Jurnal Kesehatan Farmasi Nusantara | Volume. 3, Issue. 1, Januari 2027 | Page 41-51
ISSN: 3109-2365 (Print) | 3109-0613 (Online)
DOI: https://doi.org/10.64465/jkfn.v3i1.179

Content lists available at Mara Cendekia Publisher

JURNAL
KESEHATAN FARMASI NUSANTARA

At Journal Hompage: https://journal.marapublisher.com/indes.php/jkfn
ISSN 3109-2365 (Print), 3109-0613 (Online)

Aktivitas Antibakteri Ekstrak Diklorometana Akar *Rhynchostylis Retusa* Terhadap *Escherichia Coli*

Antibacterial Activity of Dichloromethane Extract from Rhynchostylis Retusa Roots Against Escherichia Coli

Fadil Rahmat Ilham [1], Yuliawati [2], Syamsurizal [3*]
[1-3] Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Jambi, Indonesia

ARTICLE INFORMATION

Article history:
Receipt: 24 September 2026
Revision: 20 Oktober 2026
Accepted: 8 November 2026

Email Corresponding Author:
syamsurizal168@unja.ac.id

Kata kunci:
Antibakteri
Difusi sumuran
Ekstrak diklorometana
Escherichia coli
Rhynchostylis retusa

Keywords:
Antibacterial
Escherichia coli
Dichloromethane extract
Rhynchostylis retusa
Well diffusion

ABSTRAK

Abstrak: Infeksi akibat *Escherichia coli* masih menjadi masalah kesehatan, sementara resistensi antibiotik yang terus meningkat mendorong pencarian sumber antibakteri dari bahan alam. Penelitian ini bertujuan menguji aktivitas antibakteri ekstrak diklorometana (DCM) akar anggrek ekor tupai (*Rhynchostylis retusa*) terhadap *E. coli* dan menentukan kekuatan daya hambatnya. Serbuk simplisia akar diekstraksi secara maserasi dengan DCM, lalu dikarakterisasi dan diskrining fitokimia. Uji antibakteri memakai metode difusi sumuran pada media Nutrient Agar (NA) dan Mueller Hinton Agar (MHA). Larutan ekstrak dibuat pada konsentrasi 150, 300, 450, 600, dan 750 ppm, kemudian dicampur dengan larutan cefixime dengan perbandingan 1:1 sehingga konsentrasi akhir ekstrak di dalam sumuran menjadi 75, 150, 225, 300, dan 375 ppm; setiap perlakuan diulang tiga kali. Kontrol positif berupa ciprofloxacin 10 ppm dan kontrol negatif DMSO 10%. Data dianalisis dengan ANOVA satu arah dilanjutkan uji Duncan. Rendemen ekstrak sebesar 33,507%, dan skrining fitokimia menunjukkan adanya alkaloid, fenolik, flavonoid, dan steroid. Campuran ekstrak–cefixime menghambat pertumbuhan *E. coli* pada kedua media dengan diameter zona hambat 7,05–11,63 mm pada NA (kategori sedang hingga kuat) dan 6,57–9,29 mm pada MHA (kategori sedang). Zona membesar seiring konsentrasi dan perbedaan antarkelompok bermakna ($p<0,001$). Ciprofloxacin menghasilkan zona 31,18 mm (NA) dan 28,74 mm (MHA), sedangkan DMSO tidak membentuk zona. Karena ekstrak diuji bersama cefixime dan tidak diuji sebagai ekstrak tunggal, hasil ini hanya dapat dibaca sebagai indikasi awal potensi antibakteri ekstrak DCM akar *R. retusa* terhadap *E. coli* dan perlu dikonfirmasi pada pengujian ekstrak tunggal.

Abstract: *Infections caused by* Escherichia coli *remain a health problem, and rising antibiotic resistance has encouraged the search for antibacterial agents from natural sources. This study evaluated the antibacterial activity of the dichloromethane (DCM) extract of fox-tail orchid (*Rhynchostylis retusa*) roots against* E. coli *and determined the strength of its inhibition. Root powder was macerated with DCM, characterized, and screened phytochemically. Antibacterial activity was tested by the well diffusion method on Nutrient Agar (NA) and Mueller Hinton Agar (MHA). Extract solutions of 150, 300, 450, 600, and 750 ppm were mixed with a cefixime solution at a 1:1 ratio, so the final extract concentrations in the wells were 75, 150, 225, 300, and 375 ppm; each treatment was run in triplicate. Ciprofloxacin 10 ppm served as the positive control and 10% DMSO as the negative control. Data were analyzed by one-way ANOVA followed by Duncan's test. The extract yield was 33.507%, and phytochemical screening indicated alkaloids, phenolics, flavonoids, and steroids. The extract–cefixime mixtures inhibited* E. coli *on both media, with inhibition zones of 7.05–11.63 mm on NA (moderate to strong) and 6.57–9.29 mm on MHA (moderate). Zones increased with concentration, and differences among groups were significant ($p<0.001$). Ciprofloxacin produced zones of 31.18 mm (NA) and 28.74 mm (MHA), whereas DMSO produced none. Because the extract was tested together with cefixime and not alone, these findings are only a preliminary indication of the antibacterial potential of the DCM extract of* R. retusa *roots against* E. coli *and need to be confirmed with the extract alone.*

Copyright © 2025 The Author(s). Published by Mara Cendekia Publisher
This is an open access article under the Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License.

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi bakteri masih menjadi persoalan kesehatan yang belum tuntas, terutama karena resistensi antibiotik yang terus meningkat. *Escherichia coli* adalah bakteri Gram negatif berbentuk batang yang secara normal hidup di saluran cerna manusia dan hewan. Sebagian besar galurnya bersifat komensal, tetapi galur patogen dapat menimbulkan infeksi saluran kemih, diare, bakteremia, hingga sepsis. Bakteri ini juga mudah memperoleh dan menyebarkan gen resistensi, sehingga sering dipakai sebagai indikator sanitasi sekaligus indikator resistensi antimikroba (Safitri et al., 2024). Tinjauan pustaka pada infeksi saluran kemih melaporkan bahwa *E. coli* memiliki tingkat resistensi yang tinggi terhadap antibiotik yang lazim digunakan, dengan resistensi terhadap cefixime berkisar 60%–86% (Unok & Mangawing, 2024).

Penggunaan antibiotik yang berlebihan dan berkepanjangan, termasuk di bidang peternakan, meningkatkan tekanan seleksi pada bakteri dan mempercepat munculnya galur resisten. Keadaan ini mendorong pencarian sumber antibakteri alternatif. Bahan alam menjadi salah satu pilihan yang banyak dijajaki karena tumbuhan obat tradisional kerap mengandung metabolit sekunder dengan aktivitas antimikroba (Putri & Sholikhah, 2025; Sholikhah, 2025). Uji aktivitas antibakteri merupakan langkah awal untuk menilai kemampuan suatu bahan menghambat pertumbuhan bakteri patogen.

Anggrek ekor tupai (*Rhynchostylis retusa* (L.) Blume) dari famili Orchidaceae adalah anggrek epifit yang lebih dikenal sebagai tanaman hias karena rangkaian bunganya yang menjuntai. Tumbuhan ini juga dipakai dalam pengobatan tradisional, antara lain untuk rematik, luka, asma, gangguan menstruasi, penyakit kulit, dan radang tenggorokan (Rajan et al., 2025). Secara kimia, tumbuhan ini diketahui mengandung senyawa fenolik, misalnya gigantol yang telah dikaji sebagai penghambat α-glukosidase (Muslikh & Winartiana, 2024). Ekstrak metanol akar *R. retusa* dari India juga dilaporkan positif terhadap hampir seluruh golongan metabolit sekunder yang diuji, kecuali saponin (Noorjahan, 2024).

Sejumlah penelitian sebelumnya telah menyinggung aktivitas antibakteri *R. retusa*. Bhatnagar et al. (2017) menguji fraksi dari beberapa bagian tiga anggrek obat asal Arunachal Pradesh, India, dan melaporkan aktivitas antibakteri pada fraksi akar *R. retusa* terhadap isolat klinis. Rahaman et al. (2024) menguji ekstrak etanol daun, batang, dan akar dengan metode cakram terhadap panel mikroorganisme; ekstrak batang memberi hambatan lebih besar daripada akar, sedangkan daun tidak menunjukkan aktivitas. Kumari et al. (2024) mengevaluasi ekstrak akar beserta fraksinya dan mendapati bahwa seluruh sampel menghambat bakteri uji kecuali fraksi n-heksan, dengan fraksi n-butanol yang sebanding dengan tetrasiklin. Pada ketiga penelitian tersebut pelarut yang dipakai adalah etanol, metanol, atau pelarut fraksinasi bertingkat. Sepengetahuan kami, aktivitas ekstrak akar *R. retusa* yang diperoleh langsung dengan diklorometana (DCM) terhadap *E. coli*, serta konsistensinya pada dua media uji, belum pernah dilaporkan. Di sinilah letak kebaruan penelitian ini.

Pemilihan DCM didasarkan pada kemampuannya menarik senyawa semi polar hingga nonpolar yang berpotensi menghambat bakteri Gram negatif (Mora et al., 2025). Penelitian ini bertujuan mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak DCM akar *R. retusa* terhadap *E. coli* dengan metode difusi sumuran dan menentukan kekuatan daya hambatnya berdasarkan diameter zona hambat. Pengujian dilakukan pada dua media. Nutrient Agar (NA) dipilih karena murah dan umum tersedia di laboratorium penelitian awal, sedangkan Mueller Hinton Agar (MHA) merupakan media yang direkomendasikan untuk uji kepekaan antibakteri karena komposisinya terstandar (CLSI, 2025). Dengan membandingkan keduanya, kami ingin mengetahui apakah aktivitas ekstrak tetap terlihat pada media standar, bukan hanya pada media yang lebih kaya nutrisi. Hasilnya diharapkan menjadi data awal bagi pengembangan akar *R. retusa* sebagai sumber bahan antibakteri.

KAJIAN TEORITIS

R. retusa, yang dikenal juga sebagai *fox-tail orchid*, merupakan anggrek monopodial dengan batang pendek dan daun tebal berdaging yang tersusun dua baris. Akar udaranya berwarna hijau karena mengandung klorofil dan dilapisi velamen yang membantu penyerapan air dan unsur hara (Rajan et al., 2025). Genus *Rhynchostylis* tersebar di Asia, mulai dari anak benua India, Tiongkok, dan Indochina hingga Malaysia, Indonesia, dan Filipina.

E. coli termasuk bakteri mesofilik dan anaerob fakultatif. Dinding selnya khas bakteri Gram negatif, yaitu lapisan peptidoglikan yang tipis dan dilengkapi membran luar. Struktur ini menjadi penghalang bagi banyak senyawa antibakteri sehingga bakteri Gram negatif umumnya lebih sulit dihambat daripada bakteri Gram positif.

Senyawa antibakteri bekerja melalui beberapa mekanisme, yaitu menghambat sintesis dinding sel, mengganggu integritas dan fungsi membran sel, menghambat sintesis protein dan asam nukleat, serta menghambat jalur metabolisme esensial. Senyawa fenolik dan flavonoid dari bahan alam juga dapat berikatan dengan protein sel sehingga terjadi denaturasi protein dan inaktivasi enzim (Irianto, 2022).

Dalam metode difusi sumuran, senyawa uji berdifusi dari sumuran ke dalam agar yang telah diinokulasi bakteri, dan daerah tanpa pertumbuhan di sekitar sumuran dibaca sebagai zona hambat. Metode ini memungkinkan volume uji yang lebih besar daripada cakram dan zona tampak jelas karena bakteri tumbuh sampai ke bagian dalam agar (Muhammad & Andriyanto, 2026). Hasil uji difusi dipengaruhi oleh sifat difusi senyawa di dalam agar, komposisi media, ketebalan agar, kepadatan inokulum, dan kondisi inkubasi, sehingga diameter zona sebaiknya diperlakukan sebagai ukuran semikuantitatif dan bukan ukuran potensi mutlak (Balouiri et al., 2016).

METODE

Bahan Tumbuhan dan Determinasi

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium yang dilakukan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Jambi. Akar *R. retusa* diperoleh dari petani budidaya di Dusun Kaweron, Kecamatan Muntilan, Kabupaten Magelang, Jawa Tengah. Determinasi dilakukan di Herbarium Jatinangor, Laboratorium Taksonomi Tumbuhan, Jurusan Biologi FMIPA Universitas Padjadjaran (nomor 47/HB/10/2025).

Pembuatan Simplisia dan Ekstrak

Akar disortasi basah, dibersihkan, dirajang, lalu dikeringkan dalam oven pada suhu 50 °C. Setelah sortasi kering, akar dihaluskan dengan grinder dan serbuknya disimpan dalam wadah plastik kering. Sebanyak 105 g serbuk dimaserasi dengan 1 L DCM dalam botol kaca tertutup rapat pada suhu ruang dan terlindung dari cahaya langsung, dengan pengadukan manual setiap 12 jam. Campuran disaring dengan kertas saring Whatman dan filtrat dipekatkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 40 °C sampai diperoleh ekstrak kental.

Karakterisasi dan Skrining Fitokimia

Karakterisasi spesifik berupa pengamatan organoleptis (bentuk, warna, bau, dan rasa) serta identitas ekstrak. Karakterisasi nonspesifik meliputi kadar air dengan metode gravimetri (1 g ekstrak dipanaskan pada 105 °C hingga bobot konstan) dan kadar abu total (2 g ekstrak dipijarkan pada 800 °C hingga bobot konstan); hasilnya dibandingkan dengan persyaratan Farmakope Herbal Indonesia (Kemenkes RI, 2017). Skrining fitokimia mengikuti prosedur umum (Maheshwaran et al., 2024): alkaloid dengan pereaksi Mayer, Wagner, dan Dragendorff; fenolik dengan $FeCl_3$ dan $KMnO_4$; flavonoid dengan

HCl pekat–serbuk Mg, H_2SO_4, dan NaOH 10%; saponin dengan uji busa dan Liebermann–Burchard; tanin dengan gelatin 1% dan $FeCl_3$ 1%; serta steroid dan terpenoid dengan Liebermann–Burchard dan Salkowski.

Uji Aktivitas Antibakteri

Media NA dibuat dengan melarutkan 2,8 g serbuk dalam 100 mL air suling, dan media MHA dengan melarutkan 3,8 g serbuk dalam 100 mL air suling. Keduanya dipanaskan sampai larut, disterilkan dalam autoklaf (121 °C, 1,5 atm, 15 menit), didinginkan hingga 45–50 °C, lalu dituang secara aseptis ke dalam cawan petri. Isolat *E. coli* berasal dari koleksi laboratorium mikrobiologi, diremajakan pada NA (37 °C, 18–24 jam), kemudian disuspensikan dalam NaCl 0,9% hingga setara standar McFarland 0,5 (sekitar $1,5 \times 10^8$ CFU/mL).

Larutan stok ekstrak 5000 ppm diencerkan dengan DMSO 10% menjadi 150, 300, 450, 600, dan 750 ppm (volume akhir 2 mL; misalnya 60 µL stok ditambah 1940 µL pelarut untuk 150 ppm). Kontrol positif adalah ciprofloxacin 10 ppm dan kontrol negatif adalah DMSO 10%. Cefixime 10 ppm digunakan sebagai antibiotik pembanding yang diasumsikan resisten terhadap isolat uji, dengan tujuan agar bakteri kontaminan tidak mengganggu pembacaan zona pada media nonselektif.

Setiap larutan ekstrak dihomogenkan dengan larutan cefixime pada perbandingan volume 1:1 sebelum dimasukkan ke sumuran. Pencampuran ini mengencerkan kedua komponen menjadi setengahnya, sehingga konsentrasi akhir ekstrak di dalam sumuran adalah 75, 150, 225, 300, dan 375 ppm, dan konsentrasi cefixime pada campuran adalah 5 ppm. Pada Tabel 3 dan pembahasan selanjutnya, perlakuan tetap dinamai menurut konsentrasi larutan ekstrak sebelum pencampuran (150–750 ppm) agar konsisten dengan naskah awal, dan konsentrasi akhir dicantumkan di kolom tersendiri. Sebagai kontrol negatif tambahan, DMSO 10% juga dicampur dengan cefixime pada perbandingan yang sama (Gambar 2c, sumuran A).

Suspensi bakteri diusapkan merata pada permukaan agar dengan cotton swab steril, lalu sumuran dibuat pada agar. Cawan diinkubasi pada 37 °C selama 18–24 jam, kemudian diameter zona bening diukur dengan jangka sorong. Setiap perlakuan diulang tiga kali. Kekuatan daya hambat dikategorikan lemah (<5 mm), sedang (5–10 mm), kuat (10–20 mm), atau sangat kuat (>20 mm) (Rijal & Asri, 2024).

Analisis Data

Data disajikan sebagai rerata ± simpangan baku (SD). Analisis statistik dilakukan terpisah untuk setiap media dengan tujuh kelompok perlakuan, yaitu lima campuran ekstrak–cefixime (150–750 ppm), cefixime tunggal 10 ppm, dan ciprofloxacin 10 ppm, masing-masing tiga ulangan (derajat bebas 6 dan 14). Kelompok DMSO tidak diikutkan karena seluruh nilainya nol. Normalitas diuji dengan Shapiro–Wilk dan homogenitas ragam dengan Levene. Perbedaan antarkelompok diuji dengan ANOVA satu arah, dilanjutkan uji Duncan pada taraf kepercayaan 95%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Determinasi, Rendemen, dan Karakteristik Ekstrak

Hasil determinasi memastikan sampel sebagai *Rhynchostylis retusa* (L.) Blume, famili Orchidaceae, dengan nama lokal anggrek buntut bajing. Dari 575 g akar segar diperoleh 105 g serbuk simplisia (rendemen 18,26%). Maserasi 105 g serbuk dengan DCM menghasilkan 35,182 g ekstrak kental dengan rendemen 33,507%. Karakteristik simplisia dan ekstrak dirangkum pada Tabel 1.

Tabel 1. Rendemen dan karakteristik akar serta ekstrak DCM *R. retusa*

Parameter	Hasil	Acuan FHI
Rendemen simplisia (dari 575 g akar segar)	18,26% (105 g)	–
Rendemen ekstrak (dari 105 g serbuk)	33,507% (35,182 g)	–
Organoleptis	Silindris berdaging, mengerut; coklat tua; tidak berbau	–
Kadar air	12,26%	<10%
Kadar abu total	3,17%	<10%

FHI: Farmakope Herbal Indonesia.

Skrining Fitokimia

Ekstrak DCM menunjukkan hasil positif untuk alkaloid, fenolik, flavonoid, dan steroid, sedangkan saponin, tanin, dan terpenoid tidak terdeteksi (Tabel 2). Pada uji Liebermann–Burchard, sampel membentuk cincin berwarna coklat yang dibaca sebagai steroid.

Tabel 2. Hasil skrining fitokimia ekstrak DCM akar *R. retusa*

Golongan	Pereaksi (hasil)	Kesimpulan
Alkaloid	Wagner (+), Mayer (–), Dragendorff (+)	Positif
Fenolik	$FeCl_3$ (+), $KMnO_4$ (+)	Positif
Flavonoid	HCl pekat–serbuk Mg (–), H_2SO_4 (+), NaOH 10% (+)	Positif
Saponin	Uji busa H_2O/HCl 2N (–), Liebermann–Burchard (–)	Negatif
Tanin	Gelatin 1% (–), $FeCl_3$ 1% (–)	Negatif
Steroid	Liebermann–Burchard (+), Salkowski (–)	Positif
Terpenoid	Liebermann–Burchard (–), Salkowski (–)	Negatif

(+) = positif; (–) = negatif.

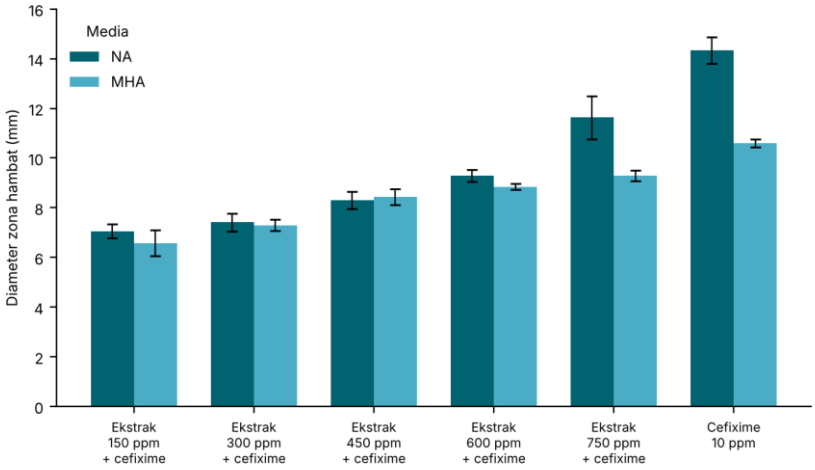
Aktivitas Antibakteri

Campuran ekstrak DCM akar *R. retusa* dan cefixime membentuk zona hambat terhadap *E. coli* pada kedua media (Tabel 3). Pada media NA, rerata diameter zona hambat naik dari 7,05 mm pada perlakuan 150 ppm menjadi 11,63 mm pada 750 ppm; empat konsentrasi pertama tergolong sedang dan konsentrasi 750 ppm tergolong kuat. Pada media MHA, zona hambat berkisar 6,57–9,29 mm dan seluruh konsentrasi tergolong sedang. Kontrol positif ciprofloxacin 10 ppm menghasilkan zona 31,18 mm (NA) dan 28,74 mm (MHA), keduanya sangat kuat, sedangkan DMSO 10% tidak membentuk zona pada kedua media. Sumuran cefixime 10 ppm menghasilkan zona 14,34 mm pada NA dan 10,59 mm pada MHA. Grafik perbandingan ditunjukkan pada Gambar 1 dan penampakan cawan pada Gambar 2.

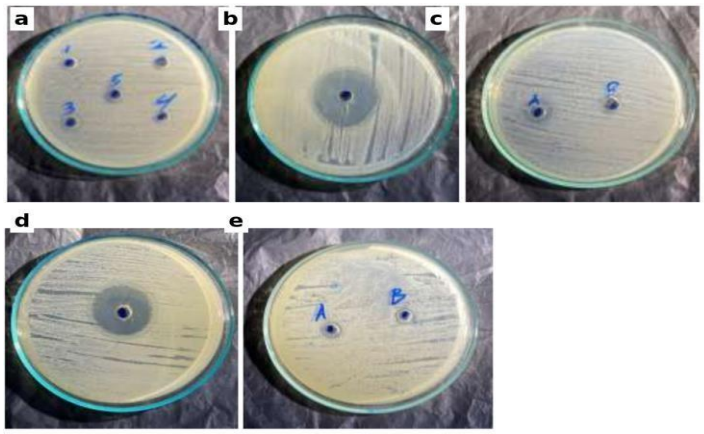
Tabel 3. Diameter zona hambat terhadap *E. coli* pada media NA dan MHA (mm, rerata ± SD, n = 3)

Perlakuan	Konsentrasi akhir ekstrak di sumuran*	NA	Kategori	MHA	Kategori
Ekstrak 150 ppm + cefixime	75 ppm	7,05 ± 0,28	Sedang	6,57 ± 0,52	Sedang
Ekstrak 300 ppm + cefixime	150 ppm	7,41 ± 0,36	Sedang	7,30 ± 0,23	Sedang
Ekstrak 450 ppm + cefixime	225 ppm	8,30 ± 0,34	Sedang	8,45 ± 0,32	Sedang
Ekstrak 600 ppm + cefixime	300 ppm	9,30 ± 0,24	Sedang	8,84 ± 0,12	Sedang
Ekstrak 750 ppm + cefixime	375 ppm	11,63 ± 0,87	Kuat	9,29 ± 0,22	Sedang
Cefixime 10 ppm	–	14,34 ± 0,54	Kuat	10,59 ± 0,16	Kuat
DMSO 10% (K–)	–	0,00 ± 0,00	Tidak ada	0,00 ± 0,00	Tidak ada
Ciprofloxacin 10 ppm (K+)	–	31,18 ± 0,36	Sangat kuat	28,74 ± 0,51	Sangat kuat

*Konsentrasi ekstrak dalam ppm (setara µg/mL). Nama perlakuan mengikuti konsentrasi larutan ekstrak sebelum dicampur cefixime 1:1; konsentrasi akhir di sumuran adalah setengahnya.



Gambar 1. Diameter zona hambat campuran ekstrak DCM akar *R. retusa*–cefixime dan cefixime tunggal pada media NA dan MHA (rerata ± SD).



Gambar 2. Hasil uji difusi sumuran. Media NA: (a) sumuran 1–5 berisi campuran ekstrak 150–750 ppm dengan cefixime, (b) ciprofloxacin, (c) kontrol negatif (A: DMSO dengan cefixime, B: DMSO 10%). Media MHA: (d) ciprofloxacin, (e) kontrol negatif (A dan B).

Hasil Analisis Statistik

Seluruh kelompok berdistribusi normal (uji Shapiro–Wilk, p = 0,081–0,980 pada NA dan p = 0,083–0,774 pada MHA) dan ragamnya homogen (uji Levene, p = 0,403 pada NA dan p = 0,060 pada MHA). ANOVA satu arah menunjukkan perbedaan yang bermakna antarkelompok pada kedua media (NA: F = 993,423; MHA: F = 1641,394; derajat bebas 6 dan 14; p<0,001). Uji Duncan pada media MHA memisahkan konsentrasi 150 ppm dan 300 ppm ke dalam subset tersendiri, sedangkan 450 ppm dan 600 ppm (p = 0,175) serta 600 ppm dan 750 ppm (p = 0,116) berada dalam subset yang sama. Cefixime tunggal dan ciprofloxacin masing-masing berada di subset terpisah.

Pembahasan

Rendemen, Karakteristik, dan Kandungan Metabolit Sekunder

Rendemen ekstrak sebesar 33,507% tergolong tinggi. Besarnya rendemen dipengaruhi oleh jenis dan kepolaran pelarut, metode ekstraksi, serta kondisi seperti lama maserasi, suhu, dan pengadukan (Badriyah & Farihah, 2022). Kadar air ekstrak (12,26%) melebihi acuan 10%, jadi ekstrak belum sepenuhnya memenuhi persyaratan mutu. Kadar air yang tinggi meningkatkan aktivitas air dan memudahkan pertumbuhan jamur dan bakteri selama penyimpanan, sehingga pengeringan ekstrak yang lebih lanjut perlu dipertimbangkan pada penelitian berikutnya. Kadar abu total (3,17%)

menunjukkan sisa anorganik yang rendah, tetapi angka ini tidak menggantikan pengujian cemaran logam berat.

Skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak DCM mengandung alkaloid, fenolik, flavonoid, dan steroid. Tidak terdeteksinya saponin dan tanin sesuai dengan sifat pelarut, karena kedua golongan ini bersifat polar dan lebih mudah tertarik ke pelarut polar seperti air daripada ke DCM. Alkaloid terdeteksi pada dua dari tiga pereaksi. Pereaksi pengendap alkaloid memiliki sensitivitas yang berbeda, sehingga hasil negatif pada pereaksi Mayer tidak meniadakan keberadaan alkaloid, dan kehadirannya lebih tepat dinyatakan sebagai dugaan (Maheshwaran et al., 2024). Hal yang sama berlaku untuk flavonoid yang negatif pada uji Mg–HCl tetapi positif pada uji H_2SO_4 dan NaOH 10%. Keberadaan kedua golongan ini perlu dikonfirmasi dengan metode yang lebih spesifik, misalnya kromatografi lapis tipis atau spektrofotometri.

Profil ini sejalan sebagian dengan ekstrak akar *R. retusa* yang diekstraksi dengan pelarut lain. Ekstrak metanol akar dari India positif untuk semua golongan yang diuji kecuali saponin (Noorjahan, 2024), dan fraksi kloroform serta etil asetat akar dilaporkan paling efektif menarik polifenol (Kumari et al., 2024). Hal itu masuk akal karena senyawa fenolik berada pada rentang kepolaran menengah yang juga dapat dijangkau DCM.

Aktivitas Antibakteri pada Media NA dan MHA

Zona hambat membesar seiring kenaikan konsentrasi ekstrak pada kedua media, dan pola ini didukung oleh ANOVA yang bermakna. Zona yang tidak terbentuk pada sumuran DMSO 10% menunjukkan bahwa pelarut tidak menghambat pertumbuhan bakteri, sehingga zona pada perlakuan bukan berasal dari pelarut (Kony et al., 2024). Aktivitas ekstrak diduga berkaitan dengan fenolik dan flavonoid yang dapat berikatan dengan protein sel, menyebabkan denaturasi protein dan inaktivasi enzim, serta mengganggu permeabilitas membran (Irianto, 2022; Sasmita et al., 2025; Sholikhah, 2025). Alkaloid yang terdeteksi dapat ikut berperan, tetapi penelitian ini tidak memisahkan kontribusi masing-masing golongan.

Zona hambat yang hanya mencapai kategori sedang hingga kuat dapat dikaitkan dengan struktur dinding sel Gram negatif, yaitu membran luar yang membatasi masuknya senyawa ke target di dalam sel. Selain itu, ekstrak yang diuji masih berupa campuran kasar sehingga kadar senyawa aktif pada tiap konsentrasi relatif rendah dibandingkan antibiotik murni. Ciprofloxacin, antibiotik golongan fluorokuinolon, menghasilkan zona lebih dari 28 mm pada kedua media. Hasil ini menunjukkan bahwa metode uji bekerja dan isolat masih peka terhadap antibiotik tersebut (Muhammad & Andriyanto, 2026).

Bila dibandingkan dengan laporan sebelumnya, besaran zona pada penelitian ini berada pada kisaran yang mirip dengan ekstrak etanol akar *R. retusa* yang menghasilkan zona sekitar 10–11 mm pada dosis 400 µg per cakram (Rahaman et al., 2024), meskipun perbandingan langsung tidak tepat karena metode (cakram dan sumuran), pelarut, dan volume uji berbeda. Perbandingan ini lebih berguna sebagai gambaran bahwa akar *R. retusa* memang memiliki aktivitas antibakteri yang konsisten dengan temuan peneliti lain (Bhatnagar et al., 2017; Kumari et al., 2024), sementara kontribusi spesifik fraksi DCM masih harus dibuktikan dengan pengujian ekstrak tunggal.

Zona hambat pada NA cenderung lebih besar daripada pada MHA, terutama pada perlakuan 600 ppm (9,30 dan 8,84 mm) dan 750 ppm (11,63 dan 9,29 mm), sedangkan pada 150–450 ppm selisihnya kecil (tidak lebih dari 0,5 mm). Kecenderungan serupa tampak pada ciprofloxacin (31,18 dan 28,74 mm). Perbandingan dua media lazim dilakukan untuk menilai konsistensi aktivitas (Safitri et al., 2026), tetapi penelitian ini tidak menguji perbedaan antarmedia secara statistik sehingga selisih tersebut belum

dapat dinyatakan bermakna. Yang dapat disimpulkan hanyalah bahwa aktivitas tetap terlihat dan naik seiring konsentrasi pada MHA sebagai media standar, jadi hasil pada NA bukan sekadar akibat media yang lebih kaya nutrisi. Media dapat memengaruhi ukuran zona karena MHA adalah media standar uji kepekaan dengan komposisi yang seragam, sedangkan NA lebih kaya dan tidak distandarkan untuk keperluan ini (CLSI, 2025). Faktor lain seperti ketebalan agar, kepadatan inokulum, suhu, dan lama inkubasi juga ikut menentukan; inokulum yang lebih padat, misalnya, cenderung memperkecil zona (Balouiri et al., 2016).

Peran Cefixime dan Keterbatasan Penelitian

Rancangan pengujian ini memiliki satu kekhasan yang perlu dicermati. Setiap larutan ekstrak dicampur dengan larutan cefixime pada perbandingan 1:1 sebelum dimasukkan ke dalam sumuran. Cefixime dipakai karena isolat uji diasumsikan resisten terhadapnya berdasarkan literatur yang melaporkan resistensi *E. coli* terhadap cefixime yang tinggi (Unok & Mangawing, 2024; Zaragoza et al., 2024). Tujuannya agar bakteri yang tumbuh pada media nonselektif tetap berasal dari isolat uji. Akibatnya, zona pada sumuran perlakuan merupakan respons terhadap campuran ekstrak dan cefixime, bukan terhadap ekstrak saja. Karena itu, istilah "aktivitas antibakteri ekstrak" pada naskah ini harus dipahami dalam konteks campuran tersebut.

Pencampuran 1:1 juga berarti ekstrak dan cefixime sama-sama diencerkan setengahnya. Konsentrasi ekstrak yang sesungguhnya bekerja di sumuran adalah 75–375 ppm dan konsentrasi cefixime adalah 5 ppm, bukan 150–750 ppm dan 10 ppm. Cefixime tunggal 10 ppm menghasilkan zona 14,34 mm (NA) dan 10,59 mm (MHA), yang berada di bawah batas 15 mm untuk kategori resisten pada uji difusi cefixime yang dirujuk dalam studi sebelumnya. Zona pada campuran ekstrak–cefixime (6,57–11,63 mm) sebagian besar lebih kecil daripada zona cefixime tunggal, dan hal ini kemungkinan besar karena cefixime di dalam sumuran sudah terencerkan sehingga kedua zona tidak dapat dibandingkan langsung. Penelitian ini tidak memiliki kontrol cefixime 5 ppm tunggal yang setara dengan kadarnya pada campuran, sehingga kontribusi ekstrak tidak dapat dipisahkan secara kuantitatif dari kontribusi cefixime. Meski demikian, kadar cefixime pada campuran selalu sama sementara zona membesar seiring konsentrasi ekstrak, sehingga peningkatan itu lebih mungkin berasal dari ekstrak. Kemungkinan adanya interaksi antara ekstrak dan cefixime, baik sinergis maupun antagonis, juga tidak dapat disingkirkan dari rancangan ini.

Keterbatasan lain adalah pengujian hanya memakai satu isolat koleksi laboratorium sehingga belum mewakili keragaman galur *E. coli*; resistensi isolat terhadap cefixime tidak diverifikasi dalam penelitian ini, konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) belum ditentukan, dan ekstrak belum difraksinasi atau diisolasi. Tanpa KHM dan KBM, belum diketahui apakah ekstrak bersifat bakteriostatik atau bakterisidal. Karena itu, hasil penelitian ini sebaiknya dibaca sebagai indikasi awal aktivitas antibakteri.

KESIMPULAN

Campuran ekstrak DCM akar *R. retusa* dan cefixime menunjukkan penghambatan terhadap *E. coli* pada media NA dan MHA. Diameter zona hambat meningkat seiring konsentrasi, yaitu 7,05–11,63 mm pada NA (sedang hingga kuat) dan 6,57–9,29 mm pada MHA (sedang), dengan perbedaan antarkelompok yang bermakna ($p<0,001$). Hasil ini masih bersifat indikasi awal karena ekstrak tidak diuji secara tunggal dan konsentrasi akhir ekstrak di sumuran adalah setengah dari konsentrasi larutan yang disiapkan. Penelitian lanjutan disarankan memakai ekstrak tunggal dengan kontrol cefixime yang

sesuai, menggunakan lebih dari satu isolat termasuk galur standar, menentukan KHM dan KBM, serta memfraksinasi ekstrak untuk mengetahui golongan senyawa yang paling berperan.

DEKLARASI/ PERNYATAAN

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Jambi atas fasilitas penelitian, dan kepada Herbarium Jatinangor, Laboratorium Taksonomi Tumbuhan, Universitas Padjadjaran atas determinasi tumbuhan.

Kontribusi Penulis

Fadil Rahmat Ilham: konseptualisasi, pelaksanaan penelitian, analisis data, dan penulisan naskah. Syamsurizal: konseptualisasi, supervisi, dan penelaahan naskah. Yuliawati: supervisi, validasi, dan penelaahan naskah.

Kajian Etik

Penelitian ini tidak melibatkan manusia maupun hewan uji sehingga tidak memerlukan kajian etik.

Penyandang Dana

Penelitian ini tidak menerima pendanaan dari lembaga mana pun.

Konflik Kepentingan

Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan dalam penelitian ini.

Penggunaan *Artificial Intelligence* (AI)

Penulis menggunakan Anthropic untuk membantu membuat grafik pada Gambar 1. Seluruh data berasal dari penelitian penulis, dan isi naskah telah diperiksa serta menjadi tanggung jawab penulis.

DAFTAR PUSTAKA

Badriyah, L., & Farihah, D. A. (2022). Analisis ekstraksi kulit bawang merah (*Allium cepa* L.) menggunakan metode maserasi. *Jurnal Sintesis, 1*(3), 30–37.

Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibnsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis, 6*(2), 71–79. https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005

Bhatnagar, M., Sarkar, N., Gandharv, N., Apang, O., Singh, S., & Ghosal, S. (2017). Evaluation of antimycobacterial, leishmanicidal and antibacterial activity of three medicinal orchids of Arunachal Pradesh, India. *BMC Complementary and Alternative Medicine, 17*. https://doi.org/10.1186/s12906-017-1884-z

Clinical and Laboratory Standards Institute. (2025). *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing* (35th ed., CLSI supplement M100). CLSI.

Irianto, I. D. K. (2022). *Senyawa alam sebagai antibakteri dan mekanisme aksinya*. UGM Press.

Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2017). *Farmakope herbal Indonesia* (Edisi II). Kementerian Kesehatan RI.

Kony, P., Komala Sari, & Bayu, S. (2024). Aktivitas antibakteri ekstrak daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) terhadap *Staphylococcus aureus*. *INNOVATIVE: Journal of Social Science Research, 4*(1), 4178–4187.

Kumari, A., Kaundal, R., Kapoor, S., Kumar, S., Singh, D., Walia, Y. K., & Kumar, D. (2024). Comprehensive polyphenolic profiling, antioxidant, antimicrobial, and cytotoxicity studies of *Rhynchostylis retusa* (L.) Blume: A medicinal orchid. *Natural Product Research*. https://doi.org/10.1080/14786419.2024.2370522

Maheshwaran, L., Nadarajah, L., Senadeera, S. P. N. N., Ranaweera, C. B., Chandana, A. K., & Pathirana, R. N. (2024). Phytochemical testing methodologies and principles for preliminary screening/qualitative testing. *Asian Plant Research Journal, 12*(5), 11–38. https://doi.org/10.9734/aprj/2024/v12i5267

Mora, E., Dona, R., Almurdani, A., & Afrani, S. (2025). Isolasi dan uji aktivitas antioksidan senyawa metabolit sekunder ekstrak DCM daun ungu (*Graptophyllum pictum* L. Griff). *Jurnal Penelitian Farmasi Indonesia, 14*(1), 45–53. https://doi.org/10.51887/jpfi.v14i1.2140

Muhammad, A., & Andriyanto, E. (2026). Analisis komparatif metode difusi sumuran dan difusi cakram dalam evaluasi aktivitas antibakteri ciprofloxacin terhadap *Escherichia coli* ATCC 35218. *Jurnal Berkala Ilmiah Kedokteran dan Kesehatan Masyarakat, 4*(1). https://doi.org/10.20885/bikkm.vol4.iss1.art3

Muslikh, F. A., & Winartiana, W. (2024). Profil aktivitas senyawa aktif gigantol dari anggrek ekor tupai (*Rhynchostylis retusa*) sebagai α-glukosidase inhibitor. *JAFI: Jurnal Inovasi Farmasi Indonesia, 5*(2), 87–93. https://doi.org/10.30737/jafi.v5i2.5624

Noorjahan, S. (2024). Phytochemical analysis of root extracts of *Rhynchostylis retusa* (L.) Blume from the Eastern Ghats of India. *Journal of Phytology, 16*. https://doi.org/10.25081/jp.2024.v16.8755

Putri, C. C., & Sholikhah, M. (2025). Formulasi tanaman kunyit (*Curcuma longa* L.) dalam berbagai sediaan farmasi: Systematic literature review. *Jurnal Kesehatan Farmasi Nusantara, 1*(1), 1–6. https://doi.org/10.64465/jkfn.v1i1.8

Rahaman, M. S., Rahaman, M. S., Hasnine, S. M. M., Sultana, S., Bhuiyan, M. A. Q., Kabir, M. S., et al. (2024). In vitro evaluation of the antimicrobial, toxic, anti-arthritic and thrombolytic properties of different parts of plant orchid *Rhynchostylis retusa* (L.) Blume. *Journal of Natural Products Discovery, 3*(1), Article 2348.

Rajan, A., Seeja, G., Sreekumar, S., Biju, C. K., Manjima, M., & Joy, M. (2025). Morphology, reproductive biology and anatomy of the foxtail orchid, *Rhynchostylis retusa* (L.) Blume. *Indian Journal of Agricultural Research, 59*(6), 850–858. https://doi.org/10.18805/IJARe.A-6143

Rijal, M., & Asri, M. (2024). Uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak daun *Psidium guajava* dan perasan *Citrus aurantifolia* terhadap pertumbuhan *Propionibacterium acnes*. *Lentera Bio, 13*(2), 279–288.

Safitri, S. N., Hutagaol, R., Mozef, T., & Nurilmala, F. (2026). Aktivitas antibakteri fraksinasi ekstrak metanol daun *Aglaia shawiana* (Merr.) terhadap strain bakteri standar American Type Culture Collection (ATCC). *Jurnal Saintek, 2*(2), 262–271. https://doi.org/10.33830/saintek.v2i2.13133.2026

Safitri, Y., Gultom, W. R., Tobing, D. A. L., & Sianturi, D. R. (2024). Potensi *Escherichia coli* sebagai resistansi antibiotik. *Algoritma: Jurnal Matematika, Ilmu Pengetahuan Alam, Kebumian dan Angkasa, 2*(5), 8–20. https://doi.org/10.62383/algoritma.v2i5.10943

Sasmita, Fania, U., Sholehah, S., & Sholikhah, M. (2025). Pengembangan sediaan patch berbasis herbal. *Jurnal Kesehatan Farmasi Nusantara, 1*(2), 52–58. https://doi.org/10.64465/jkfn.v1i2.52

Sholikhah, M. (2025). Aktivitas rimpang lengkuas dalam sediaan farmasi: Systematic literature review. *Jurnal Kesehatan Farmasi Nusantara, 1*(1), 23–30. https://doi.org/10.64465/jkfn.v1i1.9

Unok, W., & Mangawing, M. S. (2024). Resistensi antibiotik terhadap infeksi saluran kemih (ISK): Literature review. *Jurnal Kolaboratif Sains, 7*(5), 1822–1828. https://doi.org/10.56338/jks.v7i5.5347

Zaragoza, G., Pérez-Vázquez, M., Villar-Gómara, L., González-Prieto, A., Oteo-Iglesias, J., & Alós, J. I. (2024). Community emergence of cefixime-resistant *Escherichia coli* belonging to ST12 with chromosomal AmpC hyperproduction. *Antibiotics, 13*(3), 218. https://doi.org/10.3390/antibiotics13030218