

UJI ANTIBAKTERI EKSTRAK BATANG GAHARU (*Aquilaria malaccensis*) BERBASIS KOLIN Klorida:ASAM SITRAT TERHADAP *Bacillus cereus* dan *Shigella dysenteriae*

Nahrul Hasan^{1,2*}, Sri Marlina³, Ghalib Syukrillah Syaputra³, Diani Mega Sari³, Ayu Amelia⁴

¹Jurusan Farmasi, Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto, Indonesia

²Research Centre of Rural Health, Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto, Indonesia

³Program Studi Sarjana Farmasi, Institut Kesehatan Mitra Bunda, Batam, Indonesia

⁴Program Studi Pendidikan Profesi Apoteker, Institut Kesehatan Mitra Bunda, Batam, Indonesia

*Penulis Korespondensi: nahrul.hasan@unsoed.ac.id

Abstrak

Infeksi yang disebabkan oleh *Bacillus cereus* dan *Shigella dysenteriae* merupakan masalah kesehatan serius karena dapat menyebabkan gangguan saluran pencernaan serta meningkatkan risiko resistensi antibiotik. Pendekatan yang dilakukan untuk mengatasi masalah ini adalah dengan mengembangkan agen antibakteri baru berbasis bahan alam, seperti tanaman gaharu (*Aquilaria malaccensis*). Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas antibakteri ekstrak batang gaharu yang diperoleh menggunakan *Natural Deep Eutectic Solvent* (NADES) berbahan dasar kolin klorida dan asam sitrat melalui metode *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE). Uji antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram menggunakan berbagai rasio NADES (1:1, 2:1, 1:2, 1:3, 1:4, dan 4:1 g/g), dengan kloramfenikol sebagai kontrol positif dan DMSO 10% sebagai kontrol negatif. Hasil menunjukkan bahwa rasio NADES 1:4 g/g menghasilkan zona hambat terbesar terhadap pertumbuhan *Bacillus cereus* dan *Shigella dysenteriae*. Selain itu, uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) menunjukkan bahwa ekstrak dengan rasio NADES 1:4 mampu menghambat pertumbuhan kedua bakteri pada konsentrasi 30%. Temuan ini mengindikasikan bahwa ekstrak batang gaharu dengan pelarut NADES berpotensi sebagai agen antibakteri yang efektif dan ramah lingkungan.

Kata kunci: antibakteri, NADES, UAE, gaharu, *Bacillus cereus*, *Shigella dysenteriae*

Abstract

Infections caused by *Bacillus cereus* and *Shigella dysenteriae* are serious health problems as they can lead to gastrointestinal disorders and contribute to the emergence of antibiotic resistance. One potential strategy to overcome this challenge is the discovery of new antibacterial agents derived from natural sources, such as agarwood (*Aquilaria malaccensis*). This study aimed to evaluate the antibacterial activity of gaharu stem extract using a *Natural Deep Eutectic Solvent* (NADES) composed of choline chloride and citric acid through the *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE) method. The antibacterial assay was performed using the disc diffusion method with various NADES ratios (1:1, 2:1, 1:2, 1:3, 1:4, and 4:1 g/g), with chloramphenicol as the positive control and 10% DMSO as the negative control. The results indicated that the NADES extract with a 1:4 g/g ratio produced the largest inhibition zones against *Bacillus cereus* and *Shigella dysenteriae*. Moreover, the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) test showed that the 1:4 NADES extract effectively inhibited bacterial growth at a concentration of 30%. These findings suggest that gaharu stem extract prepared with NADES is a promising, eco-friendly, and potent antibacterial agent.

Keywords: antibacterial, NADES, UAE, gaharu, *Bacillus cereus*, *Shigella dysenteriae*

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi masih menjadi salah satu masalah kesehatan utama di dunia, terutama di negara berkembang. Salah satu infeksi yang umum terjadi adalah infeksi saluran pencernaan yang disebabkan oleh bakteri patogen seperti *Bacillus*

cereus dan *Shigella dysenteriae*. *Bacillus cereus* merupakan bakteri Gram positif penghasil toksin yang sering menyebabkan keracunan makanan (gastroenteritis) (McDowell et al., 2025). *S. dysenteriae* adalah bakteri Gram negatif penyebab utama disentri basiler akut melalui penularan fekal-

oral, penyakit yang ditandai dengan diare berdarah dan demam. Infeksi oleh kedua bakteri ini dapat menyebabkan komplikasi serius terutama pada anak-anak dan kelompok dengan imunitas rendah (Aslam et al., 2025; Kotloff et al., 2017).

Meningkatnya kejadian resistensi bakteri terhadap antibiotik sintetik telah mendorong pencarian agen antibakteri baru, salah satunya dari bahan alam. *World Health Organization* (WHO) telah menyatakan resistensi antimikroba sebagai salah satu ancaman terbesar terhadap kesehatan global, keamanan pangan dan pembangunan (World Health Organization, 2020). Laporan dari *Global Antimicrobial Resistance and Use Surveillance System* (GLASS) tahun 2022 menunjukkan peningkatan resistensi terhadap antibiotik lini pertama pada patogen-patogen utama penyebab infeksi (World Health Organization, 2022).

Tanaman obat telah lama digunakan sebagai sumber senyawa bioaktif dengan aktivitas antimikroba, salah satunya adalah gaharu (*Aquilaria malaccensis*). Gaharu dikenal sebagai tanaman penghasil resin aromatik yang banyak digunakan dalam parfum dan pengobatan tradisional, terutama di wilayah Asia Tenggara. Penelitian menunjukkan bahwa batang dan daun gaharu mengandung senyawa flavonoid, fenol, seskuiterpen, dan kromon yang memiliki aktivitas antibakteri, antioksidan, serta antiinflamasi (Aqmarina Nasution et al., 2020; Eissa et al., 2022). Beberapa penelitian melaporkan bahwa ekstrak batang gaharu dengan pelarut metanol dan akuades menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* dan

Escherichia coli (Abd Rashed et al., 2024; Misrahanum et al., 2022)

Penggunaan pelarut organik konvensional (metanol, etanol) dalam ekstraksi senyawa bioaktif menghadapi kendala serius. Pelarut organik ini dalam proses ekstraksi memiliki risiko toksisitas terhadap manusia dan dampak lingkungan (Cannavacciuolo et al., 2022). Oleh karena itu, muncul kebutuhan akan pelarut yang lebih aman dan ramah lingkungan. *Natural Deep Eutectic Solvents* (NADES) merupakan pelarut hijau yang tersusun dari senyawa alami, diantaranya kolin klorida, asam organik (misalnya asam sitrat), gula, dan asam amino (Cannavacciuolo et al., 2022). Salah satu kombinasi NADES, kolin klorida : asam sitrat banyak dipilih karena ramah lingkungan, murah dan bersifat biodegradabel serta berpotensi melarutkan senyawa polar dan non-polar secara efisien (Ali et al., 2023). Studi sebelumnya menunjukkan bahwa kombinasi kolin klorida dan asam sitrat efisien melarutkan senyawa bioaktif tanaman. Ekstraksi antosianin dari buah blueberry, kombinasi NADES ini menghasilkan rendemen senyawa fenolik yang setara dengan pelarut konvensional (asam metanol), namun dengan keuntungan biaya produksi dan dampak lingkungan yang jauh lebih rendah (Jauregi et al., 2024).

Untuk meningkatkan efisiensi ekstraksi senyawa bioaktif dari bahan alam, metode ekstraksi *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE) telah banyak digunakan. Teknologi ini termasuk metode modern yang membutuhkan volume pelarut yang rendah dan konsumsi energi yang efisien, dengan memanfaatkan gelombang ultrasonik untuk menciptakan kavitasi yang menghancurkan dinding sel dan mempercepat pelepasan senyawa aktif ke

dalam pelarut (Carreira-Casais et al., 2021; Chemat et al., 2017). Metode ekstraksi UAE dinilai lebih hemat energi, ramah lingkungan, dan menghasilkan rendemen yang lebih tinggi dibanding metode konvensional seperti maserasi atau sokletasi (Carreira-Casais et al., 2021; Dai et al., 2013).

Penggunaan kombinasi pelarut NADES berbasis kolin klorida dan asam sitrat dengan metode UAE pada ekstrak batang gaharu dan uji terhadap bakteri *Bacillus cereus* dan *Shigella dysenteriae* masih terbatas. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas antibakteri ekstrak batang gaharu dengan berbagai rasio pelarut kolin klorida : asam sitrat menggunakan metode UAE terhadap kedua bakteri patogen tersebut. Hasil penelitian diharapkan dapat membuka arah pemanfaatan gaharu sebagai sumber antibakteri baru dan metode ekstraksi hijau dengan NADES dalam pengembangan tanaman obat.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan utama yang digunakan adalah batang gaharu yang berasal dari Tiban, Kota Batam, Kepulauan Riau dan telah melalui proses determinasi botani di jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas, Padang, Sumatra Barat dengan no 19/K-ID/ANDA/1/2024 yang menyatakan bahwa benar tanaman tersebut adalah gaharu dengan nama latin *Aquilaria malaccensis*. Pelarut yang digunakan kolin klorida, asam sitrat, etanol 96% dan dimetil sulfoksida (DMSO). Pemilihan pelarut NADES kombinasi kolin klorida : asam sitrat didasarkan pada karakteristik yang rendah toksisitas dan efektif melarutkan senyawa metabolit sekunder (Ali et al., 2023).

Mikroorganisme uji yang digunakan adalah *B. cereus* dan *S. dysenteriae*. Kloramfenikol konsentrasi 30 µg/disk digunakan sebagai kontrol positif, sedangkan DMSO 10% sebagai kontrol negatif. Peralatan yang digunakan meliputi *ultrasonic bath* (Branson), oven pengering, desikator, neraca analitik (Kenko, Jepang), autoklaf, inkubator, *rotary evaporator* (Heidolph, Jerman) *laminar airflow* (LAF) *cabinet*, mikropipet (Biohit, Finlandia), serta alat gelas laboratorium standar lainnya.

Prosedur Penelitian

Pembuatan Simplisia

Batang gaharu dibersihkan, dikeringkan dalam oven bersuhu 45–50°C, kemudian dihaluskan menjadi serbuk menggunakan blender dan disimpan dalam wadah tertutup kering. Penetapan kadar air dilakukan secara gravimetri, dengan pengeringan pada suhu 105 °C hingga beratnya konstan (selisih tidak lebih dari 0,25%) (Gawali et al., 2018; Ministry of Health Republic Indonesia, 2017).

Preparasi NADES

NADES disiapkan dengan mencampurkan kolin klorida (ChCl) dan asam sitrat (CA) dalam berbagai rasio molar (1:1, 2:1, 1:2, 1:3, 1:4 dan 4:1 g/g). Campuran masing – masing rasio dipanaskan dan diaduk dengan *magnetic stirrer* secara konstan pada suhu 80°C hingga membentuk cairan homogen. Masing – masing campuran NADES dilakukan penambahan 30% (v/v). Metode ini telah terbukti efektif dalam penyiapan NADES dengan viskositas optimal untuk ekstraksi senyawa bioaktif (Acosta-Vega et al., 2025; Duan et al., 2016; Paiva et al., 2014). Kombinasi kolin klorida dan asam

sitrat dipilih dalam penelitian ini karena bersifat ramah lingkungan, ekonomis, biodegradabel, serta efisien melarutkan senyawa metabolit sekunder pada tanaman (Jauregi et al., 2024).

Metode Ekstraksi Maserasi Dengan Pelarut Etanol 96%

Sebanyak 25 gram simplisia diekstraksi secara maserasi dengan pelarut etanol 96% rasio 1:40. Sampel yang telah tercampur homogen dengan pelarut, ditutup menggunakan plastik wrap dan didiamkan selama 3 x 24 jam dengan pengadukan. Hasil rendaman sampel disaring, kemudian dilakukan evaporasi pada filtrat dengan suhu 60°C dengan kecepatan 80 rpm (Agustina et al., 2018).

Ekstraksi dengan *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE)

Sebanyak 2 gram serbuk gaharu diekstraksi menggunakan masing-masing NADES dengan rasio 1 : 20 ($\frac{b}{v}$). Proses dilakukan dalam *ultrasonic bath* pada suhu 60°C selama 30 menit (frekuensi 40 kHz). Larutan hasil ekstraksi disentrifugasi dengan kecepatan 4.000 rpm selama 10 menit dan dilanjutkan dengan filtrasi pemisahan residu. Metode UAE dipilih karena terbukti meningkatkan efisiensi ekstraksi, menurunkan waktu dan suhu proses, serta melestarikan kestabilan senyawa aktif (Chemat et al., 2017; Rahman et al., 2023).

Uji Aktivitas Antibakteri

Aktivitas antibakteri diuji menggunakan metode difusi cakram pada media *Nutrient Agar*. Suspensi bakteri disesuaikan kekeruhannya dengan standar McFarland 0,5 ($\pm 1,5 \times 10^8$ CFU/mL), kemudian dioleskan merata pada permukaan media. Cakram steril yang telah dibasahi dengan masing – masing

konsentrasi larutan uji 6% diletakkan di atas media. Kontrol positif yang digunakan adalah kloramfenikol 30 µg/disk dalam bentuk cakram steril. Kloramfenikol digunakan karena bersifat spektrum luas dan sensitif terhadap kedua bakteri uji yang digunakan (McDowell et al., 2025). Setelah inkubasi 24 jam pada 37°C, diameter zona hambat diukur. Data diameter zona disajikan sebagai rata - rata $\pm$ 95% *confidence interval* (CI) (Hasan et al., 2022; Indrayanto, 2022; Matuschek et al., 2014).

Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

KHM ditentukan dengan menggunakan metode dilusi padat bertingkat konsentrasi terhadap masing-masing bakteri uji hingga tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri. KHM diidentifikasi berdasarkan konsentrasi terendah dari larutan uji dalam media padat yang tidak menunjukkan pertumbuhan bakteri setelah 24 jam inkubasi dan dilakukan sebanyak 3x replikasi (Balouiri et al., 2016).

Analisis Data

Analisis dilakukan terhadap diameter zona hambat yang diperoleh dari metode difusi cakram. Data disajikan dalam bentuk rerata $\pm$ interval kepercayaan 95% (Gandevia et al., 2021). Validasi metode dilakukan dengan menghitung nilai Z-factor untuk mengukur keandalan dan kualitas pengujian antibakteri. Nilai Z-factor dihitung berdasarkan selisih rerata kontrol positif dan negatif dibagi tiga kali jumlah simpangan baku keduanya. Nilai $Z > 0,5$ menunjukkan bahwa metode yang digunakan tergolong sangat baik dan

dapat direplikasi dengan andal (Indrayanto, 2022; Zhang et al., 1999).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Aktivitas Antibakteri Ekstrak Batang Gaharu terhadap *Bacillus cereus* dan *Shigella dysenteriae*

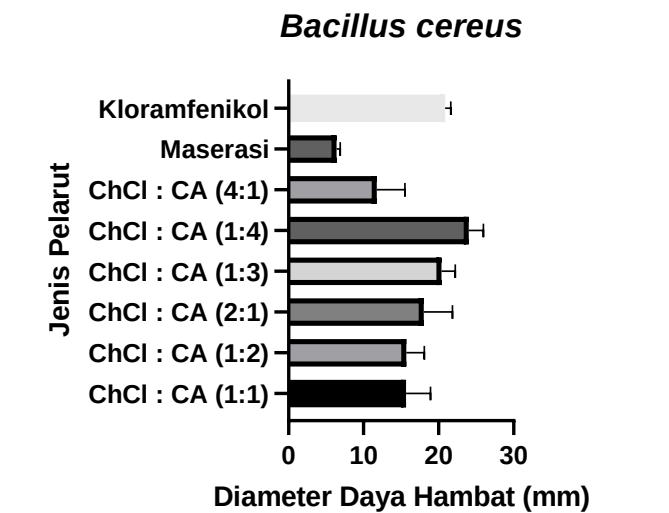
Ekstrak batang gaharu yang di ekstraksi dengan kolin klorida: asam sitrat menunjukkan aktivitas antibakteri moderat hingga sedang. Efektivitas yang lebih besar terhadap *B. cereus* dibanding *S. dysenteriae* konsisten dengan sifat Gram positif yang lebih rentan terhadap banyak antimikroba (dinding sel tebal tetapi tidak berlipo-polimer tebal seperti Gram negatif) (Abd Rashed et al., 2024). Hasil ini konsisten dengan penelitian sebelumnya bahwa komposisi pelarut memengaruhi aktivitas senyawa bioaktif (Grozdanova et al., 2020). Penelitian oleh Garcia-Roldan et al. (2023) juga menunjukkan bahwa polifenol yang diekstraksi dengan NADES memiliki aktivitas antimikroba lebih kuat dibandingkan dengan pelarut etanol, karena NADES turut berperan aktif dalam meningkatkan efek antibakteri ekstrak (García-Roldán et al., 2023).

Tabel 1. Rata-rata Diameter Zona Hambat terhadap *Bacillus cereus* dan *Shigella dysenteriae*

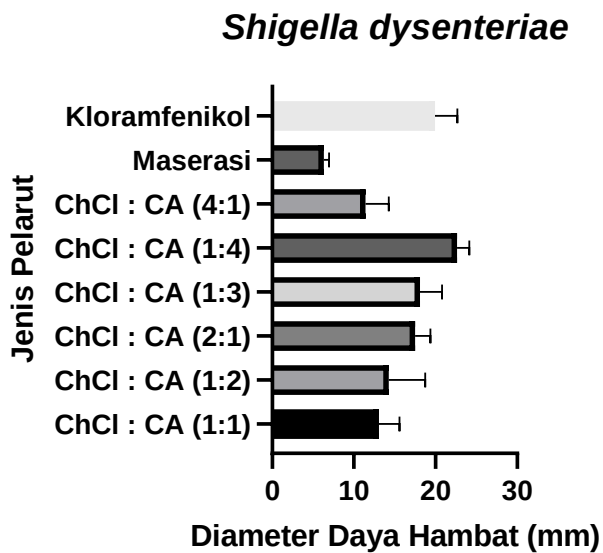
Kelompok Perlakuan	Rata-Rata ± CI <i>Bacillus cereus</i> (mm)	Rata-Rata ± CI <i>Shigella dysenteriae</i> (mm)

ChCl : CA		
(1:1)	15,67±3,34	13,07±2,50
ChCl : CA		
(1:2)	15,70±2,39	14,27±4,57
ChCl : CA		
(2:1)	18,00±3,88	17,50±1,89
ChCl : CA		
(1:3)	20,37±1,87	18,10±2,72
ChCl : CA		
(1:4)	24,00±2,04	22,63±1,50
ChCl : CA		
(4:1)	11,77±3,76	11,43±2,88
Maserasi		
EtOH	6,40±0,50	6,33±0,63
Kloramfenikol	20,87±0,76	19,93±2,74
DMSO 10%	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00

Hasil menunjukkan bahwa NADES kombinasi kolin klorida dan asam sitrat rasio 1:4 menghasilkan zona hambat paling besar terhadap kedua bakteri uji. Hal ini menunjukkan bahwa rasio pelarut NADES yang tinggi dalam asam sitrat (*hydrogen bond donor*) meningkatkan efisiensi pelarutan senyawa aktif yang bersifat polar seperti flavonoid dan fenolik (Dai et al., 2013).

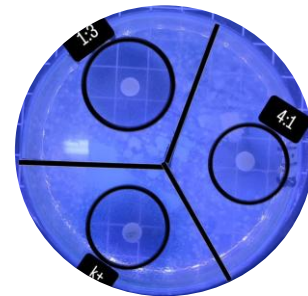


Gambar 1. Diameter Daya Hambat *Bacillus cereus*

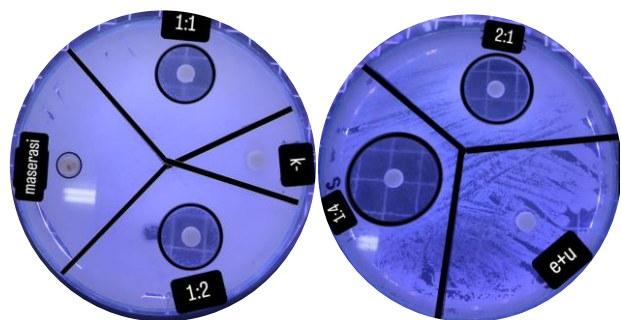


Gambar 2. Diameter Daya Hambat Terhadap *Shigella dysenteriae*

Validasi metode uji antibakteri dilakukan dengan menghitung nilai Z-factor, yang menunjukkan kualitas dan keandalan pengujian. Nilai Z-factor dalam penelitian ini sebesar 0,956 untuk *Bacillus cereus* dan 0,835 untuk *Shigella dysenteriae*, keduanya berada dalam rentang >0,5–1,0 yang mengindikasikan pengujian berkualitas sangat baik. Nilai ini mencerminkan jendela sinyal yang lebar dan variabilitas rendah, sehingga metode yang digunakan dapat diandalkan untuk membedakan perlakuan aktif dan tidak aktif serta layak direplikasi dalam penelitian lanjutan (Indrayanto, 2022; Zhang et al., 1999).



Gambar 3. Hasil Uji Aktivitas Terhadap *Bacillus cereus*



Gambar 4. Hasil Uji Aktivitas Terhadap *Shigella dysenteriae*

Perbandingan Metode Ekstraksi dan Pelarut

Ekstrak gaharu yang dihasilkan dengan metode UAE memiliki daya hambat lebih tinggi dibandingkan maserasi, dimana UAE memanfaatkan gelombang ultrasonik untuk membentuk kavitas yang meningkatkan difusi pelarut ke dalam jaringan sel, sehingga mempermudah pelepasan senyawa bioaktif (Lavilla & Bendicho, 2017). Penelitian oleh Chemat et al. (2017) menunjukkan bahwa UAE mampu meningkatkan efisiensi ekstraksi hingga 3–10 kali dibanding metode konvensional (Chemat et al., 2017).

Sementara itu, pelarut NADES telah terbukti lebih ramah lingkungan dan efisien dibandingkan pelarut organik seperti etanol dan metanol (Paiva et al., 2014). NADES dapat disesuaikan polaritasnya dengan mengatur komposisi komponen penyusunnya, serta memiliki toksisitas rendah dan stabilitas tinggi terhadap senyawa bioaktif (Hayyan et al., 2016).

Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

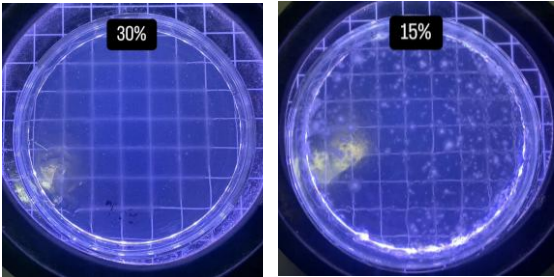
Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) menunjukkan konsentrasi terendah dari ekstrak yang masih menunjukkan aktivitas antibakteri. Pada penelitian ini, KHM ekstrak batang gaharu rasio NADES 1:4 terhadap kedua bakteri uji ditemukan pada konsentrasi 30%.

Tabel 2. Hasil Penentuan KHM Ekstrak Gaharu NADES terbaik

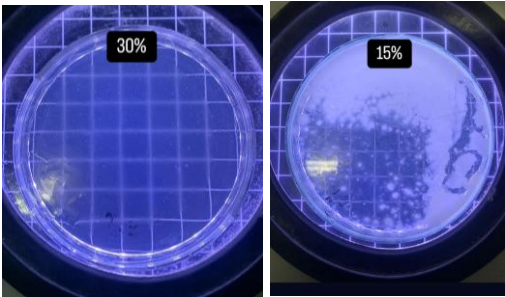
Sampel Uji	<i>B. cereus</i>	<i>S. dysenteriae</i>
NADES	-	-
Konsentrasi 30%		
NADES	+	+
Konsentrasi 15%		
Kontrol Bakteri	+	+

Keterangan (-) = tidak ada pertumbuhan bakteri
(+) = terdapat pertumbuhan bakteri

Hasil ini sejalan dengan penelitian Balouiri et al. (2016) yang menyatakan bahwa nilai KHM ekstrak tanaman berada dalam kisaran 25–100% tergantung jenis senyawa aktif dan jenis mikroba uji (Balouiri et al., 2016).



Gambar 5. Hasil Penentuan KHM Terhadap *Bacillus cereus*



Gambar 6. Hasil Penentuan KHM Terhadap *Shigella dysenteriae*

Efektivitas Ekstrak Gaharu sebagai Antibakteri

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak batang gaharu (*Aquilaria malaccensis*) yang diekstrak menggunakan NADES memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan *Bacillus cereus* dan *Shigella dysenteriae*. Rasio NADES 1:4 (kolin klorida: asam sitrat) menunjukkan zona hambat terbesar, yaitu 24,0 mm terhadap *B. cereus* dan 22,6 mm terhadap *S. dysenteriae*. Hal ini mengindikasikan bahwa ekstrak gaharu mengandung senyawa aktif dengan potensi antibakteri yang signifikan, terutama senyawa fenolik dan flavonoid.

Meskipun penelitian ini belum mencakup skrining fitokimia spesifik terhadap ekstrak gaharu yang dihasilkan, penelitian sebelumnya telah melaporkan bahwa batang gaharu mengandung flavonoid seperti luteolin, apigenin, serta senyawa aromatik lainnya yang bersifat antimikroba (Aqmarina

Nasution et al., 2020; Eissa et al., 2022). Flavonoid bekerja dengan mengganggu fungsi dinding sel, menghambat sintesis asam nukleat dan protein, serta membentuk kompleks dengan enzim bakteri (Cowan, 1999; Cushnie & Lamb, 2011). Aktivitas antibakteri yang lebih tinggi terhadap *B. cereus* (Gram positif) dibanding *S. dysenteriae* (Gram negatif) dapat dijelaskan oleh perbedaan struktur dinding sel bakteri. Dinding sel Gram negatif terdiri dari lapisan lipopolisakarida yang kompleks, yang seringkali menghambat penetrasi senyawa antibakteri (Nazzaro et al., 2013).

Peran Pelarut NADES dalam Efektivitas Ekstraksi

NADES merupakan alternatif pelarut hijau yang efektif, terutama untuk mengekstraksi senyawa bioaktif dari tanaman. Kombinasi kolin klorida sebagai akseptor ikatan hidrogen dan asam sitrat sebagai donor menghasilkan pelarut dengan polaritas tinggi yang mampu mengekstraksi senyawa polar secara efisien (Rahman et al., 2023). Penelitian Paiva et al. (2014) menyebutkan bahwa NADES memiliki kemampuan larut tinggi terhadap senyawa fenolik dan flavonoid, serta stabil dalam berbagai kondisi ekstraksi (Paiva et al., 2014). Dalam penelitian ini, rasio kolin klorida dan asam sitrat 1:4 menunjukkan hasil terbaik, karena terjadi peningkatan konsentrasi asam sitrat memperkuat kapasitas pelarut dalam melarutkan senyawa aktif (Duan et al., 2016).

Dibanding pelarut konvensional seperti etanol, NADES juga lebih ramah lingkungan dan tidak toksik, menjadikannya lebih sesuai untuk aplikasi farmasi dan makanan (Hayyan et al., 2016). Studi oleh Dai et al. (2013) menegaskan bahwa NADES dapat digunakan secara luas untuk ekstraksi bahan

alami tanpa menghasilkan residu berbahaya (Dai et al., 2013).

Peran *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE)

Ekstraksi metode UAE terbukti meningkatkan efisiensi ekstraksi dibanding metode maserasi. UAE bekerja dengan menghasilkan kavitas akustik yang menyebabkan kerusakan mekanik pada dinding sel tanaman, mempercepat pelepasan senyawa aktif ke dalam pelarut (Lavilla & Bendicho, 2017). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak gaharu yang diperoleh dengan UAE memiliki aktivitas antibakteri lebih tinggi dibanding metode maserasi, dikuatkan oleh penelitian Chemat et al. (2017) yang menyatakan bahwa UAE dapat meningkatkan rendemen dan potensi senyawa bioaktif hingga 10 kali lipat dibandingkan metode konvensional (Chemat et al., 2017). Kombinasi NADES dan UAE merupakan pendekatan ekstraksi yang mendukung prinsip kimia hijau, dengan meningkatkan efisiensi sekaligus mengurangi konsumsi energi dan pelarut berbahaya (Anastas & Warner, 2000).

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan, antara lain terbatasnya jenis bakteri uji sehingga belum mencerminkan spektrum antibakteri yang luas, konsentrasi ekstrak aktif yang masih relatif tinggi dalam uji KHM, dan belum dilakukan identifikasi senyawa aktif yang bertanggung jawab terhadap aktivitas antibakteri. Oleh karena itu, penelitian lanjutan disarankan mencakup karakterisasi senyawa bioaktif, uji toksisitas untuk menilai keamanan NADES secara *in vitro*.

Nilai Konsentrasi Hambat Minimum

Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dari ekstrak NADES batang gaharu terhadap kedua bakteri uji

tercatat pada konsentrasi 30%. Ini menunjukkan bahwa ekstrak masih aktif pada konsentrasi rendah, mendekati ambang klinis. Balouiri et al. (2016) menyatakan bahwa $KHM \leq 50\%$ untuk ekstrak tumbuhan mengindikasikan potensi sebagai agen antibakteri yang menjanjikan (Balouiri et al., 2016).

PENUTUP

Kesimpulan

Kombinasi pelarut kolin klorida : asam sitrat dengan rasio 1:4 metode *Ultrasound-Assisted Extraction* (UAE) batang gaharu memiliki aktivitas antibakteri dengan efektivitas tertinggi, ditunjukkan dengan zona hambat terbesar sebesar 24,0 mm untuk *B. cereus* dan 22,6 mm untuk *S. dysenteriae*, serta nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) pada 30% . Hasil ini menegaskan potensi gaharu sebagai sumber senyawa antibakteri alami dan juga mengonfirmasi bahwa kombinasi NADES dan UAE adalah pendekatan ekstraksi hijau yang efektif, efisien, dan berkelanjutan.

Untuk memastikan efektivitas dari ekstrak gaharu ini, diperlukan penelitian lanjutan yang lebih mendalam terkait identifikasi senyawa aktif yang bertanggung jawab terhadap aktivitas tersebut, serta penentuan kadar fenolik maupun flavonoid terkait peningkatan perolehan senyawa dengan NADES. Dengan demikian, ke depannya membuka peluang untuk pengembangan berbasis gaharu yang aman dan ramah lingkungan sebagai alternatif terapi infeksi bakteri.

DAFTAR PUSTAKA

Abd Rashed, A., Jamilan, M. A., Abdul Rahman, S., Amin Nordin, F. D., &

Mohd Nawi, M. N. (2024). The Therapeutic Potential of Agarwood as an Antimicrobial and Anti-Inflammatory Agent: A Scoping Review. *Antibiotics*, 13(11), 1074. <https://doi.org/10.3390/antibiotics13111074>

Acosta-Vega, L., Cifuentes, A., Ibáñez, E., & Galeano Garcia, P. (2025). Exploring Natural Deep Eutectic Solvents (NADES) for Enhanced Essential Oil Extraction: Current Insights and Applications. *Molecules*, 30(2), 284. <https://doi.org/10.3390/molecules30020284>

Agustina, E., Andiarna, F., Lusiana, N., Purnamasari, R., & Hadi, Moch. I. (2018). Identifikasi Senyawa Aktif dari Ekstrak Daun Jambu Air (*Syzygium aqueum*) dengan Perbandingan Beberapa Pelarut pada Metode Maserasi. *Biotropic : The Journal of Tropical Biology*, 2(2), 108–118. <https://doi.org/10.29080/biotropic.2018.2.2.108-118>

Ali, M. A., Kaium, M. A., Uddin, S. N., Uddin, M. J., Olawuyi, O., Campbell, A. D., Saint-Louis, C. J., & Halim, M. A. (2023). Elucidating the Structure, Dynamics, and Interaction of a Choline Chloride and Citric Acid Based Eutectic System by Spectroscopic and Molecular Modeling Investigations. *ACS Omega*, 8(41), 38243–38251. <https://doi.org/10.1021/acsomega.3c04570>

- Anastas, P. T., & Warner, J. C. (2000). *Green Chemistry: Theory and Practice*. Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/oso/9780198506980.001.0001>
- Aqmarina Nasution, A., Siregar, U. J., Miftahudin, & Turjaman, M. (2020). Identification of chemical compounds in agarwood-producing species *Aquilaria malaccensis* and *Gyrinops versteegii*. *Journal of Forestry Research*, 31(4), 1371–1380. <https://doi.org/10.1007/s11676-018-00875-9>
- Aslam, A., Hashmi, M. F., & Okafor, C. N. (2025). *Shigellosis*.
- 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>
- Cannavacciuolo, C., Pagliari, S., Frigerio, J., Giustra, C. M., Labra, M., & Campone, L. (2022). Natural Deep Eutectic Solvents (NADESs) Combined with Sustainable Extraction Techniques: A Review of the Green Chemistry Approach in Food Analysis. *Foods*, 12(1), 56. <https://doi.org/10.3390/foods12010056>
- Carreira-Casais, A., Otero, P., Garcia-Perez, P., Garcia-Oliveira, P., Pereira, A. G., Carpena, M., Soria-Lopez, A., Simal-Gandara, J., & Prieto, M. A. (2021). Benefits and Drawbacks of Ultrasound-Assisted Extraction for the Recovery of Bioactive Compounds from Marine Algae. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(17), 9153. <https://doi.org/10.3390/ijerph18179153>
- Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A.-G., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A.-S., & Abert-Vian, M. (2017). Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 34, 540–560. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.06.035>
- Cowan, M. M. (1999). Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4), 564–582. <https://doi.org/10.1128/CMR.12.4.564>
- Cushnie, T. P. T., & Lamb, A. J. (2011). Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 38(2), 99–107. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2011.02.014>
- Dai, Y., van Spronsen, J., Witkamp, G.-J., Verpoorte, R., & Choi, Y. H. (2013). Natural deep eutectic solvents as new potential media for green technology. *Analytica Chimica Acta*, 766, 61–68.

- <https://doi.org/10.1016/j.aca.2012.12.019>
- Duan, L., Dou, L.-L., Guo, L., Li, P., & Liu, E.-H. (2016). Comprehensive Evaluation of Deep Eutectic Solvents in Extraction of Bioactive Natural Products. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 4(4), 2405–2411. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.6b00091>
- Eissa, M. A., Hashim, Y. Z. H.-Y., Abdul Azziz, S. S. S., Salleh, H. Mohd., Isa, M. L. Md., Abd Warif, N. M., Abdullah, F., Ramadan, E., & El-Kersh, D. M. (2022). Phytochemical Constituents of *Aquilaria malaccensis* Leaf Extract and Their Anti-Inflammatory Activity against LPS/IFN- γ -Stimulated RAW 264.7 Cell Line. *ACS Omega*, 7(18), 15637–15646. <https://doi.org/10.1021/acsomega.2c00439>
- García-Roldán, A., Piriou, L., & Jauregi, P. (2023). Natural deep eutectic solvents as a green extraction of polyphenols from spent coffee ground with enhanced bioactivities. *Frontiers in Plant Science*, 13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1072592>
- Gawali, V., Vikas, G. B., Mahesh, B., Nilam, D. B., Yogita, T. S., & Gawali Vikas, C. B. (2018). Development and evaluation of polyhebral powder formulation as energy booster. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7(3). <https://www.researchgate.net/publication/338188915>
- Grozdanova, T., Trusheva, B., Alipieva, K., Popova, M., Dimitrova, L., Najdenski, H., Zaharieva, M. M., Ilieva, Y., Vasileva, B., Miloshev, G., Georgieva, M., & Bankova, V. (2020). Extracts of medicinal plants with natural deep eutectic solvents: enhanced antimicrobial activity and low genotoxicity. *BMC Chemistry*, 14(1), 73. <https://doi.org/10.1186/s13065-020-00726-x>
- Hasan, N., Rachmayanti, A. S., & Masaenah, E. (2022). Antibacterial activity test of meniran herb extract (*Phyllanthus Niruri* L.) against staphylococcus epidermidis and klebsiella pneumoniae. In *Science Midwifery* (Vol. 10, Issue 5). Online. www.midwifery.iocspublisher.org Journal homepage: www.midwifery.iocspublisher.org
- Hayyan, M., Mbous, Y. P., Looi, C. Y., Wong, W. F., Hayyan, A., Salleh, Z., & Mohd-Ali, O. (2016). Natural deep eutectic solvents: cytotoxic profile. *SpringerPlus*, 5(1), 913. <https://doi.org/10.1186/s40064-016-2575-9>
- Indrayanto, G. (2022). The importance of method validation in herbal drug research. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 214, 114735.

- <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2022.114735>
- Jauregi, P., Esnal-Yeregi, L., & Labidi, J. (2024). Natural deep eutectic solvents (NADES) for the extraction of bioactives: emerging opportunities in biorefinery applications. *PeerJ Analytical Chemistry*, 6, e32. <https://doi.org/10.7717/peerj-achem.32>
- Kotloff, K. L., Platts-Mills, J. A., Nasrin, D., Roose, A., Blackwelder, W. C., & Levine, M. M. (2017). Global burden of diarrheal diseases among children in developing countries: Incidence, etiology, and insights from new molecular diagnostic techniques. *Vaccine*, 35(49), 6783–6789. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2017.07.036>
- Lavilla, I., & Bendicho, C. (2017). Fundamentals of Ultrasound-Assisted Extraction. In *Water Extraction of Bioactive Compounds: From Plants to Drug Development*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809380-1.00011-5>
- Matuschek, E., Brown, D. F. J., & Kahlmeter, G. (2014). Development of the EUCAST disk diffusion antimicrobial susceptibility testing method and its implementation in routine microbiology laboratories. *Clinical Microbiology and Infection*, 20(4), O255–O266. <https://doi.org/10.1111/1469-0691.12373>
- McDowell, R. H., Sands, E. M., & Friedman, H. (2025). *Bacillus Cereus*. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30497598>
- Ministry of Health Republic Indonesia. (2017). *Farmakope Herbal Indonesia* (II). Ministry of Health Republic Indonesia.
- Misrahanum, M., Zahira, A. D., & Saidi, N. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Gaharu (*Aquilaria Malaccensis* Lamk.) Dan Identifikasi Senyawa Dengan Metode GC-MS. *Jurnal Pharmascience*, 9(2), 310–318. <https://ppjp.ulm.ac.id/journal/index.php/pharmascience>
- Nazzaro, F., Fratianni, F., De Martino, L., Coppola, R., & De Feo, V. (2013). Effect of Essential Oils on Pathogenic Bacteria. *Pharmaceuticals*, 6(12), 1451–1474. <https://doi.org/10.3390/ph6121451>
- Paiva, A., Craveiro, R., Aroso, I., Martins, M., Reis, R. L., & Duarte, A. R. C. (2014). Natural Deep Eutectic Solvents – Solvents for the 21st Century. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 2(5), 1063–1071. <https://doi.org/10.1021/sc500096j>
- Rahman, M. K., Fachriyah, E., & Kusriani, D. (2023). Ekstraksi Daun Salam Berbasis Natural Deep Eutectic Solvent dan Pemanfaatannya sebagai Antioksidan. *Greensphere: Journal of*

Environmental Chemistry, 2(2), 7–12.
<https://doi.org/10.14710/gjec.2022.16569>

World Health Organization. (2020).
Antimicrobial resistance.
<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>.
<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>

World Health Organization. (2022). *Global Antimicrobial Resistance Surveillance System (GLASS) Report 2022*.

Zhang, J.-H., Chung, T. D. Y., & Oldenburg, K. R. (1999). A Simple Statistical Parameter for Use in Evaluation and Validation of High Throughput Screening Assays. *SLAS Discovery*, 4(2), 67–73.
<https://doi.org/10.1177/108705719900400206>