targeting quorum sensing and biofilm inhibition. *The Microbe*, 8, 100428. <https://doi.org/10.1016/j.microb.2025.100428>
- Bose, S., & Bose, A. (2008). Antimicrobial activity of Acanthus ilicifolius (L.). *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 70(6), 821. <https://doi.org/10.4103/0250-474X.49134>
- Burhanuddin, Saru, A., Rantetondok, A., & Zainuddin, E. N. (2020). MIC (Minimum Inhibition Concentration) test of metanol extract on rhizophora stylosa and chloroform Avicennia marina against vibriosis in mangrove crab larvae (Scylla serrata forsskal). *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 473(1), 012010. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/473/1/012010>
- De Rossi, L., Rocchetti, G., Lucini, L., & Rebecchi, A. (2025). Antimicrobial Potential of Polyphenols: Mechanisms of Action and Microbial Responses—A Narrative Review. *Antioxidants*, 14(2), 200. <https://doi.org/10.3390/antiox14020200>
- Dey, P., Kundu, A., Kumar, A., Gupta, M., Lee, B. M., Bhakta, T., Dash, S., & Kim, H. S. (2020). Analysis of alkaloids (indole alkaloids, isoquinoline alkaloids, tropane alkaloids). In *Recent Advances in Natural Products Analysis* (pp. 505–567). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816455-6.00015-9>
- Elbouzidi, A., Haddou, M., Baraich, A., Taibi, M., El Hachlafi, N., Pareek, A., Mesnard, F., & Addi, M. (2025). Biochemical insights into specialized plant metabolites: Advancing cosmeceutical applications for skin benefits. *Journal of Agriculture and Food Research*, 19, 101651. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2025.101651>
- Farha, A. K., Yang, Q.-Q., Kim, G., Li, H.-B., Zhu, F., Liu, H.-Y., Gan, R.-Y., & Corke, H. (2020). Tannins as an alternative to antibiotics. *Food Bioscience*, 38, 100751. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100751>
- Firdaus, M., Prihanto, A. A., & Nurdiani, R. (2013). Antioxidant and cytotoxic activity of Acanthus ilicifolius flower. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3(1), 17–21. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(13\)60017-9](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(13)60017-9)
- GBD. (2021). Global burden of bacterial antimicrobial resistance 1990–2021 : a systematic analysis with forecasts to 2050. *Lancet*, 404(10459), 1199–1226. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(24\)01867-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(24)01867-1)
- Górniak, I., Bartoszewski, R., & Króliczewski, J. (2019). Comprehensive review of

WIDYA BIOLOGI

- antimicrobial activities of plant flavonoids. *Phytochemistry Reviews*, 18(1), 241–272. <https://doi.org/10.1007/s11101-018-9591-z>
- Govindasamy, C., & Arulpriya, M. (2013a). Antimicrobial activity of *Acanthus ilicifolius*: Skin infection pathogens. *Asian Pac J Trop Dis.*, 3(3), 180–183. [https://doi.org/10.1016/S2222-1808\(13\)60036-5](https://doi.org/10.1016/S2222-1808(13)60036-5)
- Govindasamy, C., & Arulpriya, M. (2013b). Antimicrobial activity of *Acanthus ilicifolius*: Skin infection pathogens. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 3(3), 180–183. [https://doi.org/10.1016/S2222-1808\(13\)60036-5](https://doi.org/10.1016/S2222-1808(13)60036-5)
- Hulankova, R. (2022). The Influence of Liquid Medium Choice in Determination of Minimum Inhibitory Concentration of Essential Oils against Pathogenic Bacteria. *Antibiotics*, 11(2), 150. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11020150>
- Kalasuba, K., Rahayuningsih, S. R., Amalia, E., Syaputri, Y., Doni, F., & Rustama, M. M. (2025). Antibacterial Activities of Red Mangrove (*Rhizophora stylosa* Griff.) Leaf Extract against *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603. *HAYATI Journal of Biosciences*, 32(3), 661–669. <https://doi.org/10.4308/hjb.32.3.661-669>
- Korchowiec, B., Gorczyca, M., Wojszko, K., Janikowska, M., Henry, M., & Rogalska, E. (2015). Impact of two different saponins on the organization of model lipid membranes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 1848(10), 1963–1973. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2015.06.007>
- Kowalska-Krochmal, B., & Dudek-Wicher, R. (2021). The minimum inhibitory concentration of antibiotics: Methods, interpretation, clinical relevance. *Pathogens*, 10(2), 1–21. <https://doi.org/10.3390/pathogens10020165>
- Kumar, V., Singh, A., Sharma, N., Saini, R., Kumar, H., El-Shazly, M., & Dev, K. (2025). Combating bacterial antibiotic resistance with phytochemicals: Current trends and future perspectives. *Medicine in Drug Discovery*, 28, 100228. <https://doi.org/10.1016/j.medidd.2025.100228>
- Lou, Z., Cheng, X., Dong, J., Dai, W., Chen, X., & Wang, H. (2025). The antibacterial mechanism and cell damage mechanism of natural antibacterial agents from different sources and their applications in food. *Journal of Food Measurement and Characterization*. <https://doi.org/10.1007/s11694-025-03794-6>
- Matos, P., Batista, M. T., & Figueirinha, A. (2022). A review of the ethnomedicinal uses, chemistry, and pharmacological properties of the genus *Acanthus* (Acanthaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 293(15), 115271. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2022.115271>
- Naher, K., Moniruzzaman, M., Islam, S., Hasan, A., Paul, G. K., Jabin, T.,

WIDYA BIOLOGI

- Biswas, S., Zaman, S., Saleh, M. A., & Uddin, M. S. (2022). Evaluation of biological activity and in silico molecular docking studies of *Acanthus ilicifolius* leaf extract against four multidrug-resistant bacteria. *Informatics in Medicine Unlocked*, 33, 101092. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.imu.2022.101092>
- Pothiraj, C. (2021). Evaluating antimicrobial activities of *Acanthus ilicifolius* L. and *Heliotropium curassavicum* L against bacterial pathogens: an in-vitro study. *Journal of Infection and Public Health*, 14(12), 1927–1934. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2021.10.013>
- Purwanto, P., Irianto, I. D. K., Wahyuni, T. S., & Zakaria, Z. A. (2026). *Chemistry and Biological Activities of Acanthus ilicifolius* In: Murthy, H.N. (eds) *Bioactive Compounds in Mangroves and their Associates* (H. N. Murthy (ed.); pp. 45–89). Springer Nature Switzerland. https://doi.org/10.1007/978-3-031-91066-1_3
- Puspitasari, D. F., & Munisih, S. (2022). Uji total flavonoid dan uji aktivitas ekstrak metanol daun jeruju (*Acanthus ilicifolius* L.) terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 11(2), 125–132.
- Putra, I. M. W. A., Fakhrudin, N., Kusumawati, I., Nurrochmad, A., & Wahyuono, S. (2021). Antioxidant properties of extract combination of *Coccinia grandis* and *Blumea balsamifera*: An in vitro synergistic effect. *Journal of Herbmed Pharmacology*, 11(1), 55–62. <https://doi.org/10.34172/jhp.2022.06>
- Putra, I. M. W. A., Sukesu, K. A., & Sulistyadewi, N. P. E. (2020). Antioxidant Capacity and alfa-Amilase Inhibition by Avocado (*Persea americana* Mill) Peel and Red Ginger (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) based Functional Drink. *Acta Chimica Asiana*, 3(1), 135–142. <https://doi.org/10.29303/aca.v3i1.22>
- Rahmawati, S. I., Izzati, F. N., Harmoko, R., Bayu, A., Hadiani, I., Yusrum, A., Ilman, A., Ilman, A. M., & Putra, M. Y. (2024). Evaluation of phytochemical, antioxidant and anticancer activities of Indonesian mangroves herbal tea. *BIO Web of Conferences*, 112, 06005. <https://doi.org/10.1051/bioconf/202411206005>
- Sari, N K Y, & Sumadewi, N. L. U. (2021). Aktivitas Antifungi Saponin Bunga Kamboja Putih (*Plumeria acuminata*) pada *Candida albicans* ATCC 10231. *Metamorfosa*, 8(1), 74. <https://doi.org/10.24843/metamorfosa.2021.v08.i01.p07>
- Sari, Ni Kadek Yunita, Deswiniyanti, N. W., & Wiradana, P. A. (2021). Evaluation of antimicrobial activity and phytochemical screening of red Kamboja (*Plumeria rubra* L.) extracts. *Biogenesis: Jurnal Ilmiah Biologi*, 9(2), 233–240. <https://doi.org/10.24252/bio.v9i2.25409>
- Singh, D., & Aeri, V. (2013). Phytochemical and pharmacological potential of *Acanthus ilicifolius*. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 5(1), 17–20. <https://doi.org/10.4103/0975-7406.106557>
- Sora, V. M., Meroni, G., Zecconi, A.,

WIDYA BIOLOGI

- Martino, P. A., Soggiu, A., & Bonizzi, L. (2021). Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli*: Virulence Factors and Antibiotic Resistance. *Pathogens*, 10(11), 1355. <https://doi.org/10.3390/pathogens10111355>
- Waruwu, E., Permatasari, A. A. A. P., Wiradana, P. A., Putra, I. M. W. A., Sudaryatma, P. E., & Kusala, M. K. J. (2024). In Vitro Evaluation of Brown Algae Extract from *Sargassum aquifolium* in Inhibiting *Aeromonas hydrophila*, the Causative Agent of Motile *Aeromonas* Septicemia (MAS). *Journal of Aquaculture Science*, 9(2), 117–127. <https://doi.org/10.20473/joas.v9i2.63662>
- Widhiantara, I. G., & Jawi, I. M. (2021). Phytochemical composition and health properties of Sembung plant (*Blumeabalsamifera*): A review. *Veterinary World*, 14(5), 1185–1196. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.111252>
- Wiradana, P. A., Permatasari, A. A. A. P., Sari, N. K. Y., Widhiantara, I. G., Sandhika, I. M. G. S., Waruwu, E., Fimaputra, J. M., Panjaitan, N. S. D., Putri, F. R., & Ansori, A. N. M. (2025). Isolation and Molecular Identification of Endophytic Fungi Associated with Brown Algae for Inhibiting *Escherichia coli* ESBL. *Journal of Applied Veterinary Science And Technology*, 5(1), 31–41. <https://doi.org/10.20473/javest.V5.I1.2024.31-41>
- Wiradana, P. A., Permatasari, A. A. A. P., Widhiantara, I. G., Putra, I. M. W. A., Sari, N. K. Y., Panjaitan, N. S. D., Wahyuningsih, S. P. A., & Herdiansyah, M. A. (2025). ISOLATION, SCREENING, AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF ENDOPHYTIC FUNGI ASSOCIATED WITH *Acanthus ilicifolius* L. IN INHIBITING THE GROWTH OF Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia*, 12(2), 203–219. <https://doi.org/10.55981/jbbi.2025.13090>
- Yami, A. C. L., Batubara, I., & Audah, K. A. (2020). Antioxidant and antibacterial activity of mangrove *Brugueira gymnorrhiza* stem extracts against pathogenic bacteria *Vibrio cholerae*. *Acta Biochimica Indonesiana*, 3(2), 53–61. <https://doi.org/10.32889/actabioina.v3i2.51>
- Yan, Y., Xia, X., Fatima, A., Zhang, L., Yuan, G., Lian, F., & Wang, Y. (2024). Antibacterial Activity and Mechanisms of Plant Flavonoids against Gram-Negative Bacteria Based on the Antibacterial Statistical Model. In *Pharmaceuticals* (Vol. 17, Issue 3, p. 292). <https://doi.org/10.3390/ph17030292>
- Zahra, M., Abrahamse, H., & George, B. P. (2024). Flavonoids: Antioxidant Powerhouses and Their Role in Nanomedicine. *Antioxidants*, 13(8), 922. <https://doi.org/10.3390/antiox13080922>
- Zhang, T., Wei, X., Miao, Z., Hassan, H., Song, Y., & Fan, M. (2016). Screening for antioxidant and antibacterial activities of phenolics from Golden Delicious apple pomace. *Chemistry Central Journal*, 10(1), 47. <https://doi.org/10.1186/s13065-016-0195-7>

WIDYA BIOLOGI

Zhou, Y., Zhou, Z., Zheng, L., Gong, Z., Li, Y., Jin, Y., Huang, Y., & Chi, M. (2023). Urinary Tract Infections Caused by Uropathogenic *Escherichia coli*: Mechanisms of Infection and Treatment Options. *Int. J. Mol. Sci*, 24(13), 10537. <https://doi.org/10.3390/ijms241310537>

Zouine, N., Ghachtouli, N. El, Abed, S. El, & Koraichi, S. I. (2024). A comprehensive review on medicinal plant extracts as antibacterial agents: Factors , mechanism insights and future prospects. *Scientific African*, 26(July), e02395. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2024.e02395>
