

Analisa Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Metanol Buah Andaliman terhadap *Pseudomonas Aeruginosa* Secara In Vitro

I Nyoman Ehrich Lister¹, Michael Andreas², Natalia Limbong³, Shivana Latitia⁴

Fakultas Kedokteran, Kedokteran Gigi dan Kesehatan Masyarakat,

Universitas Prima Indonesia Medan^{1,2,3,4}

Email : yysunpri@gmail.com¹, michaelandreas432@gmail.com², natalialimbong24@gmail.com³,
laetitiashiv@gmail.com⁴

Abstrak

Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC) tergolong rempah-rempah dengan ciri khas tersendiri, terutama tumbuh di Sumatera Utara. Penelitian ini diklasifikasikan sebagai penelitian eksperimental dengan menerapkan desain kelompok kontrol post-test-only in vitro. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menganalisis efek antibakteri ekstrak metanol buah Andaliman terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. Aktivitas antibakteri ekstrak metanol buah andaliman tidak hanya disebabkan oleh senyawa aktif yang dikandungnya, tetapi dapat juga disebabkan oleh jenis bakterinya. *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri gram negatif yang lebih resisten terhadap senyawa antimikroba.

Kata Kunci: *Analisa, Aktivitas Antibakteri, Buah Andaliman.*

Abstract

Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC) is a spice with its own characteristics, especially grown in North Sumatra. This study was classified as an experimental study by applying a post-test-only in vitro control group design. The purpose of this study was to analyze the antibacterial effect of Andaliman fruit methanol extract against *Pseudomonas aeruginosa*. The antibacterial activity of andaliman fruit methanol extract is not only caused by the active compounds it contains, but can also be caused by the type of bacteria. *Pseudomonas aeruginosa* is a gram-negative bacteria that is more resistant to antimicrobial compounds.

Keywords: *Analysis, Antibacterial Activity, Andaliman Fruit*

PENDAHULUAN

Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC) digolongkan sebagai rempah yang mempunyai keistimewaan atau kekhasan tersendiri dan kebanyakan tumbuh di Sumatera Utara. Klasifikasi tanaman ini disebutkan di bawah ini:

Divisi : *Spermatophyta*

Subdivisi : *Angiospermae*

Kelas : *Dicotyledonae*

Ordo : *Rutales*

Famili : *Rutaceae*

Genus : *Zanthoxylum*

Species : *Zanthoxylum acanthopodium* DC

Pada masyarakat khususnya masyarakat suku Batak, andaliman biasa digunakan untuk memberi rasa nikmat pada makanan, rasa pedas dan memberi aroma khas pada makanan. Kandungan yang terdapat pada buah andaliman sendiri berupa flavonoid, alkaloid, terpenoid dan steroid, di mana senyawa aktif tersebut bisa didapatkan lewat ekstraksi. Kandungan flavonoid dan terpenoid yang ada pada buah andaliman dapat dimanfaatkan sebagai antimikroba.

Salah satu penyebab masalah kesehatan yang utama adalah penyakit infeksi, yang dimana WHO (*World Health Organization*) mengungkapkan, penyakit infeksi menyebabkan sekitar 83% kematian pada anak-anak. Dan bakteri merupakan bagian dari pemicu munculnya infeksi yang timbul. Dijumpai sejumlah infeksi yang penyebabnya adalah bakteri, misalnya infeksi pada saluran pernafasan, saluran pencernaan, infeksi pada luka, folikel rambut dan pada kulit, dimana bakteri *Pseudomonas aeruginosa* adalah bakteri yang dapat ditemukan di luka, kulit dan selaput lendir.

Infeksi bakteri yang menyerang kulit dikategorikan menjadi sejumlah tipe, di antaranya yaitu infeksi primer (pioderma), infeksi sekunder, manifestasi kulit yang ditimbulkan oleh penyakit bakteri sistemik, dan kondisi reaktif yang dipicu oleh infeksi pada lokasi yang tergolong jauh. Pemicu yang melatari munculnya infeksi primer ialah serangan spesies tunggal bakteri patogen yang menginvasi kulit normal. Contoh yang merepresentasikan infeksi kulit primer di antaranya ialah impetigo, erysipelas, dan furunkulosis. Kebalikannya, infeksi sekunder kerap muncul atau menyerang lokasi yang sudah terkena kerusakan kulit. Kendatipun bakteri yang muncul bukan menjadi pemicu kelainan pada kulit yang mendasar, tetap saja proliferasi bakteri dan invasi yang muncul berikutnya pada areal sekitarnya akan memperparah dan memperlama masa timbulnya penyakit. Apabila dijumpai rusaknya integritas kulit ataupun jika teridentifikasi berubahnya keadaan imun lokal yang terpicu oleh penyakit kulit primer dan disusul dengan munculnya infeksi bakteri, maka hal ini merupakan pemicu timbulnya infeksi sekunder. Lain halnya dengan infeksi primer, infeksi sekunder memperlihatkan sejumlah organisme pada kultur dan juga kerap dijumpai adanya kesulitan atau hambatan dalam penentuan bakteri manakah yang menjadi pemicu utamanya.

Ada banyak penyakit infeksi kulit yang pemicunya atau penyebabnya bakteri *Staphylococcus epidermis*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa* dan semacamnya bisa disembuhkan lewat penggunaan antibiotik. Lantaran antibiotik tersebut dinilai dapat difungsikan dalam penanganan penyakit infeksi, akhirnya lambat laun dipergunakan secara eksekif/berlebih, di mana hal ini berujung pada perkembangan bakteri yang memiliki resistansi pada antibiotik tersebut, dan hal ini dapat menjadikan nyawa seseorang terancam dikarenakan infeksi yang muncul akan sukar disembuhkan, serta hal tersebut nantinya berdampak pada meningkatnya biaya yang dibutuhkan dalam pelayanan kesehatan. Maka dari itu diperlukan pengobatan alternatif yang memungkinkan efek yang sama dengan antibiotik. Salah satu zat alami yang memiliki potensi antimikroba adalah Andaliman, di mana buah yang dihasilkan tanaman ini bisa dipergunakan untuk bumbu memasak, serta kulit kayunya, akarnya, ataupun daun yang dihasilkannya pun secara konvensional bisa diambil manfaatnya untuk mengobati sakit perut ataupun gigi, batuk, reumatik, dan nyeri yang timbul pada pinggang. Andaliman pun mempunyai sejumlah aktivitas biologis, di antaranya ialah aktivitas larvasida, antiinflamasi, analgesik, antimikroba, antioksidan, dan antijamur (Negi et al., 2011). Hal tersebut akhirnya memunculkan peluang pada Andaliman untuk difungsikan sebagai bahan baku senyawa antioksidan dan antimikroba yang dipergunakan di industri yang berkiprah di bidang makanan ataupun farmasi. Sejumlah senyawa yang berhasil teridentifikasi dari buah ini di antaranya ialah alkaloid, terpenoid, dan flavonoid. Untuk itu, Andaliman berpotensi digunakan sebagai salah satu senyawa penghambat pertumbuhan bakteri patogen, seperti *Pseudomonas aeruginosa*.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari ekstrak metanol buah andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* secara *in vitro*. Selain itu juga untuk mengetahui kandungan fitokimia dari ekstrak metanol buah andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC). Serta untuk mengetahui konsentrasi yang efektif dari ekstrak metanol buah andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC) sebagai antibakteri pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

Manfaat yang didapatkan dari hasil penelitian ini nantinya diharapkan mampu menyumbang manfaat dalam pengembangan kemampuan di ranah penelitian dan menjadi pengasah dalam mengoptimalkan kemampuan terkait pengadaan penelitian, serta menjadi penambah ilmu yang didapati dari penelitian yang dijalankan.

Selain itu, hasil yang didapatkan pada penelitian ini juga diharapkan mampu menyuguhkan informasi bagi masyarakat, yaitu perihal kemanfaatan yang mampu disumbangkan oleh antibakteri dari buah andaliman, terutama terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Serta harapannya penelitian ini dapat dipergunakan sebagai rujukan bagi penelitian yang akan dijalankan di kemudian hari, terkhusus penelitian yang berkenaan dengan ekstrak buah andaliman.

Buah Andaliman

Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC) merupakan sebuah tanaman yang kerap ditemukan di Sumatra Utara. Andaliman telah dimanfaatkan masyarakat suku Batak dalam berbagai masakan daerah suku tersebut. Andaliman memiliki aroma yang khas dan menimbulkan sensasi kesemutan pada lidah (Wijaya et al., 2019).

Andaliman dikategorikan sebagai tanaman semak belukar, yang ukuran pohonnya terbilang kecil dan tumbuh hingga 5 meter. Daun pohon Andaliman bercabang majemuk, daunnya memencar, rangkanya menyerupai sirip, daun gasal yang diproduksinya mempunyai ukuran kisaran 5-20 cm dan lebarnya berkisaran 3-15 cm, serta memuat kelenjar minyak. Bagian permukaan daunnya berwarna kehijauan atau tampak pucat, sementara daunnya yang masih tergolong muda mempunyai permukaan atas yang warnanya hijau dan sisi permukaan bawahnya menampakkan warna kemerahan (Muzafri, Julianti dan Rusmarilin, 2018). Bunganya majemuk berbatas, anak payung menggarpu majemuk dan ukurannya kecil, dasarnya membuka rata, atau bentuknya menyerupai kerucut, serta 5-7 kelopak dengan warna kuning pucat (Sinaga et al., 2016).

Taksonomi

Klasifikasi Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC) di antaranya yaitu:

Kingdom : *Plantae*
Divisio : *Spermatophyta*
Kelas : *Dicotyledoneae*
Ordo : *Rutales*
Famili : *Rutaceae*
Genus : *Zanthoxylum*
Spesies : *Zanthoxylum acanthopodium* DC (Sriwichai et al., 2019)

Kandungan dan Manfaat

Andaliman memiliki komponen alkaloid yang penting antara lain isoquinolines (benzophenanthridine, benzylisoquinoline, aporphine, protoberberine, berberine), dan quinolines (fluoroquinolones, pyrano quinolines) yang memiliki efek antioksidan dan antiinflamasi. Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa buah andaliman mengandung alkaloid dan asam lemak tak jenuh, juga terpenoid yang di dalamnya termuat efek antioksidan. Alkaloid yang terdapat pada andaliman bekerja untuk melindungi membran lemak seluler dari sel dari ancaman radikal bebas (Rosidah et al., 2018).

Berbagai penelitian telah dilakukan untuk mengeksplorasi berbagai efek farmakologis dari buah andaliman seperti antioksidan, antiinflamasi, dan antimikroba. Hal tersebut ditunjang atau searah dengan hasil yang didapatkan dari riset yang dilangsungkan oleh Winarti et al. (2018) yang menyebutkan bahwa ekstrak etil asetat dari buah Andaliman memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi dengan nilai IC50 66.91 BPJ, aktivitas antioksidan pada ekstrak etil asetat ini dikarenakan keberadaan senyawa 2-metoksi-4-vinil fenol (Winarti, Simanjuntak dan Syahidin, 2018) . Penelitian lain yang mengeksplor aktivitas antiinflamasi dari buah andaliman adalah hasil riset yang dijalankan Yanti et al. (2011), di mana penelitiannya mengindikasikan ekstrak etanol buah andaliman dapat secara signifikan menghambat ekspresi dari beberapa jenis biomarker inflamasi pada tingkat sintesis protein (TNF- α , protein COX-2, dan MMP-9) dan gen (TNF- α , IL-6, iNOS, COX-2, dan MMP-9) pada makrofag yang diinduksi dengan lipopolisakarida secara in vitro (Yanti et al., 2011). Serta berbagai penelitian antimikroba yang dilakukan secara in vitro terhadap berbagai bakteri patogen seperti *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Bacillus stearothermophilus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio cholera*, dan *Salmonella typhimurium* yang terbukti dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen tersebut secara signifikan (Adolf J. N. Parhusip, 2006; Asbur, Y., 2018; Muzafri, 2019; Sitanggang, Duniaji dan Pratiwi, 2019).

Dari analisis terhadap ekstrak minyak andaliman, ditemukan 29 komponen kimiawi seperti geranyl acetate, citronella, β -citronelol, nerol, limonene, geraniol, caryophyllene, citronellyl acetate, hexane, α -pinene, sopollegol, α -phellandrene, neryl acetate, germacrene, aromadendrene, linalool, limonene, α -terpineol, carvone, phenol hydroquinones, flavonoids, steroid/triterpenoids, tannins, glikosida, minyak volatil, alkaloid, coumarin, lignan, amides, dan terpenes (Moektiwardoyo, Muchtaridi dan Halimah, 2014; Rosidah et al., 2018).

Aktivitas biologi lain dari genus *Zanthoxylum* adalah sebagai analgetik, antinosiseptik, antibiotik, anti-inflamasi, hepatoprotektor, antiplasmodial, antiproliferatif, antihelmintik, antivirus, antifungal dan imunostimulan (Purba dan Sinaga, 2017). Andaliman juga berkhasiat sebagai pengawet pada masakan (Meutia et al., 2015; Purba dan Sinaga, 2017).

Pseudomonas Aeruginosa

Pseudomonas aeruginosa adalah bakteri gram negatif, aerobik, tidak membentuk spora batang yang mampu menyebabkan berbagai infeksi pada host imunokompeten dan immunocompromised. Predileksinya menyebabkan infeksi di antara pejamu yang mengalami gangguan kekebalan, keserbagunaan yang ekstrem, resistensi antibiotik, dan berbagai pertahanan dinamis menjadikannya organisme yang sangat menantang untuk diobati. *Pseudomonas aeruginosa* banyak ditemukan di lingkungan, terutama di air tawar. *Pseudomonas aeruginosa* dapat menyebabkan berbagai infeksi seperti folikulitis, luka tusukan yang mengarah ke osteomielitis, pneumonia, otitis eksterna, dan lain-lain. (Mina et al., 2022)



Gambar 1. *Escherichia coli*

Taksonomi *Pseudomonas aeruginosa* disebutkan di bawah ini:

Kingdom	: <i>Bacteria</i>
Filum	: <i>Proteobacteria</i>
Kelas	: <i>Gamma Proteobacteria</i>
Ordo	: <i>Pseudomonadales</i>
Family	: <i>Pseudomonadaceae</i>
Genus	: <i>Pseudomonas</i>
Species	: <i>Pseudomonas aeruginosa</i>

METODE

Metode Ekstraksi

Penelitian tentang tanaman obat dimulai dengan pra-ekstraksi dan prosedur ekstraksi, yang merupakan langkah penting dalam pengolahan konstituen bioaktif dari bahan tanaman. Metode tradisional seperti maserasi dan ekstraksi *Soxhlet* biasanya digunakan pada pengaturan penelitian kecil atau di tingkat *Small Manufacturing Enterprise* (SME). Kemajuan signifikan telah dibuat dalam pengolahan tanaman obat seperti metode ekstraksi modern; *microwave-assisted* (MAE), ekstraksi *ultrasound-assisted* (UAE) dan ekstraksi cairan superkritis (SFE), di mana kemajuan ini bertujuan untuk meningkatkan hasil dengan biaya lebih rendah. Selain itu, modifikasi pada metode terus dikembangkan. Dengan berbagai metode yang ada, pemilihan metode ekstraksi yang tepat membutuhkan evaluasi yang sangat teliti (Azwanida, 2015).

Prinsip utama yang sepatutnya diperhatikan dan dijalankan ialah melakukan penggilingan bahan tanaman (kering ataupun basah) yang tujuannya supaya menjadi lebih halus, di mana hal ini pun nantinya akan memperluas permukaan yang dipergunakan untuk ekstraksi, yang akhirnya laju ekstraksi dapat ditingkatkan. Penelitian yang pernah dijalankan sebelumnya menyebutkan, pada pelarut untuk rasio sampel 10: 1 (v/w), pelarut untuk rasio berat kering sudah dipergunakan secara proporsional (Pandey dan Tripathi, 2014).

Terdapat sejumlah faktor yang memunculkan pengaruh pada kualitas ekstrak, di antaranya ialah bagian tumbuhan yang dipakai sebagai bahan pertama, pelarut yang dipergunakan saat melangsungkan ekstraksi, dan rasio bahan tanamannya, yakni pelarut, dan sebagainya. Dari skala laboratorium hingga skala perintis semua parameter dioptimalkan dan dikontrol selama ekstraksi. Teknik ekstraksi memisahkan metabolit tumbuhan yang dapat larut melalui penggunaan pelarut secara selektif (Gupta *et al.*, 2012).

Sistem pelarut yang berbeda tersedia untuk mengekstrak senyawa bioaktif dari produk alami. Ekstraksi senyawa hidrofilik mempergunakan pelarut polar, di antaranya yaitu metanol, etanol ataupun etil asetat. Pada ekstraksi yang lebih banyak senyawa lipofilik, maka pergunakanlah diklorometana ataupun perpaduan diklorometana/metanol dengan mengaplikasikan rasio 1:1. Pada sejumlah contoh, ekstraksi dengan heksana dipergunakan atau difungsikan sebagai penghilang klorofil (Sasidharan *et al.*, 2011)

Karena senyawa target mungkin non-polar hingga polar dan termal labil, kesesuaian metode ekstraksi harus dipertimbangkan. Berbagai metode, seperti sonikasi, pemanasan dengan refluks, ekstraksi *soxhlet* dan lain-lain biasanya digunakan untuk ekstraksi sampel tanaman. Selain itu, ekstrak tumbuhan juga disiapkan dengan cara maserasi atau perkolasi tanaman hijau segar atau bubuk kering bahan tanaman dalam air dan / atau sistem pelarut organik (Sasidharan *et al.*, 2011).

Untuk ekstraksi flavonoid, pelarut dipilih dengan menyesuaikan jenis flavonoid yang dibutuhkan, di mana polaritas menjadi hal krusial yang sepatutnya diperhitungkan atau dipertimbangkan dalam hal ini. Flavonoid kurang polar (contohnya isoflavon, flavanon, flavon termetilasi, dan flavonol) di ekstraksikan dengan mempergunakan kloroform, diklorometana, dietil eter, atau etil asetat, sementara di sisi lain glikosida flavonoid dan aglikon lebih polar diekstraksi kan dengan mempergunakan alkohol ataupun kombinasi air dan alkohol. Kelarutan yang dimiliki glikosida di dalam air terbilang lebih tinggi, serta opsi yang dianjurkan untuk dipergunakan ialah larutan aqueous alkohol. Ekstraksi pelarut langsung sederhana masih kerap dipergunakan pada pelaksanaan kebanyakan ekstraksi bahan yang di dalamnya terkandung flavonoid (Andersen dan Markham, 2006).

Metode Pengujian Antibakteri

Metode Difusi

Dalam mengaplikasikan metode ini, penentuan aktivitas zat antibakteri dijalankan lewat pengukuran zona hambat yang muncul, di mana zona ini mengindikasikan pertumbuhan bakteri yang terhalang atau terhambat oleh zat antibakteri. Metode difusi mengaplikasikan tiga cara, yakni dijelaskan berikut ini (Pratiwi, 2008).

a. Metode parit

Metode ini diterapkan melalui penggunaan parit yang pembuatannya dilakukan pada lempeng *agar* yang sudah dibubuhi bakteri. Langkah berikutnya ialah mengisi parit tersebut dengan zat antibakteri yang hendak diujikan. Setelahnya, langkah yang dijalankan adalah menginkubasi lempeng *agar* dan dilanjut dengan mengamati munculnya zona hambat yang tampak pada area yang mengitari parit.

b. Metode lubang (heatley cup/punched hole)

Dalam menerapkan metode ini, dibuatkanlah sejumlah lubang pada media agar yang sudah dibubuhi bakteri. Lubang yang sudah diciptakan tersebut selanjutnya diisikan dengan sejumlah zat antibakteri yang hendak diujikan. Usai merampungkan inkubasi media agar, langkah berikutnya ialah menjalankan pengamatan pada zona hambat yang muncul pada area yang mengitari lubang.

c. Metode cakram disc (disc diffusion)

Metode ini kerap diaplikasikan ketika melangsungkan uji pada aktivitas antibakteri. Hanya sedikit bahan yang diujikan dalam menerapkan metode ini. Saat menerapkan metode ini, dibutuhkan petridish yang di dalamnya termuat kandungan 15-25 ml agar, selanjutnya bakteri ditanamkan ke permukaan agar secara menyeluruh dan rata, lalu dilanjut dengan penghitungan zona hambat "cleared zone" yang muncul di area yang mengelilingi cakram disk, serta terakhir membandingkannya dengan antibiotik standar.

Tabel 1. Klasifikasi Respon Hambatan Pertumbuhan Bakteri

Diameter Zona Terang	Respon Hambatan Pertumbuhan
>20 mm	Kuat
16-20 mm	Sedang
10-15 mm	Lemah
<10 mm	Tidak ada

Metode Dilusi

Tujuan dari diterapkannya metode ini adalah untuk menentukan konsentrasi paling rendah pada bakteri yang diujikan. Pengukuran hasil observasi bisa dijalankan dengan mempergunakan Kadar Hambat Minimal (KHM). Metode ini dikategorikan ke dalam sejumlah langkah, di antaranya ialah (Pratiwi, 2008):

a. Metode *agar* dilusi

Metode ini dianggap metode yang tergolong cepat dan terlebih lagi tidak perlu memanfaatkan alat canggih. Saat metode ini diterapkan, bahan yang diujikan harus dikombinasikan dalam *agar* dan selanjutnya lakukan penanaman bakteri di permukaannya. Sejumlah konsentrasi bahan ujinya bisa dibagi dengan melakukan pembagian pada permukaan *agar* dan pembagiannya dibentuk atau di model kotak-kotak, lalu dilanjut dengan menginkubasi *agar* selama 24 jam ataupun lebih, dan selanjutnya disusul dengan penghitungan pertumbuhan bakteri pada ekstrak-*agar* yang sudah tercampur.. Metode ini mempergunakan sebagian besar volume yang diujikan dan diperbandingkan dengan metode *disc diffusion*.

b. Metode dilusi cair

Metode ini ditujukan untuk mengukur MIC (Minimum Inhibitory Concentration) dan MBC (Minimum bactericidal Concentration atau diistilahkan sebagai kadar bunuh minimum, KBM). Langkah yang bisa dijalankan dalam mengaplikasikan metode ini adalah melalui pembuatan seri pengenceran agen antimikroba pada medium cair yang ditambahi mikroba uji. Jika larutan uji agen antimikroba pada kadar paling rendah tampak jernih dan tidak dijumpai pertumbuhan mikroba uji, berarti dikategorikan sebagai KHM, dan larutan yang berkategori KHM ini nantinya dikulturkan ulang pada media cair namun tidak ditambahi mikroba uji atau agen antimikroba. Langkah berikutnya ialah menginkubasinya selama kisaran 18-24 jam. Media cair yang tampak jernih usai dilangsungkannya inkubasi dapat dikategorikan sebagai KBM metode dilusi padat, di mana metode tersebut sejatinya serupa dengan dilusi cair, namun yang sedikit membedakannya ialah penggunaan dilusi padatnya. Keunggulan yang bisa didapati dari penerapan metode ini yaitu suatu konsentrasi yang diujikan nantinya bisa dipergunakan untuk menjalankan pengujian sejumlah mikroba uji.

Penelitian ini berkategori sebagai penelitian eksperimental dengan menerapkan Post Test Only Control Group Design secara *in vitro*. Tujuan dari dilakukannya penelitian ini adalah untuk menganalisis efek antibakteri yang dimiliki oleh ekstrak metanol buah andaliman terhadap bakteri *Pseudomonas Aeruginosa*.

Pelaksanaan penelitian ini dilangsungkan di Laboratorium Mikrobiologi Terpadu, Fakultas Kedokteran, Universitas Sumatera Utara pada Juni-Agustus 2022.

Pada penelitian ini, sampel yang dipergunakan ialah buah andaliman yang peneliti peroleh di pasar tradisional yang lokasinya di Medan, Sumatera Utara. Penelitian ini melakukan pengenceran terhadap ekstrak metanol pekat dari buah andaliman yang diperoleh dari proses maserasi menjadi 5 konsentrasi berbeda, dengan pengulangan yang dijalankan sebanyak 3 kali (*triple*) pada tiap-tiap konsentrasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Skrining Fitokimia

Hasil skrining fitokimia secara kualitatif pada ekstrak metanol buah andaliman disajikan pada tabel di bawah ini.

Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Buah Andaliman

Fitokimia	Pereaksi	Hasil
Alkaloid	Bouchardart	+
	Maeyer	+
	Dragendorff	+
	Wagner	+
Steroid dan Triterpenoid	Salkowsky	-
	Liebermann-Burchard	-
Saponin	Aquadest + Alkohol 96%	+
Flavonoid	FeCl ₃ 5%	+
	Mg _(s) + HCl _(p)	-
	NaOH 10%	-
	H ₂ SO _{4(p)}	+
Tanin	FeCl ₃ 1%	+
Glikosida	Mollish	-

Keterangan : + = Positif

- = Negatif

Tabel 1 mengindikasikan adanya sejumlah kandungan senyawa yang terdapat dalam buah andaliman, di antaranya yaitu alkaloid, saponin, flavonoid, dan tannin, sementara steroid, triterpenoid dan glikosida tidak terkandung di dalam buah andaliman.

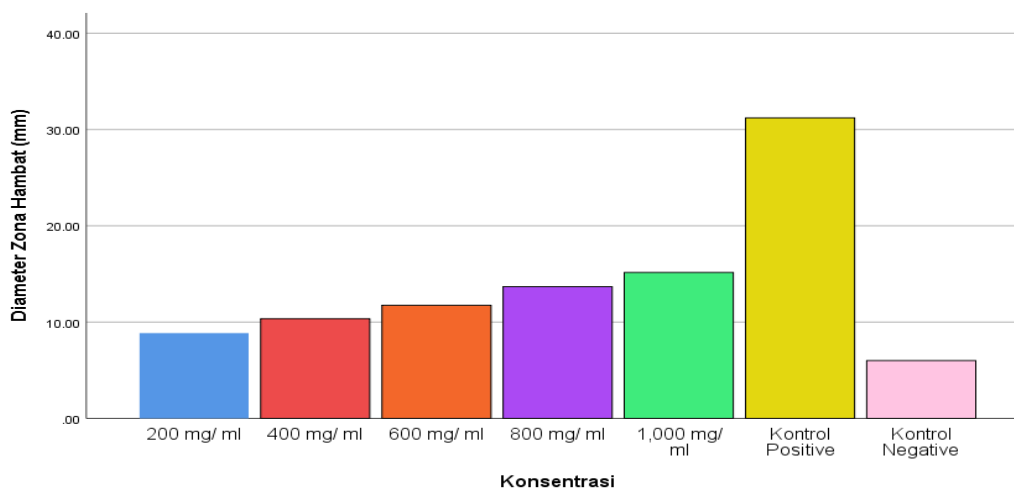
Univariat

Analisa univariat dilakukan menggunakan uji statistik deskriptif yang ditujukan untuk mengidentifikasi diameter zona hambat ekstrak metanol buah andaliman terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dalam bentuk mean dan standar deviasi. Hasil penelitian tersaji pada Tabel 2.

Tabel 2. Diameter Zona Hambat Ekstrak Metanol Buah Andaliman (terhadap bakteri *Pseudomonas Aeruginosa*)

Kelompok	Diameter zona hambat			x±SD
	I	II	III	
EMBA 200 mg/ml	8,70	8,85	8,85	8,80 ± 0,09
EMBA 400 mg/ml	9,60	10,35	10,85	10,27 ± 0,63
EMBA 600 mg/ml	11,75	12,15	11,60	11,83 ± 0,28
EMBA 800 mg/ml	13,30	13,68	14,25	13,74 ± 0,48
EMBA 1000 mg/ml	14,60	15,65	15,15	15,13 ± 0,53
Standar	31,05	31,20	31,20	31,15 ± 0,09
Kontrol	6,00	6,00	6,00	6,00 ± 0,00

Dari tabel 2, tampak hasil penelitian yang memperlihatkan x±SD diameter zona hambat masing-masing kelompok sebagai berikut: ekstrak metanol buah andaliman 200 mg/ml (8,80 ± 0,09), 400 mg/ml (10,27 ± 0,63), 600 mg/ml (11,83 ± 0,28), 800 mg/ml (13,74 ± 0,48), 1000 mg/ml (15,13 ± 0,53), standard (31,15 ± 0,09), dan kontrol (6,00 ± 0,00).



Gambar 4. Diagram Batang Aktivitas Antibakteri antara Konsentrasi Ekstrak Buah Andaliman terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

Diagram diatas mengindikasikan diameter zona hambat paling besar dimiliki oleh kontrol positif, sedangkan di sisi lain diameter zona hambat yang terbilang paling kecil ditemukan pada kontrol negatif.

Bivariat

Analisis ini dilangsungkan dengan menjalankan uji statistik Kruskal-wallis. Hal tersebut lantaran hasil uji normalitas Shapiro-wilk mengindikasikan bahwa distribusi pada data penelitian tergolong tidak normal. Dilakukannya uji statistik Kruskal-wallis ditujukan untuk mengidentifikasi aktivitas antimikroba ekstrak metanol buah andaliman terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang dijalankan dengan menerapkan metode in vitro. Hasil penelitiannya tersaji pada Tabel 3.

Tabel 3. Aktivitas Antimikroba Ekstrak Metanol Buah Andaliman terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan Metode in Vitro

Kelompok	Diameter zona hambat			x±SD	p
	I	II	III		
EMBA 200 mg/ml	8,70	8,85	8,85	8,80 ± 0,09	0,003*
EMBA 400 mg/ml	9,60	10,35	10,85	10,27 ± 0,63	
EMBA 600 mg/ml	11,75	12,15	11,60	11,83 ± 0,28	
EMBA 800 mg/ml	13,30	13,68	14,25	13,74 ± 0,48	
EMBA 1000 mg/ml	14,60	15,65	15,15	15,13 ± 0,53	
Standar	31,05	31,20	31,20	31,15 ± 0,09	
Kontrol	6,00	6,00	6,00	6,00 ± 0,00	

Keterangan:*Signifikan

Dari tabel yang tersaji di atas, didapatkan $p=0,003$ ($p<0,05$). Hal ini memperlihatkan adanya aktivitas antimikroba yang tergolong signifikan dalam ekstrak metanol buah andaliman terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang dijalankan dengan menerapkan metode in vitro. Hasil tersebut pun mengindikasikan bahwa konsentrasi yang terbilang paling efektif sebagai antibakteri terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yaitu 1.000 mg/ml.

Analisa data dilanjutkan menggunakan uji statistik posthoc LSD yang bertujuan untuk mengetahui perbedaan aktivitas antimikroba terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* antara dua kelompok yang berbeda. Hasil penelitiannya disuguhkan pada Tabel 4.

Tabel 4 Perbedaan Aktivitas Antimikroba Dua Kelompok terhadap bakteri *Pseudomonas Aeruginosa*

Konsentrasi	Pembanding	Nilai P
200 mg/ ml	400 mg/ ml	0.046*
	600 mg/ ml	0.046*
	800 mg/ ml	0.046*
	1,000 mg/ ml	0.046*
	Standard	0.043*
	Kontrol	0.034*
400 mg/ ml	600 mg/ ml	0.050*
	800 mg/ ml	0.050*
	1,000 mg/ ml	0.050*
	Standard	0.046*
	Kontrol	0.037*
600 mg/ ml	800 mg/ ml	0.050*
	1,000 mg/ ml	0.050*
	Standard	0.046*
	Kontrol	0.037*
800 mg/ ml	1,000 mg/ ml	0.050*
	Standard	0.046*
	Kontrol	0.037*
1,000 mg/ ml	Standard	0.046*
	Kontrol	0.037*
Standard	Kontrol	0.034*

Keterangan:*Signifikan

Berdasarkan tabel 4.4 diatas, hasil penelitian terlihat seluruh hasil dapat dinyatakan bahwa ada perbedaan aktivitas antimikroba terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* antara dua kelompok ($p < 0,05$).

Pseudomonas aeruginosa dijelaskan sebagai sebuah bakteri gram negatif yang menjadi pemicu sejumlah infeksi seperti folikulitis, luka tusukan yang mengarah ke osteomielitis, pneumonia, otitis eksterna, dan lain-lain. (Mina et al., 2022). Ada suatu kendala atau kesulitan dalam penerapan terapi yang dijalankan untuk menangani penyakit infeksi yang muncul lantaran bakteri tersebut. Hal ini dikarenakan terdapatnya resistensi terhadap berbagai jenis antibiotik (Dharmayanti & Sukrama, 2019).

Pada penelitian ini, peneliti menggunakan ekstrak metanol buah andaliman untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Pembuatan ekstrak metanol buah andaliman dilakukan secara maserasi. Proses ekstraksi yang dilangsungkan lewat penerapan teknik tersebut dijalankan dengan pengadukan yang dilakukan beberapa kali pada suhu ruang. Teknik ini menyuguhkan kemudahan dan tentunya tidak dibutuhkan pemanasan. Oleh karenanya kerusakan pada bahan alam menjadi minim, atau benar-benar sedikit potensi kerusakannya muncul. Apabila

metode maserasi dijalankan dalam waktu yang tergolong lama dan juga kondisi diam, nantinya akan memunculkan efek, di antaranya yaitu senyawa yang terekstrak akan menjadi banyak (Susanty & Bachmid, 2016). Dengan menilik hasil skrining fitokimia, tampak sejumlah senyawa yang termuat atau terkandung dalam ekstrak metanol buah andaliman, di antaranya yaitu alkaloid, saponin, flavonoid, dan tanin. Di sisi lain tidak teridentifikasi steroid, triterpenoid dan glikosida.

Robinson mengemukakan, alkaloid mempunyai kemampuan sebagai antibakteri dan mekanisme yang mampu menghambat atau menjadi penghalang, yakni dengan memunculkan gangguan pada elemen yang menyusun peptidoglikan pada sel bakteri, yang akhirnya terbentuknya lapisan dinding sel tidak lengkap, dan hal ini pun berujung pada munculnya suatu dampak, yaitu menjadi pemicu matinya sel tersebut. Terlebih lagi, alkaloid pun menghalangi terbentuknya sintesis protein, di mana hal tersebut akhirnya akan menjadikan metabolisme bakteri terganggu. Tumbuhnya bakteri gram positif ataupun negatif juga dapat dihambat oleh golongan senyawa alkaloid (Compean & Ynalvez, 2014; Anggraini dkk., 2019). Daya kerja yang dimiliki senyawa saponin pun mempunyai peran esensial sebagai antibakteri, yakni melalui pengrusakan permeabilitas dinding sel, yang mana hal ini dapat memicu kematian pada sel (Anggraini dkk., 2019).

Flavonoid dan tanin pun merupakan kandungan yang termuat dalam ekstrak metanol buah andaliman. Berkenaan dengan mekanisme flavonoid dalam menghalangi tumbuhnya bakteri, flavonoid mampu memicu kerusakan pada permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom bakteri dan lisosom bakteri. Dikarenakan adanya hasil dari interaksi yang muncul antara DNA bakteri dan flavonoid, akhirnya flavonoid menjadi berkemampuan untuk melepas energi transduksi terhadap membran sitoplasma bakteri. Terlebih lagi, motilitas bakteri pun mampu dihambat oleh flavonoid. Gugus hidroksil yang termuat dalam struktur senyawa flavonoid memicu munculnya perubahan elemen organik, termasuk transport nutrisi, di mana hal tersebut nantinya bisa memunculkan dampak toksik pada bakteri. Berikutnya tanin yang fungsinya sebagai senyawa antibakteri mampu menjadi penghalang enzim reverse transkriptase dan DNA topoisomerase, yang akhirnya terbentuknya sel bakteri bisa dihambat (Egra dkk., 2019).

Dari ekstrak kental metanol andaliman yang sudah diperoleh, berikutnya dilanjut dengan melakukan pengenceran, yaitu dengan mempergunakan pelarut DMSO, dan dijadikan lima konsentrasi, di antaranya 200 mg/ml, 400 mg/ml, 600 mg/ml, 800 mg/ml dan 1000 mg/ml. Metode antibakteri yang dipergunakan pada penelitian ini dijalankan secara difusi cakram disk. Metode tersebut kerap diterapkan dalam menguji aktivitas antibakteri di mana bahan yang diujikan hanya sedikit. Hasil yang didapati dari penerapan metode ini diperoleh lewat penghitungan zona hambat "cleared zone" yang muncul dan tampak di area yang mengitari cakram disk (Pratiwi, 2008). Jenie dan Kuswanto dalam Lingga dkk. (2016) mengungkapkan, ada sejumlah aspek yang menjadi penentu efektivitas zat antibakteri dalam penghambatan pertumbuhan, di antaranya yaitu bergantung pada sifat dari bakteri uji, konsentrasi yang dipergunakan, dan lamanya waktu kontak yang dibutuhkan.

Berdasarkan hasil pengukuran didapatkan diameter zona hambat yang berbeda-beda tiap kelompok yaitu ekstrak metanol buah andaliman 200 mg/ml ($8,80 \pm 0,09$), 400 mg/ml ($10,27 \pm 0,63$), 600 mg/ml ($11,83 \pm 0,28$), 800 mg/ml ($13,74 \pm 0,48$), 1000 mg/ml ($15,13 \pm 0,53$), standard ($31,15 \pm 0,09$), dan kontrol ($6,00 \pm 0,00$). Hasil diameter zona hambat ekstrak metanol buah andaliman tersebut berdasarkan Davis and Stout, 1997 dalam Lingga dkk (2016) tentang respon hambatan antibakteri untuk konsentrasi ekstrak metanol buah andaliman 400 mg/ml, 600 mg/ml, 800 mg/ml dan 1000 mg/ml termasuk kategori lemah dan konsentrasi 200 mg/ml dan kontrol negatif mempunyai kategori yang tidak ada respon hambatan, sedangkan untuk kontrol positif masuk kategori kuat.

Hasil yang sudah diperoleh dari penelitian ini mengindikasikan bahwa jika konsentrasi dari ekstrak metanol buah andaliman semakin meningkat, hal ini akan diiringi dengan semakin besarnya

diameter zona hambat terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Pemicu yang mengakibatkan timbulnya hal tersebut kemungkinan lantaran tingginya konsentrasi ekstrak dibarengi dengan meningkatnya kandungan bahan aktif antibakteri. Bertambahnya konsentrasi diprediksi akan menjadi peningkat penetrasi senyawa antibakteri ke dalam sel mikroba yang nantinya menjadi perusak sistem metabolisme sel ataupun menjadi pemicu munculnya lisis sel (Lingga dkk., 2016). Pernyataan tersebut sesuai dengan hasil uji statistik Kruskal-wallis bahwa ada aktivitas antimikroba yang signifikan ekstrak metanol buah andaliman terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan metode *in vitro*. Didukung oleh hasil *post hoc* LSD dimana seluruh hasil dapat dinyatakan bahwa ada perbedaan aktivitas antimikroba terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* antara dua kelompok. Konsentrasi ekstrak metanol buah andaliman yang paling efektif sebagai antibakteri terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ialah 1.000 mg/ml.

Hasil yang terhimpun pada penelitian ini searah dengan riset yang dijalankan Sitanggang dkk (2019), yang mengungkapkan ditemukannya daya hambat ekstrak buah andaliman dalam etil asetat terhadap pertumbuhan *Escherichia coli*. Hasil yang didapatkan dari penelitian saat ini pun senada dengan yang diungkapkan Djuang dkk (2022) yang menyebutkan dan membuktikan ekstrak metanol buah andaliman memang mempunyai kemampuan dalam menghalangi bakteri *Staphylococcus epidermidis*, tetapi masih berkategori sedang.

Adanya aktivitas antimikroba ekstrak metanol buah andaliman, tidak hanya karena senyawa aktif yang terkandung didalamnya, namun juga dapat disebabkan oleh jenis bakterinya. *Pseudomonas aeruginosa* termasuk bakteri gram negatif yang ketahanannya terbilang lebih unggul terhadap senyawa antimikroba. Di sisi lain, mikroba gram negatif mempunyai sistem yang mampu menyeleksi zat-zat asing pada lapisan lipopolisakarida, serta struktur dinding sel mikroba ini umumnya terbilang lebih rumit dan lapisannya berjumlah tiga, yakni lapisan luar lipoprotein, lapisan tengah lipopolisakarida dan lapisan dalam peptidoglikan. Kebalikannya, struktur dinding sel yang dimiliki mikroba gram positif yang secara umum tergolong lebih simpel dan tidak rumit, yang akhirnya hal tersebut memberi kemudahan bagi senyawa antimikroba untuk memasuki sel dan mendapatkan target yang disasanya (Hamidah dkk., 2019). Maka dari itu dapat diungkapkan bahwa tipe mikroba yang dipergunakan dapat menjadi pemicu timbulnya respons hambatan yang tergolong lemah dari ekstrak metanol buah andaliman.

SIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak metanol buah andaliman mengandung senyawa alkaloid, saponin, flavonoid, dan tannin, sedangkan steroid, triterpenoid dan glikosida tidak terkandung di dalamnya. Serta konsentrasi yang paling efektif dari ekstrak metanol buah andaliman sebagai antibakteri terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* adalah 1.000 mg/ml.

DAFTAR PUSTAKA

- Adolf J. N. Parhusip (2006) Kajian Mekanisme Antibakteri Ekstrak Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium*) terhadap Bakteri Patogen Pangan. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. doi: 10.1017/CBO9781107415324.004.
- Allocati, N. et al. (2013) "Escherichia coli in Europe: An overview," *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 10(12), hal. 6235–6254. doi: 10.3390/ijerph10126235.
- Andersen, O. M. dan Markham, K. R. (2006) *Flavonoids. Chemistry, Biochemistry and Applications.*, *Angewandte Chemie International Edition*. doi: 0-8493-2021-6.
- Azwanida, N. N. (2015) "A Review on the Extraction Methods use in Medicinal Plants, Principles, Strength and Limitation," *Medicinal aromatic plants*. doi: doi:10.4172/2167-0412.1000196.

- Carroll, K. C. et al. (2016) *Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology*, Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology. doi: 10.1088/1367-2630/16/1/013021.
- Gupta, A. et al. (2012) "Modern extraction methods for preparation of bioactive plant extracts," *International Journal of Applied and Natural Sciences*, *Jurnal Ilmu dan Teknologi Perikanan*, 1(2), hal. 11-21.
- Kosasih, E. et al. (2019) "Hepatoprotective Effect of Citrus Sinensis Peel Extract Against Isoniazid and Rifampicin-induced Liver Injury in Wistar Rats," *Majalah Obat Tradisional*, 24(3), hal. 197–203. doi: 10.22146/mot.45762.
- Meutia, Y. R. et al. (2015) "Pengaruh Suhu dan Waktu Maserasi terhadap Komponen Volatil yang Terlibat pada Ekstraksi Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC)," *Journal of Agro-based Industry*, 32(1), hal. 9–15.
- Moektiwardoyo, M., Muchtaridi, M. dan Halimah, E. (2014) "Chemical composition and locomotor activity of Andaliman fruits (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.) essential oil on mice," *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6(2), hal. 547–550.
- Muzafri, A. (2019) "Uji Aktivitas ANtimikroba Ekstrak Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.) pada *Staphylococcus aureus*," *Jurnal Sungkai*, 7(1), hal. 122–126. doi: 10.1017/CBO9781107415324.004.
- Muzafri, A., Julianti, E. dan Rusmarilin, H. (2018) "The extraction of antimicrobials component of andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.) and its application on catfish (*Pangasius sutchi*) fillet," in *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. doi: 10.1088/1755-1315/122/1/012089.
- Pandey, A. dan Tripathi, S. (2014) "Concept of Standarization, Extraction and Pre Phytochemical Screening Strategies for Herbarl Drug," *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*.
- Pratiwi, S. T. (2008) *Mikrobiologi Farmasi, Virus dan Prion*. doi: 10.1016/j.compedu.2013.07.039.
- Rosidah et al. (2018) "Antioxidant activity of alkaloid fractions of *Zanthoxylum acanthopodium* dc. Fruits with 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl assay," *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 11(13), hal. 33. doi: 10.22159/ajpcr.2018.v11s1.26560.
- Sinaga, K. et al. (2016) "Reduction of Benzo (A) pyrene in charcoal grilled duck meat by marinating with Andaliman (*Zanthoxylum Acanthopodium*, DC) fruit juice," *Journal of the Indonesian Tropical Animal Agriculture*, 41(4), hal. 204–208. doi: 10.14710/jitaa.41.4.204-208.
- Sriwichai, T. et al. (2019) "*Zanthoxylum* spp. : A new potential sources of essential oil for the perfumery and pharmaceutical industries in Thailand," *Medicinal Plants*, 11(1), hal. 26–45. doi: 10.5958/0975-6892.2019.00009.1.
- Warsa, U. (2010) "Kokus positif gram," in *Buku ajar mikrobiologi kedokteran*. Revisi. Jakarta: Binarupa Aksara. doi: 10.2460/javma.235.1.83.
- Widowati, W. et al. (2016) "Antioxidant and Anti Aging Assays of *Oryza sativa* Extracts, Vanillin and Coumaric Acid," *Journal of Natural Remedies*, 16(3), hal. 88–99. doi: 10.18311/jnr/2016/7220.
- Widowati, W. et al. (2017) "Antioxidant and antiaging assays of *Hibiscus sabdariffa* extract and its compounds," *Natural Product Sciences*, 23(3), hal. 192–200. doi: 10.20307/nps.2017.23.3.192.
- Wijaya, C. H. et al. (2019) "A review of the bioactivity and flavor properties of the exotic spice 'andaliman' (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.)," *Food Reviews International*, 35(1), hal. 1–19. doi: 10.1080/87559129.2018.1438470.
- Yanti et al. (2011) "Lemon Pepper Fruit Extract (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.) Suppresses the Expression of Inflammatory Mediators in Lipopolysaccharide-Induced Macrophages In Vitro," *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 7(4), hal. 190–195. doi: 10.3844/ajbbbsp.2011.190.195.