

Antibakteri Ekstrak Etanol 70% Daun Tanaman Bit (*Beta vulgaris* L.) Terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027

Antibacterial Activity Test of Beet (Beta vulgaris L.) Leaves 70% Ethanol Extract Against Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027

Hibban Arik Nuryamin^{1*}, Inherni Marti Abna¹, dan Mellova Amir³

¹ Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu-ilmu Kesehatan, Universitas Esa Unggul, Jakarta, Indonesia

Kata kunci: *Beta vulgaris* L., maserasi, *Pseudomonas aeruginosa*, aktivitas antibakteri

Keyword: *Beta vulgaris* L., maceration, *Pseudomonas aeruginosa*, antibacterial activity

Korespondensi:

Hibban Arik Nuryamin

Universitas Esa Unggul

hibbanariknuryamin@gmail.com

ABSTRAK

Daun tanaman Bit (*Beta vulgaris* L.) merupakan salah satu tanaman yang mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, dan terpenoid yang dapat berfungsi sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol 70% daun tanaman bit (*Beta vulgaris* L.) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 dan mengetahui konsentrasi terbaik yang dibutuhkan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi agar dengan kontrol positif (kloramfenikol 30 µg/ml) dan kontrol negatif (DMSO 5%). Dari penelitian, diperoleh hasil rata-rata zona hambat didapat 5,675 mm pada kontrol positif, pada konsentrasi 400 µg/ml rata-rata zona hambat 4,12 mm, dan pada konsentrasi 300 µg/ml rata-rata zona hambat 3,641 mm. Berdasarkan hasil penelitian ini ekstrak etanol 70% daun tanaman bit dapat menghambat *pseudomonas aetuginosa* ATCC 9027 dan konsentrasi terbaik ekstrak etanol 70% daun tanaman bit terletak pada konsentrari 400 µg/ml dengan rata-rata zona hambat sebesar 4,12 mm dibandingkan dengan kontrol positif kloramfenikol 30 µg/ml dengan rata-rata zona hambat 5,675 mm.

ABSTRACT

Beet leaf (*Beta vulgaris* L.) contains flavonoids, alkaloids, tannins, saponins and terpenoids, which can function as antibacterials. This study aims to determine the antibacterial activity of the 70% ethanol extract of beet leaves (*Beta vulgaris* L.) against *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 and to determine the best concentration of 70% ethanol extract of beet leaves which has antibacterial activity. Antibacterial activity test was carried out by agar diffusion method using wells and compared the average inhibition zone of each treatment with positive control (chloramphenicol 30 µg/ml) and negative control (DMSO 5%). The results showed that the average inhibition zone was 5.675 mm in the positive control; at a concentration of 400 µg/ml, the inhibition zone was 4.12 mm, and at a concentration of 300 µg/ml, the inhibition zone was 3.641 mm. Based on the results of this study, the 70% ethanol extract of beet leaves can inhibit *Pseudomonas aetuginosa* ATCC 9027. The best concentration of 70% ethanol extract of beet leaves lies at 400 µg/ml with an average inhibition zone of 4.12mm compared to the positive control of chloramphenicol 30 µg/ml with an average inhibition zone of 5.675.

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi disebabkan oleh masuk dan berkembangbiaknya mikroorganisme seperti bakteri, fungi, dan parasit serta virus (Prima *et al.*, 2023). Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri gram negatif (Flood, 2021) yang dapat menyebabkan infeksi pada jaringan lunak, infeksi saluran kencing, *bacterimia*, infeksi saluran pernapasan (*pneumonia*), *otitis externa*, *keratitis*, dan *otitis media folliculitis* (Sanjaya *et al.*, 2019). Untuk mengatasi infeksi bakteri, dibutuhkan terapi yang tepat dan mampu mencegah berkembangbiaknya bakteri lebih lanjut tanpa membahayakan *host* (Kemenkes RI, 2015). Pengobatan menggunakan antibakteri yang tidak tepat dapat menyebabkan risiko terjadinya resistensi (Isir *et al.*, 2021). Resistensi antibiotik adalah kemampuan bakteri untuk bertahan hidup terhadap efek antibiotik sehingga tidak efektif dalam penggunaan klinis, bakteri yang semula peka terhadap suatu antimikroba dapat berubah sifat genetiknya menjadi tidak peka (resisten) atau kurang peka (Uddin *et al.*, 2021)

Oleh karena itu dilakukan pencarian sumber daya baru yang dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri. Alternatif yang dapat dipilih untuk mengobati infeksi bakteri adalah dengan memanfaatkan berbagai jenis tumbuhan yang ada di Indonesia (Egra *et al.*, 2017). Salah satunya adalah tanaman Bit (*Beta Vulgaris L.*).

Tanaman Bit (*Beta Vulgaris L.*) memiliki habitus seperti rumput, serta memiliki batang pendek yang hampir tidak terlihat. Daun umbi Bit tumbuh pada daerah leher pangkal umbi dan berwarna merah (Steenis, 2005). Tanaman Bit (*Beta vulgaris L.*) dikenal sebagai sumber senyawa fenolik, nitrat, vitamin, mineral dan mengandung betalanin yang dapat menginduksi efek antiradikal dan antioksidan yang sangat kuat (Desseva *et al.*, 2020). Selain itu tanaman Bit (*Beta vulgaris L.*) juga mengandung flavonoid, alkaloid, tanin, dan saponin yang dapat digunakan sebagai antibakteri (Omogbai & Omoregie, 2019).

Flavonoid dapat berfungsi sebagai antibakteri dengan cara menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel, dan menghambat metabolisme energi (Nomer *et al.*, 2019). Senyawa aktif saponin dapat menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri yang akan mengganggu kelangsungan hidup bakteri (Asy'syifa dkk., 2020). Alkaloid dapat berfungsi sebagai antibakteri dengan menghambat komponen penyusun peptidoglikan yang terdapat pada sel bakteri (Pertiwi *et al.*, 2022)

Beberapa hasil dari penelitian terdahulu antara lain penelitian Omogbai & Omoregie (2019) mengenai aktivitas antibakteri akar Bit (*Beta vulgaris. L*) terhadap mikroorganisme pembusuk dan patogen bawaan makanan yang menunjukkan bahwa umbi Bit memiliki aktivitas antimikroba yang baik terhadap bakteri gram positif dan bakteri

gram negatif sehingga dapat dimanfaatkan dan digunakan sebagai antimikroba alami pada makanan karena kandungan bioaktifnya, kemudian penelitian Winda *et al.* (2021) mengenai perbandingan efektivitas antibakteri ekstrak kulit buah naga (*Hylocereus polyrhizus*) dan Bit merah (*Beta vulgaris* L.) secara *in vitro* menunjukkan adanya efektivitas antibakteri kulit naga merah dan Bit.

METODE PENELITIAN

Alat dan bahan

Alat yang digunakan inkubator (Santn®), autoklaf (Tommy®), *laminar air flow* (Labtech®), *rotary vaccum evaporator* (Heidolph®), waterbath (Grant ®), neraca analitik (Santorius®), vortex (Dragonlab®), *hot plate* (Ika®), maserator, batang pengaduk, penjepit kayu, cawan petri, cawan penguap, pencadang silinder, *biopore filter* (membran solution®), gelas kimia, gelas ukur, jarum ose, erlenmeyer (iwaki®), tabung reaksi (iwaki®), labu ukur (iwaki®), kertas saring, alumunium foil, kapas berlemak, pipet tetes, mikro pipet dan tip (ependorf®), pipet volume, spatel.

Bahan yang digunakan daun tanaman Bit (*Beta vulgaris* L.), Etanol 70% (PA), Aquadest, FeCl₃ (PA), asam sulfat encer (PA), HCl 2N (PA), pereaksi Meyer (PT. Dwilab Mandiri Scientific), pereaksi Dragendorff (PT. Dwilab Mandiri Scientific), pereaksi Wagner (PT. Dwilab Mandiri Scientific), NaOH, magnesium (PA), NaCl 0,9% (otsuka), ammonia (PA), asetat anhidrat, asam sulfat (PA), asam asetat dan media Nutrient Agar

(PA), kloramfenikol 30 µg/ml (PA), DMSO 5% (PA), *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027.

Determinasi tanaman

Tanaman Bit (*Beta vulgaris* L.) diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat. Identifikasi tanaman Bit (*Beta vulgaris* L.) dilakukan di Laboratorium Pusat Penelitian Biologi, LIPI.

Preparasi bahan

Sebanyak 5 kg daun tanaman Bit (*Beta vulgaris* L.) disortasi basah, dicuci bersih dan ditiriskan. kemudian dipotong dengan ukuran kecil, dan dilakukan pengeringan dengan cara diangin-anginkan selama 2 minggu. Selanjutnya simplisia yang sudah dikeringkan dilakukan sortasi kering guna untuk memisahkan simplisia dengan kontaminasi benda asing yang masih tertinggal pada simplisia kering, setelah dilakukan sortasi kering, simplisia dimasukan ke dalam grinder untuk dihaluskan dan kemudian diayak dengan ayakan hingga diperoleh serbuk simplisia. Serbuk simplisia disimpan dalam wadah yang tertutup rapat untuk menghindari dari masuknya debu atau partikel lain.

Ekstraksi

Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode maserasi dengan lama waktu 3 x 24 jam. Simplisia dimasukkan ke dalam maserator sebanyak 370,99 gram, kemudian ditambahkan pelarut etanol 70% (1:10 w/v).

Simplisia direndam di dalam wadah selama 24 jam dan dilakukan penyaringan dengan kertas saring, sebanyak 3 kali. Ekstrak cair dipisahkan dengan menggunakan *waterbath* pada suhu 50° C hingga didapat ekstrak kental dan dihitung rendemen yang diperoleh dengan menggunakan rumus persamaan 1. (Ambaro et al., 2020).

$$\% \text{Rendemen} = \frac{\text{bobot ekstrak (g)}}{\text{bobot simplisia (g)}} \times 100\% \dots \text{persamaan (1)}$$

Skrining fitokimia

Flavonoid

Ekstrak dilarutkan dengan menggunakan pelarut etanol 70%. Sebanyak 2 mL ekstrak daun Bit ke dalam tabung reaksi, dan ditambahkan 0,2 gram logam Mg dan 10 tetes HCl pekat. Terbentuknya warna merah atau jingga, maka sampel positif mengandung adanya senyawa flavonoid.

Alkaloid

Sebanyak 2 mL ekstrak yang telah dilarutkan dengan menggunakan pelarut etanol 70% dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 10 mL kloroform dan 10 tetes amonia. Fraksi kloroform diambil (bagian atas) lalu ditambahkan HCL 2% sebanyak 0,5 mL dan dikocok sampai homogen. Kemudian campuran dibagi menjadi 3 bagian. Tabung reaksi pertama ditambahkan 5 tetes reagen mayer. Tabung kedua ditambahkan 5 tetes reagen dragendroff. Pada uji menggunakan pereaksi dragendroff akan terbentuk endapan

jingga. Hasil positif dari uji menggunakan pereaksi mayer, akan terbentuk endapan putih kekuningan. Tabung reaksi ketiga ditambahkan 5 tetes pereaksi wagner. Reaksi positif ditandai adanya endapan coklat.

Tanin

Dimasukkan 2 mL ekstrak daun Bit ke dalam tabung reaksi, dan ditambahkan 5 tetes FeCl₃. Terbentuknya warna hijau kehitaman, maka sampel positif mengandung senyawa tanin.

Saponin

Sebanyak 2 ml ekstrak daun Bit ditambahkan dengan 5 ml air panas, kemudian didinginkan dan dikocok kuat selama 10 detik. Jika terdapat buih setinggi 1-10 cm yang stabil selama kurang lebih 10 menit, maka ditambahkan 1 tetes HCL 2N, jika buih yang ditimbulkan tidak hilang maka menandakan adanya saponin.

Terpenoid

Sebanyak 2ml ekstrak daun Bit dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan dengan 1ml asam asetat pekat, Setelah itu ditambahkan 1ml H₂SO₄. Warna larutan yang berubah menjadi merah atau jingga menandakan adanya senyawa terpenoid.

Sterilisasi alat

Alat-alat gelas yang akan disterilisasi dicuci dan dikeringkan, Kemudian alat-alat yang bermulut seperti tabung reaksi,

erlenmeyer, botol media, gelas ukur, labu takar, pipet ditutup menggunakan aluminium foil. Kemudian alat-alat gelas dan media disterilisasi dengan autoklaf pada tekanan 1 atm, suhu 121°C selama 15 menit. Setelah disterilisasi dengan autoklaf alat-alat dikeringkan atau disimpan ditempat terbuka untuk menghilangkan uap air yang masih tersisa. Sementara untuk jarum ose dapat disterilkan dengan bunsen (Wulandari et al., 2022).

Sterilisasi ekstrak

Ekstrak etanol 70% daun tanaman Bit dilarutkan menggunakan DMSO. Kemudian disterilisasi dengan menggunakan spuit steril dan filter bakteri (0,2 – 0,45 µm pori), kemudian ekstrak etanol 70% daun tanaman bit yang sudah di sterilisasi di simpan di dalam botol vial (Afriani et al., 2017).

Uji aktivitas antibakteri

Pembuatan media untuk bakteri uji

Media yang digunakan untuk uji bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 adalah *nutrient agar* (NA). *Nutrient agar* ditimbang sebanyak 28 gram, kemudian ditambah dengan aquadest sampai 1000 ml. Selanjutnya larutan dihomogenkan dengan batang pengaduk sambil dipanaskan di atas *hotplate* hingga mendidih. Media yang sudah homogen disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C tekanan 1 atm selama 15 menit kemudian didinginkan sampai mencapai suhu 40-45°C (Ngajow et al., 2013).

Persiapan bakteri uji

Bakteri yang digunakan pada penelitian ini adalah *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027. Penyiapan bakteri uji dilakukan secara aseptis di dalam *Laminar Air Flow* dengan menuangkan media *nutrient agar* (NA) ke dalam tabung reaksi steril kemudian dimiringkan dan dibiarkan memadat. Koloni bakteri diambil dari biakan murni yang tersedia kemudian menggunakan jarum ose digoreskan pada media agar miring dan diinkubasi dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37°C (Hudaya et al., 2014).

Persiapan suspensi bakteri uji

Pembuatan suspensi dilakukan dengan cara mengambil beberapa ose bakteri uji dan dimasukkan secara aseptis ke dalam tabung reaksi yang berisi larutan NaCl 0,9%, lalu dihomogenkan dengan vortex. Kekeruhan suspensi bakteri kemudian disetarakan dengan standar McFarland 3 (10^9 CFU/mL) (Abna et al., 2021). Tingkat kekeruhan diukur dengan cara membandingkan suspensi bakteri yang telah dibuat dengan standar McFarland 3 secara berdampingan. Penilaian kekeruhan yaitu dengan membandingkannya dengan latar belakang kertas putih dengan garis hitam kontras oleh dua pengamat di ruangan yang terang. Apabila suspensi kurang keruh, koloni bakteri bisa ditambahkan ke dalam suspensi sampai tercapai tingkat kekeruhan yang sama diantara dua pengamat (Hau & Rohyati, 2017).

Selanjutnya suspensi bakteri 10^9 CFU/mL diencerkan menjadi 10^6 CFU/mL dengan cara

sebanyak 1 ml suspensi bakteri 10^9 CFU/mL dipipet dan dimasukkan ke dalam tabung yang berisi 9 ml NaCl 0,9% sehingga didapatkan suspensi bakteri 10^8 CFU/mL dan pengenceran dilakukan kembali hingga mencapai 10^6 CFU/mL (Abna et al., 2021).

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun tanaman bit

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi agar menggunakan sumuran dalam media Nutrient Agar (NA) dengan bakteri uji *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027. Suspensi bakteri sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam cawan petri steril kemudian tuangkan 40 ml media NA dan dihomogenkan dengan menggoyangkan cawan petri membentuk angka 8 dan kemudian dibiarkan memadat pada suhu ruang. Kemudian pada permukaan media yang telah memadat dibuat lubang sumuran menggunakan pencadang silinder. Sumuran yang terbentuk diisi dengan ekstrak etanol 70% daun tanaman Bit (*Beta vulgaris* L.) sebanyak 50 μ L dengan konsentrasi 400 μ g/ml, 300 μ g/ml, 200 μ g/ml, 100 μ g/ml, dan 50 μ g/ml. Kontrol positif yang digunakan kloramfenikol dengan konsentrasi 30 μ g/ml sebanyak 50 μ L untuk bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, sedangkan untuk kontrol negatif menggunakan DMSO 5% masing-masing dimasukan ke dalam lubang sumuran yang telah dibuat. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, pengujian dilakukan secara triplo (Muharni et

al., 2017). Setelah di inkubasi, zona bening yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong. Bila diameter zona bening ≤ 5 mm menunjukkan aktivitas antibakteri lemah, diameter 5-10 mm menunjukkan aktivitas antibakteri sedang, diameter 10-20 mm menunjukkan aktivitas antibakteri kuat, dan diameter > 20 mm menunjukkan aktivitas antibakteri sangat kuat (Rahayuningsih et al., 2023).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi tanaman

Sampel yang diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar (Balittri), sampel yang digunakan adalah daun yang dari buah bit yang sudah siap panen atau daun yang sudah berumur 3 bulan. Sampel daun yang sudah diperoleh kemudian di determinasi di Badan Riset Inovasi Nasional (BRIN). Hasil determinasi yang dilakukan di laboratorium Badan Riset Inovasi Nasional (BRIN), sesuai dengan nomor surat yang telah ditetapkan yaitu B1843/I|.6.2/IR.01.02/7/2023 menunjukkan bahwa sampel yang digunakan adalah daun tanaman Bit (*Beta vulgaris* L.) yang berasal dari suku *Amaranthaceae*.

Ekstraksi

Proses ekstraksi dilakukan dengan menggunakan metode maserasi dengan prinsip memisahkan senyawa berdasarkan perbedaan kelarutannya. Proses ekstraksi maserasi yang dilakukan dengan merendam simplisia daun tanaman Bit kedalam pelarut etanol 70%

dengan perbandingan (1:10) selama 3 x 24 jam. Maserasi memiliki keuntungan antara lain yaitu proses pengerjaannya yang mudah dan alat yang digunakan murah, serta tidak melalui proses pemanasan sehingga kemungkinan rusaknya senyawa kimia yang akan diuji dapat diminimalisir (Hasanah & Novian, 2020). Pelarut yang digunakan adalah etanol 70%. Pemilihan pelarut etanol 70% karena bersifat polar dan dapat menarik senyawa aktif yang lebih banyak dibandingkan dengan jenis pelarut organik lainnya serta etanol juga memiliki titik didih yang rendah yaitu 79°C sehingga memerlukan panas yang lebih sedikit untuk proses pematannya. Pelarut etanol memiliki sifat untuk menembus bahan dinding sel sehingga mampu melakukan difusi sel dan menarik senyawa bioaktif lebih cepat. Selain itu, senyawa metabolit sekunder yang ingin ditarik seperti flavonoid, saponin, alkaloid dan tanin bersifat polar sehingga harus dilarutkan dalam pelarut yang bersifat polar (Yulianti et al., 2020).

Dari proses ekstraksi diperoleh ekstrak cair sebanyak 78,70 gram. Kemudian ekstrak cair ini dipekatkan dengan *waterbath* pada suhu 50°C. Hasil dari ekstraksi dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil Ekstraksi Daun Bit

No.	Berat Simplisia Kering (gram)	Berat Ekstrak Kental (gram)	Rendemen (%)
1	370,99	78,70	21,2%

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia pada ekstrak etanol 70% daun tanaman bit dilakukan untuk mengetahui atau mengidentifikasi kandungan senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam ekstrak daun tanaman Bit. Hasil pengujian skrining fitokimia terdapat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia

Uji	Reagen	Hasil Uji
Flavonoid	Mg + HCl Pekat	+
	<i>Dragendroff</i>	+
Alkaloid	<i>Mayer</i>	+
	<i>Wagner</i>	+
Saponin	HCl 2N	+
Tanin	FeCl ₃	+
Terpenoid	Asam asetat pekat + H ₂ SO ₄	+

Pada uji flavonoid dalam penelitian ini didapat adanya perubahan warna menjadi jingga. Berdasarkan penelitian (Julianto, 2019) uji fitokimia pada flavonoid dinyatakan positif jika adanya perubahan warna menjadi merah atau jingga. Jadi, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol 70% daun tanaman bit positif mengandung senyawa flavonoid. Flavonoid dapat berfungsi sebagai antibakteri dengan mekanisme kerja menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel, dan menghambat metabolisme energi. Dalam menghambat sintesis asam nukleat, cincin A dan B senyawa flavonoid berperan penting dalam proses ikatan hidrogen yakni dengan menumpuk basa asam nukleat sehingga menghambat pembentukan DNA dan RNA. Hasil interaksi flavonoid juga akan

menyebabkan kerusakan permeabilitas dinding sel (Nomer et al., 2019).

Pada uji alkaloid dalam penelitian ini, didapatkan hasil terbentuknya endapan berwarna jingga setelah ditambahkan reagen dragendorff, terbentuk endapan putih kekuningan setelah di tambahkan reagen mayer dan terbentuknya endapan coklat setelah ditambahkan reagen wagner. Berdasarkan penelitian (Prayoga et al., 2019). Uji alkaloid dinyatakan positif jika terdapat endapan merah atau jingga jika ditambah reagen dragendorff, adanya endapan berwarna putih hingga kuning setelah ditambahkan reagen mayer dan terbentuk endapan coklat jika ditambah reagen wagner. Alkaloid bekerja sebagai antibakteri dengan cara menghambat komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga dinding sel tidak terbentuk utuh. Hal tersebut menyebabkan kematian sel bakteri (Pertiwi et al., 2022).

Pada uji saponin dalam penelitian ini, setelah penambahan HCl 2N masih terlihat adanya buih. Berdasarkan penelitian (Septiani, 2021) uji saponin dinyatakan positif jika terdapat buih. Senyawa saponin memiliki aktivitas antibakteri karena dapat menyebabkan terjadinya penurunan tegangan permukaan dinding sel bakteri yang akan mengakibatkan ketidakstabilan membran sel sehingga menghambat aktivitas enzim dalam transport ion yang berperan dalam kehidupan bakteri. Tegangan permukaan dinding sel bakteri yang menurun juga dapat menyebabkan kebocoran sel sehingga senyawa

intasel keluar. Hal ini menyebabkan pertumbuhan sel bakteri terhambat (Asy'syifa dkk., 2020).

Pada uji tannin dalam penelitian ini didapat adanya perubahan warna menjadi hijau kehitaman. Berdasarkan penelitian (Makalalag et al., 2019), uji fitokimia tanin dinyatakan positif jika adanya perubahan warna menjadi hijau kehitaman atau biru kehitaman. Dari hasil penelitian yang didapat dan dibandingkan dengan panalitian sebelumnya, ekstrak etanol 70% daun tanaman bit dapat dinyatakan positif mengandung tanin. Aktivitas tanin sebagai antibakteri yaitu dengan mengkerutkan dinding sel atau membran sel bakteri sehingga mengganggu permeabilitas sel bakteri yang akan mengakibatkan sel tidak dapat melakukan aktivitas sehingga pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati (Asy'syifa dkk., 2020).

Hasil uji terpenoid dalam penelitian ini menunjukkan adanya perubahan warna menjadi merah. Berdasarkan penelitian (Septiani, 2021), uji terpenoid dinyatakan positif jika ada perubahan warna menjadi merah. Dari hasil yang didapat, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol 70% daun tanaman bit positif mengandung terpenoid. Terpenoid dapat bertindak sebagai antibakteri dengan cara bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri yang akan

mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (Asy'syifa dkk., 2020).

Uji aktivitas antibakteri

Metode sumuran dipilih untuk penelitian ini karena dapat digunakan untuk melihat sensitivitas mikroba terhadap antimikroba pada konsentrasi tertentu. Menurut penelitian (Haryati et al., 2017) menunjukkan bahwa metode sumuran lebih bagus dan lebih luas diameter zona hambatnya. Hal ini diakibatkan karena pada metode sumuran terjadi proses osmolaritas dari konsentrasi ekstrak yang tinggi. Metode sumuran setiap lubangnya diisi dengan sampel sehingga osmolaritas terjadi lebih menyeluruh dan lebih homogen sehingga lebih kuat untuk menghambat pertumbuhan mikroba. Penggunaan suhu 37°C untuk inkubasi dikarenakan suhu tersebut merupakan suhu yang ideal untuk tumbuhnya bakteri patogen (Jawetz, Melnick, 2017).

Pemilihan DMSO 5% sebagai pelarut bagi ekstrak dalam penelitian ini dikarenakan DMSO 5% tidak memiliki kemampuan dalam menghambat bakteri dan mampu melarutkan semua senyawa yang bersifat polar, nonpolar dan semipolar sehingga pelarut ini merupakan pelarut ekstrak yang baik karena tidak memberikan pengaruh dalam aktivitas penghambatan bakteri (Rizki et al., 2021). Setelah dilarutkan dalam DMSO 5% kemudian sampel disterilisasi dengan cara disaring menggunakan *syringe filter* dengan ukuran 0,2

– 0,45 µm pori untuk mencegah adanya kontaminasi dari mikroba (Afriani et al., 2017).

Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Pseudomonas aeruginosa* dengan ATCC 9027. Alasan digunakan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 sebagai bakteri uji karena *Pseudomonas* adalah bakteri patogen dan sudah dinyatakan resisten terhadap sejumlah antibiotik sehingga diperlukan pencarian alternatif antibakterinya (Radji et al., 2011).

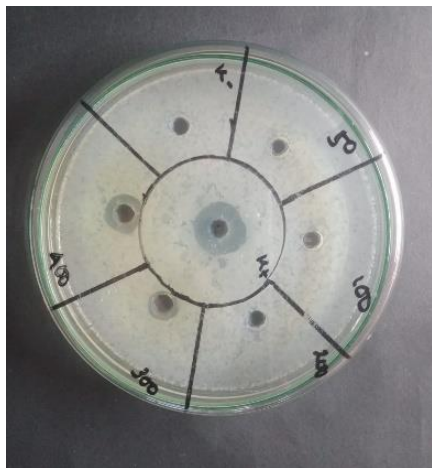
Hasil uji aktivitas antibakteri dalam penelitian ini terlihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil Zona Hambat Ekstrak Daun Bit

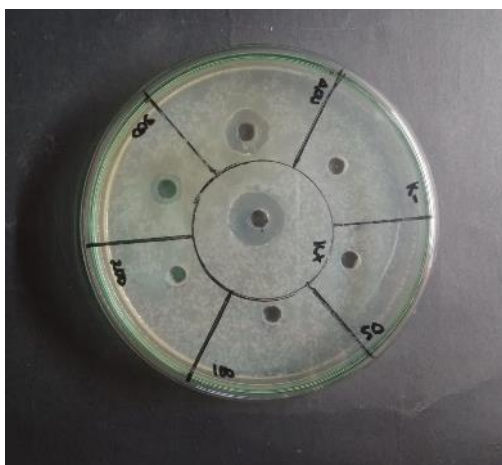
Konsentrasi	Zona hambat (mm)			
	I	II	III	Rata-rata
Kontrol +	5,725	5,65	5,65	5,675
Kontrol -	-	-	-	-
Ekstrak 400 µg/ml	4,275	4,125	3,95	4,12
Ekstrak 300 µg/ml	3,725	3,6	3,6	3,641
Ekstrak 200 µg/ml	-	-	-	-
Ekstrak 100 µg/ml	-	-	-	-
Ekstrak 50 µg/ml	-	-	-	-

Penelitian ini memperlihatkan hasil bahwa ekstrak etanol daun bit pada konsentrasi 400 µg/ml dan 300 µg/ml mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027. Hal ini disebabkan adanya senyawa antimikroba yang terkandung dalam sampel daun bit yaitu flavonoid, tanin, saponin, terpenoid dan alkaloid (Maraie et al., 2014).

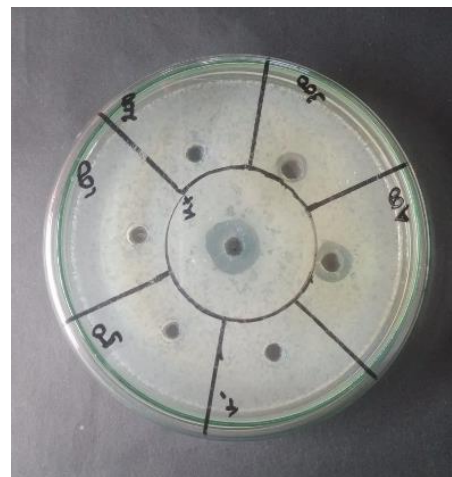
Hasil zona hambat yang terdapat pada kontrol positif berupa kloramfenikol dengan konsentrasi 30 µg/ml sebesar 5,675mm yang menandakan bahwa kontrol positif menunjukkan daya hambat sedang. Daya hambat paling besar terdapat pada sampel dengan konsentrasi 400 µg/ml yang menghasilkan zona hambat sebesar 4,12mm. Gambar 1-3 menunjukkan zona hambat yang terbentuk dalam setiap ulangan di dalam penelitian ini.



Gambar 1. Diameter zona hambat yang terbentuk dalam ulangan 1



Gambar 2. Diameter zona hambat yang terbentuk dalam ulangan 2



Gambar 3. Diameter zona hambat yang terbentuk dalam ulangan 3

Berdasarkan penelitian (Yani et al., 2020) uji aktivitas antibakteri termasuk dalam kategori lemah jika diameter zona hambatnya tidak sampai 5 mm. Kategori kekuatan aktivitas antibakteri dari ekstrak yang diujikan berdasarkan diameter zona hambat yang terbentuk dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil Kekuatan Daya Hambat

Konsentrasi	Rata-Rata Diameter Zona Hambat (Mm)	Kekuatan Ekstrak
Kontrol +	5,675	Aktivitas sedang
Kontrol -	-	Tidak ada aktivitas
Ekstrak 400 µg/ml	4,12	Aktivitas lemah
Ekstrak 300 µg/ml	3,641	Aktivitas lemah
Ekstrak 200 µg/ml	-	Tidak ada aktivitas
Ekstrak 100 µg/ml	-	Tidak ada aktivitas
Ekstrak 50 µg/ml	-	Tidak ada aktivitas

Lemahnya daya hambat dari ekstrak etanol 70% daun tanaman Bit adalah karena *P. aeruginosa* memiliki daya tahan yang kuat terhadap lingkungan fisik dan bahan kimia

daripada bakteri lain. kecenderungan berkolonisasi dalam bentuk biofilm membuat bakteri *P. aeruginosa* tahan terhadap antibiotik atau bahan antibakteri lain. Kemampuan suatu bahan antimikroba dalam meniadakan kemampuan hidup mikroorganisme tergantung pada konsentrasi bahan mikroba itu, semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun tanaman bit yang diberikan, maka semakin besar pula diameter zona hambat yang terbentuk di sekeliling sumur. selain faktor konsentrasi, jenis bahan antimikroba juga menentukan kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri (Mpila et al., 2012). Lemahnya daya hambat dari ekstrak etanol 70% daun tanaman bit adalah karena ekstrak yang digunakan adalah ekstrak yang belum difraksinasi sehingga aktivitas antibakteri terhambat oleh pengotor yang terdapat didalam ekstrak (Edison et al., 2020).

KESIMPULAN

Ekstrak etanol 70% daun tanaman Bit (*Beta vulgaris* L.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027. Konsentrasi terbaik ekstrak etanol 70% daun tanaman Bit (*Beta vulgaris* L.) yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 berada pada konsentrasi 400 µg/ml dengan zona hambat sebesar 4,12 mm dengan kategori kekuatan aktivitas lemah.

DAFTAR PUSTAKA

Abna, I. M., Sylvia, B., & Amir, M. (2021).

Isolasi Dan Analisis Antimikroba Kapang Endofit Dari Tanaman Nangka (*Artocarpus Heterophyllus* L.). *Jurnal Katalisator*, 6(2), 146–163.

Afriani, A., Hasanuddin, & Lisnawita. (2017). Pengaruh Metode Sterilisasi Dan Konsentrasi. *Jurnal Pertanian Tropik*, 4(1), 20–39.

Ambaro, F. Y., Darusman, F., & Dewi, M. L. (2020). Prosedur Ekstraksi Maserasi Daun Bidara Arab (*Ziziphus spina-christi* L.) Menggunakan Pelarut Etanol dan Air. *Prosiding Farmasi*, 6(2), 890–893. <http://dx.doi.org/10.29313/v6i2.24050>

Asy'syifa dkk. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Bidara Arab (*Ziziphus spina-christi* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Prosiding Farmasi*, 6(2), 616–620. <http://karyailmiah.unisba.ac.id/index.php/farmasi/article/view/23451>

Chakrapani, P., Nirmala, B. R., B., C. S. S., Arun, J. B., Prem, K., Venkatesh, K., & Anupalli, R. R. (2014). Comparative studies on antibacterial activity of Patchouli [*Pogostemon cablin* (Blanco) Benth] and Geranium (*Pelargonium graveolens*) aromatic medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*, 13(23), 2379–2384. <https://doi.org/10.5897/ajb12.1369>

Desseva, I., Stoyanova, M., Petkova, N., & Mihaylova, D. (2020). Red beetroot juice phytochemicals bioaccessibility: An in vitro approach. *Polish Journal of Food*

- and Nutrition Sciences, 70(1), 45–53.
<https://doi.org/10.31883/pjfn/116590>
- Edison, E., Diharmi, A., Ariani, N. M., & Ilza, M. (2020). Komponen bioaktif dan aktivitas antioksidan ekstrak kasar *Sargassum plagyophyllum*. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 23(1), 58–66.
<https://doi.org/10.17844/jphpi.v23i1.30725>
- Egra S, Mardiana, Kurnia A, Kartina, Murtilaksono A, H. K. (2017). Uji Potensi Ekstrak Daun Tanaman Ketepeng (*Cassia alata* L.) Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Ralstonia Solanacearum* dan *Streptococcus sobrinus*. 1(September), 25–29.
<https://doi.org/10.13057/biodiv/d1601xx>
- Flood, G. (2021). Udayana. *The Encyclopedia of Philosophy of Religion*, 8(4), 1–3.
<https://doi.org/10.1002/9781119009924.eopr0398>
- Haryati, S. D. H., Darmawati, S., & Wilson, W. (2017). Perbandingan Efek Ekstrak Buah Alpukat (*Persea americana* Mill) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan Metode Disk dan Sumuran. *Prosiding Seminar Nasional Publikasi Hasil-Hasil Penelitian Dan Pengabdian Masyarakat, Universitas Muhammadiyah Semarang, September*, 348–352.
<https://jurnal.unimus.ac.id/index.php/psn12012010/article/view/2886>
- Hasanah, N., & Novian, D. R. (2020). Analisis Ekstrak Etanol Buah Labu Kuning (*Cucurbita Moschata* D.). 9(1), 54–59.
- Hau, E. E. R., & Rohyati, E. (2017). Aktivitas Antibakteri Nira Lontar Terfermentasi dengan Variasi Lama Waktu Fermentasi Terhadap Bakteri Gram Positif (*Staphylococcus aureus*) dan Gram Negatif (*Escherichia coli*). *Jurnal Kajian Veteriner*, 5(2), 91–98.
- Hudaya, A., Radiastuti, N., Sukandar, D., & Djajanegara, I. (2014). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Air Bunga Kecombrang terhadap Bakteri *E. coli* dan *S. aureus* sebagai Bahan Pangan Fungsional. *Jurnal Biologi*, 7(1), 9–15.
- Isir, M., Pengetahuan, F., Jurnal, J., Kesehatan, I., & Husada, S. (2021). *Pendahuluan*. 10, 300–307.
- Jawetz, Melnick, & A. (2017). Medical Microbiology. In *Molecular Diagnostics: Part 2: Clinical, Veterinary, Agrobotanical and Food Safety Applications* (26th ed.).
https://doi.org/10.1007/978-981-10-4511-0_4
- Kemenkes RI. (2015). The Biodiversity of Flora in Indonesia. *Journal of Natural Resources and Environmental Management*, 5(2), 187–198.
<https://doi.org/10.19081/jpsl.5.2.187>
- Makalalag, A. kurniawan, Sangi, M., & Kumaunang, M. (2019). Skrining Fitokonia dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol dari Daun Turi (*Sesbania grandiflora* Pers). *Chemistry Progress*,

- 8(1), 36–46.
- Maraie, N. K., Abdul-Jalil, T. Z., Alhamdany, A. T., & Janabi, H. A. (2014). Phytochemical study of the Iraqi *Beta vulgaris* leaves and its clinical applications for the treatment of different dermatological diseases. *World J Pharm Pharm Sci*, 3(8), 5–19.
- Mpila, D. ., Fatimawali, & Wiyono, W. I. (2012). Uji Aktivitas Antibakteri Daun Mayana (*Coleus atropurpureus* [L] Benth) Terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* secara in-vitro., 13.
- Muharni, Fitriya, & Farida, S. (2017). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Tanaman Obat Suku Musi di Kabupaten Musi Banyuasin , Sumatera Selatan. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 7(2), 127–135.
- Ngajow, M., Abidjulu, J., & Kamu, V. S. (2013). Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara In vitro. *Jurnal MIPA*, 2(2), 128. <https://doi.org/10.35799/jm.2.2.2013.312>
- 1
- Nomer, N. M. G. R., Duniaji, A. S., & Nocianitri, K. A. (2019). Kandungan Senyawa Flavonoid dan Antosianin Ekstrak Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L.) Serta Aktivitas Antibakteri Terhadap *Vibrio cholerae*. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 8(2), 216. <https://doi.org/10.24843/itepa.2019.v08.i02.p12>
- Omogbai, B. A., & Omoregie, I. A. (2019). Chemical Analysis and Biological Activity of Natural Preservative from Beet root (*Beta vulgaris*) Against Foodborne Pathogens and Spoilage Organisms. *African Scientist*, 17(2), 135–146. <http://ojs.klobexjournals.com/index.php/afs/article/view/206>
- Pertiwi, F. D., Rezaldi, F., & Puspitasari, R. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *Biosaintropis (Bioscience-Tropic)*, 7(2), 57–68. <https://doi.org/10.33474/e-jbst.v7i2.471>
- Prayoga, D. G. E., Nocianitri, K. A., & Puspawati, N. N. (2019). Identifikasi Senyawa Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kasar Daun Pepe (*Gymnema reticulatum* Br.) Pada Berbagai Jenis Pelarut. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi*, 8(2), 111–121.
- Prima, R., Handayani, D., & Yumna, H. (2023). Kultur Dan Sensitivitas Antibiotik Pus Di UPTD Laboratorium Kesehatan Sumatera Barat. *Prosiding SEMNAS BIO 2021*, 889–890.
- Radji, M., Fauziah, S., & Aribinuko, N. (2011). Antibiotic sensitivity pattern of bacterial pathogens in the intensive care unit of Fatmawati Hospital, Indonesia. *Asian Pacific Journal of Tropical*

- Biomedicine*, 1(1), 39–42.
[https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(11\)60065-8](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(11)60065-8)
- Rahayuningsih, S. R., Patimah, S. S., Mayanti, T., & Rustama, M. M. (2023). Aktivitas Antibakteri Ekstrak n-Heksana Daun Mangrove (*Rhizospora stylosa* Griff) Terhadap Bakteri Patogen Pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Marine Research*, 12(1), 1–6.
<https://doi.org/10.14710/jmr.v12i1.35657>
- Rizki, S. A., Latief, M., Fitriyaningsih, & Rahman, H. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak N-heksan, Etil Asetat, dan Etanol Daun Durian (*Durio zibethinus* Linn.) Terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*. *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 1(8).
<https://doi.org/10.25026/jsk.v1i8.62>
- Sanjaya, I. A. N. A. P., Fatmawati, N. N. D., & Hendrayana, M. A. (2019). Prevalensi Isolat Klinis *Pseudomonas aeruginosa* yang Memiliki Gen LasI Dan LasR di Rumah Sakit Umum Pusat Sanglah Denpasar Tahun 2013 – 2016. *E-Jurnal Medika*, 8(6), 1–7.
<http://www.tjyybjb.ac.cn/CN/article/downloadArticleFile.do?attachType=PDF&iid=9987>
- Septiani, S. (2021). The Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Senggani (*Melastoma malabathricum* L.) dan Ekstrak Buah Bit (*Beta vulgaris* L.). *KATALIS: Jurnal Penelitian Kimia Dan Pendidikan Kimia*, 3(2), 35–41.
<https://doi.org/10.33059/katalis.v3i2.3108>
- Steenis. (2005). *Beta vulgaris* L. PT Gramedia.
- Uddin, T. M., Chakraborty, A. J., Khusro, A., Zidan, B. R. M., Mitra, S., Emran, T. Bin, Dhama, K., Ripon, M. K. H., Gajdács, M., Sahibzada, M. U. K., Hossain, M. J., & Koirala, N. (2021). Antibiotic resistance in microbes: History, mechanisms, therapeutic strategies and future prospects. *Journal of Infection and Public Health*, 14(12), 1750–1766.
<https://doi.org/10.1016/j.jiph.2021.10.020>
- Winda, K., Lukita, S., Huy, N. Q., Anh, T. P. N., Tran, Trang, N. T., Mellisa, S., & Florenly. (2021). Perbandingan Efektivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polythizus*) dan Bit Merah (*Beta vulgaris* L.) Terhadap *Staphylococcus Aureus* (IN VITRO). *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kesehatan Masyarakat*, 6(2), 56–67.
- Wulandari, S., Nisa, Y. S., Taryono, T., Indarti, S., & Sayekti, R. S. (2022). Sterilisasi Peralatan dan Media Kultur Jaringan. *Agrotechnology Innovation (Agrinova)*, 4(2), 16.
<https://doi.org/10.22146/a.77010>
- Yani, I. S., Muthmainah, N., & Yasmina, A. (2020). Perbandingan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Tanjung dan Daun Jambu Biji Terhadap

Staphylococcus aureus In Vitro.
Homeostasis, 3(2), 277–282.
<http://ppjp.ulm.ac.id/journals/index.php/hms/article/view/1999>

Yulianti, W., Ayuningtiyas, G., Martini, R., &

Resmeiliana, I. (2020). Pengaruh Metode Ekstraksi dan Polaritas Pelarut Terhadap Kadar Fenolik Total Daun Kersen (*Muntingia calabura L.*). 10(2), 41–49.