

SKRIPSI_20820056_VIO AZELIA ANGGRAINI

by - -

Submission date: 17-Jun-2024 06:49PM (UTC-0700)

Submission ID: 2404497277

File name: SKRIPSI_20820056_VIO_AZELIA_ANGGRAINI.docx (812.49K)

Word count: 4441

Character count: 29355

EFEK EKSTRAK DAUN KECOMBRANG (*Etilingera elatior*) SEBAGAI ANTIBAKTERI ALAMI *Staphylococcus aureus* SECARA IN VITRO

Vio Azelia Anggraini

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mengetahui efek ekstrak daun kecombrang (*Etilingera elatior*) sebagai antibakteri alami *Staphylococcus aureus* sebagai in vitro. Penelitian ini menggunakan lima perlakuan yang terdiri dari K(+) tetrasiklin, K(-) DMSO, P1 konsentrasi 65%, P2 konsentrasi 75%, dan P3 Konsentrasi 85%. Hasil penelitian berdasarkan data ANOVA menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ($p < 0,01$). Kandungan antibakteri ekstrak daun kecombrang antara lain Flavonoid 30,10 mg/kg, Alkaloid 25,25 mg/kg, dan Fenolik 10,50 mg/kg. Kandungan antibakteri ekstrak daun kecombrang (*Etilingera elatior*) yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Kata kunci: Ekstrak Daun Kecombrang, *Staphylococcus aureus*, Tetrasiklin, Zona Hambat

***EFFECT OF KECOMBRANG (Etilingera elatior) LEAF
EXTRACT AS A NATURAL ANTIBACTERIAL Staphylococcus
aureus IN VITRO***

Vio Azelia Anggraini

ABSTRACT

⁴⁶ This research aims to determine the effect of kecombrang leaf extract (*Etilingera elatior*) as a natural antibacterial *Staphylococcus aureus* in vitro. This research used five treatments consisting of K(+) tetracycline, K(-) DMSO, P1 concentration 65%, P2 concentration 75%, and P3 concentration 85%. The results of research based on ANOVA data show very significant differences ($p < 0.01$). The antibacterial content of kecombrang leaf extract includes flavonoids 30.10 mg/kg, alkaloids 25.25 mg/kg, and phenolics 10.50 mg/kg. The antibacterial content of kecombrang leaf extract includes flavonoids 30.10 mg/kg, alkaloids 25.25 mg/kg, and phenolics 10.50 mg/kg. The antibacterial content of kecombrang leaf extract (*Etilingera elatior*) ²⁵ is able to inhibit the growth of *Staphylococcus aureus* bacteria.

Keywords: Combrang Leaf Extract, *Staphylococcus aureus*, Tetracycline, Inhibition Zone

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kecombrang (*Etilingera elatior*), juga dikenal sebagai honje, adalah salah satu jenis rempah-rempah yang telah lama dikenal dan digunakan sebagai pemanis untuk makanan dan obat luka (Hidayat dan Hutapea 1991). Jaffar et al. (2007) menyatakan bahwa pada daun, batang, bunga, dan rizome tanaman kecombrang terdapat sejumlah jenis minyak esensial yang dapat berfungsi sebagai bioaktif. Kandungan minyak esensial daun tertinggi, yaitu 0,0735%, bunga 0,0334%, batang 0,0029%, dan rizome 0,0021% (Hudaya, 2010). Dalam penelitian lain, ditemukan bahwa senyawa dalam ekstrak methanol bunga, daun, dan rimpang kecombrang memiliki sifat antioksidan, antibakteri, dan antikanker (Chan et al., 2007; Habsah et al., 2005).

Senyawa kompleks ini menghalangi integritas membran sel bakteri. Untuk berfungsi sebagai antibakteri, senyawa aktif daun kecombrang membentuk senyawa kompleks yang melawan potensi ekstraseluler. (Nurlaili dkk, 2022). Beberapa contoh senyawa antibakteri yang ditemukan pada daun kecombrang adalah flavonoid, saponin, alkaloid, dan fenolik.

Tubuh menggunakan kulit untuk melakukan banyak hal, seperti menjaga suhunya dan melindunginya dari bakteri, sinar matahari, penyakit, dan tekanan darah. Ketika faktor perlindungan alami tidak cukup dan seringkali akibatnya, bakteri yang melekat pada kulit menyebabkan infeksi, terutama pada kulit yang terluka (Novaryatiin et al., 2018).

Staphylococcus aureus adalah bakteri yang dapat menginfeksi kulit yang terluka (Sim dan Romi, 2009).⁵⁹ Bakteri *Staphylococcus aureus* berbentuk bulat seperti buah anggur dan positif gram. Bakteri ini diduga tinggal di saluran⁵¹ pernapasan atas, muka, tangan, dan rambut. *Staphylococcus aureus* paling sering menyerang luka kulit (Amalia, 2016). Dua hal yang memengaruhi kemampuan *Staphylococcus* untuk menginfeksi adalah antigen dan produksi toksin atau enzim (Quinn et al., 2002). Bakteri *Staphylococcus* ini menyebabkan mastitis, abses, synovitis purulenta, dermafritis, endometritis, dan luka di daerah sekitarnya.

¹¹ 1.2. Rumusan Masalah

1. Bagaimana efek ekstrak daun kecombrang (*Etilingera elatior*) sebagai antibakteri alami *Staphylococcus aureus*. secara in vitro?
2. Bagaimana uji fitokimia daun kecombrang (*Etilingera elatior*)?

1.3. Tujuan

1. Mengetahui efek ekstrak daun kecombrang (*Etlingera elatior*) sebagai antibakteri alami *Staphylococcus aureus*. dengan mengukur zona hambat.
2. Mengetahui uji fitokimia dari daun kecombrang (*Etlingera elatior*).

1.4. Hipotesa

Berdasarkan uraian tersebut, ⁴¹ hipotesis dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

H₀ : Tidak terdapat efek ekstrak daun kecombrang (*Etlingera elatior*) ²³ terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. secara in vitro.

H₁ : Terdapat efek ekstrak daun kecombrang (*Etlingera elatior*) ²³ terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. secara in vitro.

⁴² 1.5. Manfaat Hasil Penelitian

1. Diharapkan bahwa penelitian ini akan memberikan informasi ilmiah tentang bagaimana ¹³ ekstrak daun kecombrang (*Etlingera elatior*) mempengaruhi bakteri *Staphylococcus aureus* secara in vitro.
2. Hasilnya dapat digunakan sebagai dasar untuk penelitian lain.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Daun Kecombrang

Menurut Darwis et al. (1991),¹⁰ klasifikasi ilmiah tanaman kecombrang adalah sebagai berikut: Kerajaan: Plantae; Divisi: Magnoliophyta; Kelas: Liliopsida; Ordo: Zingiberales; Famili: Zingiberaceae; Genus: *Etilingera*; Spesies: *Etilingera elatior*. Di Thailand, Malaysia, Indonesia, dan New Guinea, genus *Etilingera* sangat umum. Hutan sekunder sering terdiri dari tanaman yang tingginya mencapai 8 meter (Poulsen, 2007). Kecombrang adalah tumbuhan dari keluarga⁸ *Zingiberaceae* yang tersebar luas di Indonesia.

Kecombrang adalah semak tahunan yang tumbuh tegak dengan batang dan rumpun berpelepah hijau. Daun tunggal memiliki pertulangan berbentuk lanset dan menyirip. Tajuk ada di mahkota bunga merah jambu. Dalam bongkol yang hampir bulat berwarna putih atau merah jambu, buah berjejalan. Mereka memiliki banyak biji dan berwarna coklat kehitaman. Kecombrang memiliki akar berbentuk serabut dan rimpang yang tebal berwarna kuning hingga coklat (Anonim, 2000).

Terpenoid, saponin, tanin, dan sterol adalah bahan kimia yang ditemukan dalam rimpang kecombrang⁸ (Lachumy et al., 2010; Chan, 2009; Ruslan dkk., 1984). Flavonoid kaemferol dan kuersetin ditemukan pada daun dan bunga kecombrang⁸ (Chan et al., 2007; Mien dan Mohamed, 2001). Senyawa fenolik

adalah bahan alam yang sangat populer saat ini. Karena kemampuan mereka untuk berfungsi sebagai senyawa biologik aktif, sangat bermanfaat bagi manusia. Salah satunya bertindak sebagai antioksidan, mencegah dan mengobati penyakit degeneratif seperti kanker, penuaan dini, penyakit sistem imun tubuh yang rusak, dan lainnya (Apsari dan Susanti, 2011). Flavonoid juga ada di hampir semua bagian tumbuhan, seperti buah, akar, daun, dan kulit luar batang. Sebagian besar tanaman obat yang mengandung flavonoid memiliki sifat antioksidan, antibakteri, antivirus, antiradang, antialergi, dan antikanker, menurut Miller (1996).

2.1.1 Morfologi daun kecombrang (*Etilingera elatior*)



Gambar 2. 1 Daun Kecombrang (Widiya, dkk. 2021)

Kecombrang (*Etilingera elatior*) memiliki batang yang membesar dipangkal dan berbentuk semu bulat. Batang-batanganya berdekatan dan tegak. Akar kecombrang berwarna kuning gelap. Kecombrang memiliki daun 15–30 helai dengan dua baris berselang-seling. Batang semu helaian daun berbentuk lonjong berukuran 20–90 cm x 10-20 cm, dengan pangkal membulat berbentuk jantung.

Ketika masih muda, tepinya bergelombang dan ujungnya meruncing pendek gundul, dihiasi dengan bintik-bintik halus yang rapat dan berwarna hijau terang. Kecombrang memiliki bunga dalam karangan gasing panjang 0,5-2,5 m x 1,5-2,5 cm. Pelindungnya berwarna merah jambu hingga merah terang dengan daging berbentuk jorong 7-18 cm x 1-7 cm. Saat bunga mekar, bentuknya melengkung dan berputar. Kelopak berbentuk tabung dan berukuran 4 cm dan berwarna merah jambu (Fardi, 2022).

2.1.2 Manfaat dan Kandungan Daun Kecombrang (*Etilingera elatior*)

Flavonoid, saponin, dan tanin ditemukan di tanaman kecombrang. Daunnya mengandung saponin, flavonoid, tanin, dan alkaloid. Selain itu kulit luar batang, buah, dan akar kecombrang juga mengandung flavonoid. Zat antibakteri memiliki kemampuan untuk menghentikan aktivitas bakteri tertentu, termasuk aktivitas yang dilakukan oleh bakteri. Untuk menghindari habitatnya, senyawa ini dibuat dalam jumlah kecil dan tidak terus-menerus. Selain itu, tidak terlibat dalam proses metabolisme utama, atau primer. Banyak flavonoid daripada berbagai variasi struktur. Salah satu kelompok polifenol, flavonoid (Silalahi, F. 2017).

2.1.3. Mekanisme Kerja Antibakteri Daun Kecombrang

Salah satu cara flavonoid menghambat fungsi membran sel adalah dengan membuat senyawa yang kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut, yang dapat merusak membran sel bakteri sebelum senyawa intraseluler keluar (Nuria et

al., 2009). Studi lain menunjukkan bahwa mekanisme flavonoid juga menghentikan ikatan enzim seperti ATPase dan phospholipase (Li et al., 2003). Flavonoid memiliki kemampuan untuk menghentikan metabolisme energi dengan mencegah bakteri menggunakan oksigen. Ini dilakukan dengan menghentikan sitokrom C reduktase, sebuah proses yang menghambat pembentukan metabolisme. Biosintesis makromolekul membutuhkan energi, menurut Cushnie et al. (2005).

Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel. Akibatnya, saponin menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri dan merusak permeabilitas membran, yang sangat mengganggu kehidupan bakteri (Harborne, 2006). Saponin berdifusi melalui membran luar dan dinding sel yang rentan (Madduluri, et al., 2013).

Senyawa fenolik adalah bagian dari banyak senyawa tumbuhan. Salah satu atau lebih gugus hidroksi (OH-) dan gugus penyertanya terdiri dari cincin aromatik fenolik. Sebagian besar senyawa fenol dikenal sebagai polifenol karena memiliki lebih dari satu gugus hidroksil (Christalina et al., 2013). Sebagai antibakteri, fenolik merusak dinding sel dan enzim bakteri (Mhaske et al., 2012). Senyawa alkaloid menggunakan sifat reaktif gugus basa alkaloid. Ketika alkaloid berinteraksi dengan bakteri, gugus basa alkaloid akan bereaksi dengan DNA bakteri dan asam amino yang membentuk dinding sel bakteri. Dinding sel adalah komponen utama inti sel dan tempat semua kegiatan sel diatur. Sebagian besar asam

amino mengalami struktur dan susunan yang berbeda sebagai akibat dari reaksi ini (Suryani et al., 2019).

2.2 *Staphylococcus aureus*



¹³ **Gambar 2. 2.** Bakteri *Staphylococcus aureus*. (Wijaya, 2019)

Staphylococcus bakteri yang umum ditemukan pada kulit dan membran mukosa alat pernapasan dan pencernaan. *Staphylococcus* juga ditemukan pada makanan seperti daging dan susu (Quinn et al. 2002). Penyebab infeksi *Staphylococcus* yaitu adanya substansi antigen maupun produksi toksin atau enzim. Synovitis purulenta, mastitis, dermafritis, endometritis, abses, lesi di sekitar mata, dan infeksi saluran perkemihan adalah beberapa contoh bakteri *Staphylococcus* (Gotz et al., 2006). *Staphylococcus* termasuk dalam kategori ³⁰ berikut: Kerajaan: Bakteri, Filum: *Firmicutes*, Kelas: *Bacilli*, Ordo: *Bacillales*, Famili: *Staphylococcaceae*, Genus: *Staphylococcus aureus*.

Staphylococcus aureus berkembang paling baik dalam lingkungan aerob dengan pH ideal 7,4 lempengnya media, diameternya 1-2 mm, koloni berbentuk

⁵⁸ konsistensi lunak. Warna khasnya adalah kuning keemasan, dengan intensitas yang berbeda. Zone hemodialisis mengelilingi lempeng karena darah biasanya lebih besar dan koloninya lebih besar pada spesies tertentu (Tammi, 2015). *Staphylococcus* adalah ² bakteri gram positif berbentuk bulat berdiameter 0,7–1,2 μm dengan kelompok yang tidak teratur seperti buah anggur, mungkin anaerob, tidak membentuk spora, dan tidak bergerak. *Staphylococcus* dapat membelah dan masuk ke dalam jaringan serta menghasilkan bahan ekstraseluler yang dapat menyebabkan penyakit. Beberapa bahan ini adalah enzim, dan yang lain dapat bermetamorfosis menjadi toksin. Nontoksin, eksotoksin, dan enterotoksin adalah tiga jenis metabolit *Staphylococcus aureus*, menurut Wijaya (2019).

⁹ Bakteri ini juga ada di udara dan di sekitar kita sebagai akibat dari metabolit yang dihasilkan, atau patogenesisnya. *Staphylococcus aureus* adalah bakteri paling berbahaya dari kelompok *Staphylococcus* sp. karena bersifat infasif, menyebabkan hemolisis, menghasilkan koagulase, mencairkan gelatin, membuat pigmen kuning emas, dan menghasilkan manitol (alkohol gula). Bakteri ini dapat menyebabkan penyakit seperti faringitis, sepsikemia, endokarditis, osteomielitis, sistitis, dan pielitis. Peradangan setempat adalah salah satu karakteristik infeksi bakteri ini. Bakteri ini sering ¹³ menyebar melalui pembuluh darah dan pembuluh getah bening, menyebabkan trombosit dan peradangan vena (Tammi, 2015).

2.3 Tetrasiklin

Tetrasiklin, antibiotik berspektrum luas yang pertama kali ditemukan pada tahun 1940-an, berfungsi untuk menghentikan sintesis protein dengan mencegah perlekatan aminoasil-tRNA ke akseptor ribosom. Gram positif dan gram negatif, termasuk klamidia, mikoplasma, riketsia, dan protozoa parasit. Tetrasiklin banyak digunakan untuk mengobati infeksi pada manusia dan hewan karena kemampuan aktifnya sebagai antimikroba tanpa efek samping yang signifikan. Meskipun demikian, resistensi mikroba telah mengurangi kinerjanya. Dengan munculnya resistensi bakteri terhadap tetrasiklin, penelitian lebih lanjut difokuskan pada pemeriksaan kuantitatif dan kualitatif tetrasiklin (Esati dkk, 2023).

Tetrasiklin, dengan spektrum antibakterinya yang luas, melawan kuman gram positif dan gram negatif, seperti penisilin, streptomisin, dan kloramfenikol. Selain itu, ia dapat menghentikan pertumbuhan riketsia, amuba, klamidia, dan mikoplasma. Tetrasiklin adalah salah satu antibiotik yang memiliki sifat bakteriostatik (Pratiwi, 2017). Menghentikan pembentukan protein di subunit 70 dan 80 ribosom adalah cara pertama tetrasiklin bekerja. Mekanisme yang digunakan tetrasiklin untuk menghentikan ikatan aminosial-tRNA pada reseptor penerima ribosom ditunjukkan dengan penghentian ikatan ini. Tetrasiklin mencegah pembentukan peptida atau termin translokasi, tetapi mencegah rantai peptida di kodon terminasi. Mekanisme yang digunakan tetrasiklin untuk masuk

ke dalam sel bakteri mungkin mirip dengan cara menghentikan pembuatan protein baru dan perubahan struktur (Wasitaningrum, 2009).

12 Grup Antibiotik	Antibiotik	Isi disk (µg)	Diameter zona hambat (mm)		
			S	I	R
Tetrasiklin	Oksitetrasiklin	30	≥15	12-14	≤11

Tabel 2.1 Standar Interpretasi CLSI 2021 untuk Diameter Zona Hambat

12
Keterangan : (S): *susceptible*, (I): *intermediate*, (R): *resistant*

2.4 Antibakteri

Bakteri *Staphylococcus aureus* mudah berkembang biak karena dapat hidup pada suhu sekitar 30 derajat Celcius, yang merupakan suhu ideal di mana bakteri dapat bertahan hidup (Mustika, 2018). Antibakteri terbagi menjadi dua kategori: bakteriostatik, yang menghambat perkembangan bakteri, dan bakterisidal, yang memiliki kemampuan untuk membunuh bakteri (Safitri 2016). Bakteri vegetatif dibunuh oleh antibakteri (Pelczar dan Chan, 1988). Ini memiliki kemampuan untuk menghentikan perkembangan dan penyebaran bakteri. Untuk memperpanjang masa penyimpanan makanan, senyawa yang dikenal sebagai antibakteri bertindak sebagai pengawet dan mencegah perkembangan mikroba. Seberapa efektif bahan pengawet antibakteri dipengaruhi oleh jenisnya dan konsentrasinya. Biasanya

hanya bersifat bakteriostatik, karena tidak ada pengawet makanan yang ditambahkan (Supardi dan Sukamto, 1999).

2.5 Metode Uji Sensitivitas Antibakteri

Area hambat yang terbentuk di sekitar kertas cakram yang diukur dengan jangka sorong menunjukkan sifat antibakteri. Untuk menunjukkan sifat antibakteri ekstrak daun kecombrang terhadap *S. aureus*, metode disc diffusion dengan media MSA yang dikenal sebagai Mueller Salt Agar digunakan. FDA dan WHO telah merekomendasikan media Mueller Hinton Agar untuk tes antibakteri, khususnya bakteri aerob dan potensi bakteri anaerobik, untuk penelitian ini. Media agar ini juga telah terbukti efektif dan tetap *up-to-date*. Peneliti menggunakan metode disc diffusion atau kertas cakram karena bakteri yang ditanam dalam media memerlukan oksigen untuk tumbuh. Ketika piringan atau kertas cakram yang mengandung agen antimikroba diletakkan di media agar yang telah ditanami mikroorganisme, agen antimikroba akan berdifusi ke dalam media agar. Area jernih menunjukkan bahwa agen antimikroba mencegah mikroorganisme berkembang biak di permukaan media agar (Pratiwi, 2008).

Tetrasiklin dipilih sebagai kontrol positif dalam penelitian ini karena berspektrum luas dan efektif untuk bakteri gram positif dan gram negatif serta mikroorganisme lainnya (Mycek, 2001). Sebagaimana dinyatakan oleh Olson

(2004), mekanismenya adalah untuk menghentikan sintesis protein. Ini menunjukkan bahwa ujung aminoasil t-RNA tidak dapat bergabung dengan enzim yang dikenal sebagai peptidil tranferase, yang berfungsi untuk menghubungkan asam amino ke rantai peptide selama proses sintesis protein.

2.6 Pengukuran Zona Hambat

Zone hambat adalah ruang jernih di sekitar sumur media pertumbuhan bakteri uji yang tidak ditumbuhi bakteri (Putri dkk., 2016). Untuk melakukan pengamatan, jangka sorong digunakan untuk mengukur area bening yang terbentuk, yang disebut sebagai zona hambat.

Diameter (mm)	Kekuatan daya hambat
≤ 5	Lemah
6-10	Sedang
11- 20	Kuat
≥ 21	Sangat kuat

Tabel 2.2 Diameter Zona Hambat (Surjowardojo, dkk. 2015).

3.1 Lokasi Dan Waktu Penelitian

Studi ini dilakukan pada Januari 2024 di Laboratorium Bakteriologi Universitas Muhammadiyah Sidoarjo.

3.2 Materi Penelitian**3.2.1 Alat Penelitian**

Untuk penelitian yaitu tabung reaksi, gelas ukur, autoklaf, cawan petri, *micropipette*, pipet steril, inkubator, vortex, *laminar air flow*, api bunsen, kapas swab steril, ose, jangka sorong, *cakram disk*, *black disk*, pinset, *object glass*, *aluminium foil*, penutup kaca, *juicer*, label, tissue.

3.2.2 Material Penelitian

Untuk penelitian yaitu biakan *Staphylococcus aureus.*, daun kecombrang yang didapatkan secara online, media *Muller Salt Agar* (MSA), etanol 96%, ekstrak daun kecombrang, *standard larutan Mc*, *farland 0.5*, pelarut *Dimetil Sulfoksida* (DMSO), krista violet, alkohol 96%, antibiotik tetrasiklin.

57

3.3 Metodologi Penelitian

3.3.1. Kategori Penelitian

Metode **eksperimental** mengenai efek ekstrak daun kecombrang sebagai antibakteri alami dibandingkan dengan antibiotik tetrasiklin terhadap *Staphylococcus aureus*.

3.3.2 Variabel Penelitian

- **Variabel Bebas**

Ekstrak daun kecombrang dengan konsentrasi 65%, 75%, 85%, kontrol positif, antibiotik tetrasiklin 30 μ g, kontrol negatif DMSO.

- **Variabel Terikat**

Daya hambat ekstrak daun kecombrang *Staphylococcus aureus* media *Mueller Hinton Agar*(MHA) terbentuk dalam millimeter (mm).

- **Variabel Kendali**

Asal *Staphylococcus aureus* dan Daun kecombrang.

3.4 Teknik Pengambilan Sampel

Jumlah ulangan perlakuan lima. Jadi sampel yang di gunakan adalah 25 cawan petri.

18

3.4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian eksperimental dengan rancangan acak lengkap (RAL), menggunakan lima perlakuan, lima ulangan:

66

- Kontrol negatif menggunakan DMSO
- Kontrol positif menggunakan tetrasiklin
- P1 menggunakan daun kecombrang 65%
- P2 menggunakan daun kecombrang 75%
- P3 menggunakan daun kecombrang 85%

1

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Pembuatan Ekstrak Daun Kecombrang

Daun kecombrang didapat online sebanyak sepuluh kilogram dengan berbentuk kering lalu di blender dan diayak dengan ayakan mesh ukuran 40. Daun kecombrang yang menjadi serbuk ditimbang sebanyak 500 gram. Daun kecombrang yang telah menjadi serbuk di kirim ke Laboratorium Bakteriologi Universitas Muhammadiyah Sidoarjo untuk dibuat suspensi ekstrak dengan metode maserasi. Ekstrak dibuat dengan cara mencampur daun kecombrang yang telah halus. Proses dengan sesekali diaduk sehingga seluruh zat dapat tersari, diuapkan dengan *Rotary evaporator*. Penguapan dilakukan sampai menjadi kental. Hasil ekstrak kemudian dibuatkan konsentrasi perlakuan dengan dicampur DMSO. Konsentrasi dibutuhkan adalah 65%, 75%, 85%.

- Pembuatan Konsentrasi 65%

Pembuatan ekstrak dengan konsentrasi 65% yaitu, 650 μ l ekstrak daun kecombrang di campur dengan DMSO 350 μ l sampai volume 1 ml.

- Pembuatan Konsentrasi 75%

Pembuatan ekstrak dengan konsentrasi 75% yaitu, 750 μ l daun kecombrang di campur dengan DMSO 250 μ l sampai volume 1 ml.

- Pembuatan Konsentrasi 85%

Pembuatan ekstrak dengan konsentrasi 85% yaitu, 850 μ l daun kecombrang di campur dengan DMSO 150 μ l sampai volume 1 ml.

3.5.2 Isolasi dan Identifikasi *Staphylococcus aureus*.

1. *Mueller Salt Agar* (MSA)

Tahap pelaksanaan dimulai dengan membeli isolat murni di Universitas Muhamadiyah Sidoarjo. Selanjutnya mengambil satu koloni bakteri *Staphylococcus aureus*. dari *Mueller Salt Agar*(MSA) dengan ose. Kemudian bakteri *Staphylococcus aureus* di streak pada media *Mueller Salt Agar*(MSA) untuk peremajaan, inkubasi dengan suhu 37°C selama 24 jam. Lalu isolasi *Staphylococcus aureus*. koloni bakteri yang tumbuh *Staphylococcus* berwarna kuning, sehingga media MSA akan berubah dari warna Setelah isolasi *Staphylococcus aureus*, koloni

bakteri *Staphylococcus aureus* menjadi kuning, yang menyebabkan media MSA menjadi kuning (Karimela, dkk., 2017).

2. Pewarnaan gram

Pewarnaan gram dimulai menggunakan satu koloni *Staphylococcus aureus*. dengan ose, lalu letakkan ke objek gelas yang sudah ditetesi aquadest. Kemudian tetesi dengan pewarna *kristal violet* selama satu menit dan warna dibuang, setelah satu menit, lalu dilunturkan alkohol 90%, 30 detik. Alkohol dibuang dengan aquades dan diberi pewarnaan kedua safraniin, kemudian dikeringkan, diamati dengan mikroskop. Hasil pewarnaan gram berbentuk coccus, berkelompok dan berpasangan seperti buah anggur, berwarna ungu dan tidak membentuk spora berarti gram positif.

3.5.3 ⁵⁶ Uji Biokimia

- **Triple Sugar Iron Agar (TSIA)**

Untuk menginokulasikan isolat pada TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*), bagian butt ditusuk dan slant zig-zag. 24 jam, saat biakan diinkubasi pada suhu 37 derajat Celcius diamati. Jika lereng (slant) media berwarna merah dan dasar (butt) berwarna kuning, bakteri dapat memfermentasi glukosa. Jika lereng (slant) dan dasar (butt) media berwarna kuning, bakteri dapat memfermentasi glukosa, laktosa, dan sukrosa. Apabila terbentuk gas, media berwarna hitam dan terangkat atau pecah setelah bakteri dapat mendesulfursasi asam amino (Kursia, 2020).

- **Uji Katalase**

Jarum ose digunakan untuk mengisolasi ose bakteri untuk menguji katalase. Selanjutnya, bahan ini diletakkan pada benda kaca dan diteteskan dengan satu tetes larutan H₂O₂. Toelle et al. (2014) menunjukkan bahwa *Staphylococcus* sp. menggunakan katalase untuk melindungi diri dari hidrogen peroksida (H₂O₂) dengan mengubahnya menjadi air dan oksigen. Uji katalase dapat digunakan untuk mengidentifikasi kelompok bakteri tertentu. Uji katalase pada bakteri kokus mengidentifikasi Streptococcus dan *Staphylococcus*. *Staphylococcus* memberi hasil positif, sedangkan Streptococcus memberi hasil negatif (Lay 1994).

- **Uji Metil Red-Voges Proskauer(MR- VP)**

Uji Metil Red-Voges Proskauer (MR-VP) dilakukan dengan menginokulasikan 1 ose biakan ke dalam media MR-VP dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Kemudian, setengah media MR-VP dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril lain, yang disebut tabung reaksi A dan tabung reaksi B. Pada suhu 37°C, uji VP dilakukan pada tabung reaksi A dengan meneteskan dua tetes reagen α-naphtol dan kalium hidroksida ke dalam

3.5.4 Pembuatan Suspensi *Staphylococcus aureus*.

Setelah bakteri uji diberikan injeksi, kawat ose steril digunakan untuk mengambil bakteri uji. Selanjutnya, bakteri disuspensikan ke dalam tabung berisi 2 mililiter larutan natrium klorida 0,9 persen hingga kekeruhannya setara dengan

standar kekeruhan larutan 0,5 McFarland. Setiap jenis bakteri yang diuji diberi perawatan yang sama (Mpila et al., 2012).

3.5.5 Uji Sensitivitas Daun Kecombrang Terhadap *Staphylococcus aureus*

Uji sensitivitas kecombrang dilakukan difusi cakram disk. Suspense bakteri yang telah diuji dengan standart Mc. Farland 0,1ml ditetaskan Mueller Hinton Agar(MHA) setelah itu diratakan dengan menggunakan metode streak. Kertas cakram yang telah direndam kedalam ekstrak daun kecombrang 65%, 75%, dan 85% masing- masing konsentrasi ditempelkan pada cawan diatasnya. Pada setiap cawan petri media Mueller Hinton Agar(MHA) berisi 2 kelompok yaitu kontrol berupa kontrol negatif(DMSO) dan kontrol positif(tetrasiklin) dan kelompok perlakuan berupa konsentrasi 65%, 75%, dan 85%. Beri label pada masing-masing cawan petri yang telah diletakkan kertas cakram dengan masing- masing perlakuan dan kontrol. Kemudian petri didalam incubator 24jam 37°C. Pengamatan hasil dari uji sensitivitas antibakteri ekstrak daun kecombrang, yaitu dengan mengamati zona jernih diukur dengan jangka sorong.

3.5.6 Pengamatan Zona Hambat

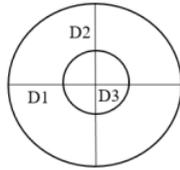
Bening yang terbentuk kepekaan bahan uji antibiotic, ekstrak antibakteri. Hasil tes ditunjukkan dengan lebar zonahambat kemudian dikategorikan (Saputera dkk., 2019). Zonahambat diukur secara vertical-horizontal jangka sorong millimeter(mm).

$$\text{Zonahambat} = \frac{(D1-D3)+(D2-D3)}{2}$$

Keterangan : D1 = Diameter horizontal

D2 = Diameter vertical

D3 = Diameter kertas cakram (± 6 mm)



3.5.7 Uji Fitokimia

a. Flavonoid

Sampel dalam HCL pekat ditambah amil alcohol, apabila memberikan warna jingga maka reaksi positif.

b. Alkaloid

Pengujian menggunakan tiga reagen :mayer, bouchardat, dragendorf negatif dihasilkan endapan putih/ kuning untuk reagen mayer, larutan coklat hitam untuk reagen bouchardat, dan endapan merah bata untuk reagen dragendorf.

c. Saponin

Uji saponin dilakukan dengan reagen HCI 2N diketahui positif yang ditandai terbentuknya busa setelah pengocokan.

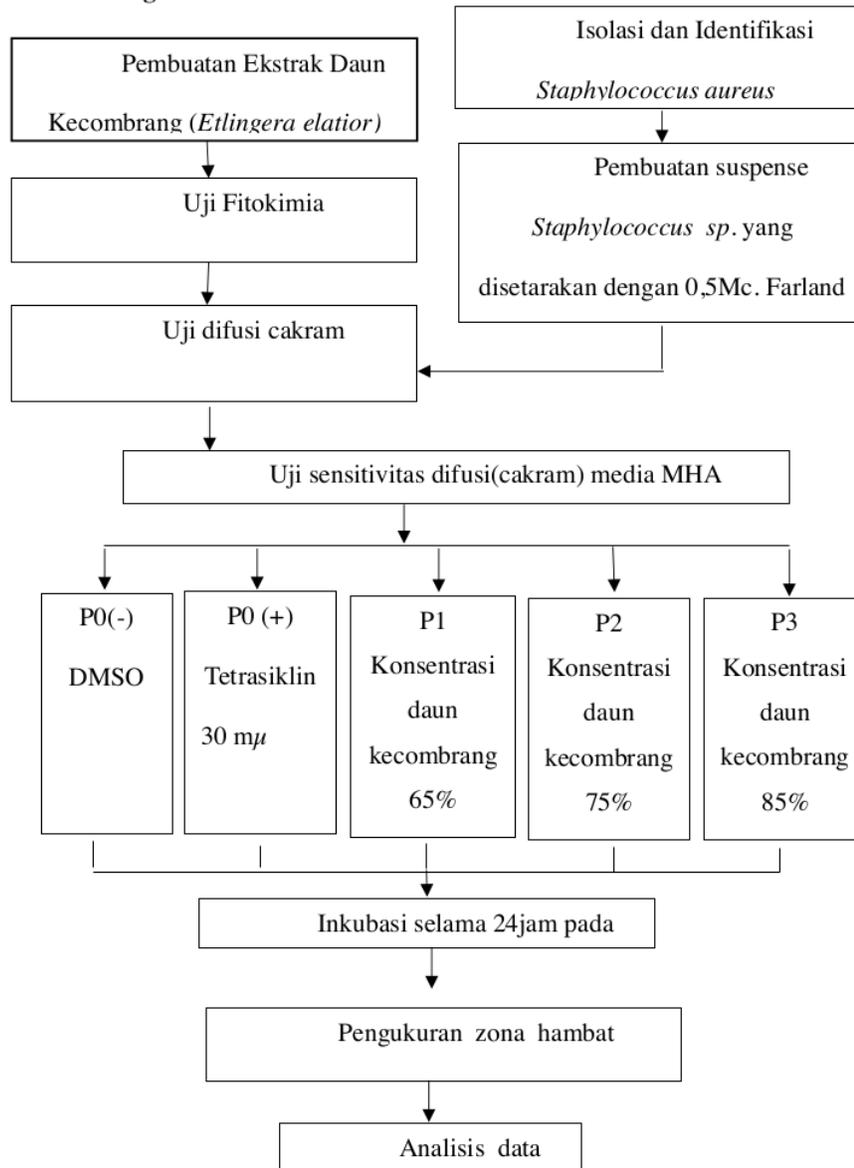
d. Tanin

Dilarutkan dengan reagen FeCl_3 1% dimasukkan ke dalam cawan petri, dimana negatif memberikan warna larutan hijau kehitaman.

3.6 Parameter Penelitian

Luas zonahambat diukur dari zona bening disekitar kertas cakram yang menunjukkan seberapa rentan bakteri terhadap zat antibiotik atau sampel ekstrak yang digunakan (Widhowati dkk., 2022).

3.7 Kerangka Penelitian



28 3.8 Analisis Data

Untuk mengetahui efektivitas daun kecombrang sebagai antibakteri alami terhadap *Staphylococcus aureus*. dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap(RAL). Data yang dianalisis dengan *Analysis of Variance*(ANOVA) dan taraf $\alpha=0,05$. Untuk menentukan peringkat efektivitas signifikan perlakuan digunakan uji jarak Duncan dengan taraf kepercayaan $\alpha=0,05$

1 IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil

4.1.1. Diameter Zona Hambat

Dalam studi, setiap perlakuan diuji lima. Metode difusi digunakan untuk mengukur lebar zona penghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Konsentrasi ekstrak daun kecombrang yang berbeda diuji (Panagan & Syarif, 2009). Penelitian ini menggunakan media *Mueller Hinton Agar* (MHA).

Tabel 4.1. Hasil Analisis Data Masing- Masing Perlakuan

Perlakuan	Rata – Rata ± Standar Deviasi
Kontrol +	16.9500 ± 1,594 ^a
Kontrol –	6.7460 ± 0,445 ^b
P1	12.7120 ± 0,591 ^c
P2	13.7880 ± 0,729 ^c
P3	13.2000 ± 0,461 ^c

Keterangan: Terdapat perbedaan sangat nyata ($p < 0,01$)

Berdasarkan ANOVA antar kontrol menandakan berbeda nyata, namun antar perlakuan konsentrasi tidak ada perbedaan yang sangat nyata. Hasil ini kemudian menampilkan bahwa kontrol positif (tetrasiklin), kontrol negatif (DMSO),

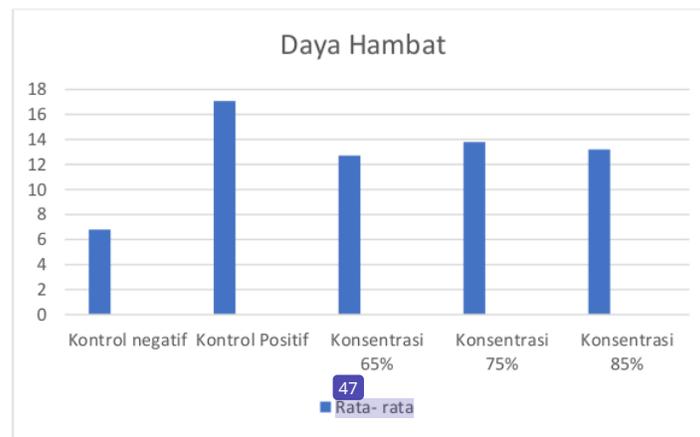
³⁹ P1(ekstrak daun kecombrang 65%), P2(ekstrak daun kecombrang 75%), dan P3 (ekstrak daun kecombrang 85%). P1 huruf sama pada kolom sama nilai $12.7120 \pm 0,591^{\circ}$ berbeda nyata atau tidak memiliki nilai yang sama dengan P2 dan P3 dengan rata- rata $13.7880 \pm 0,729^{\circ}$ dan $13.2000 \pm 0,461^{\circ}$.

Tabel 4.2. Hasil Pengukuran Zona Hambat

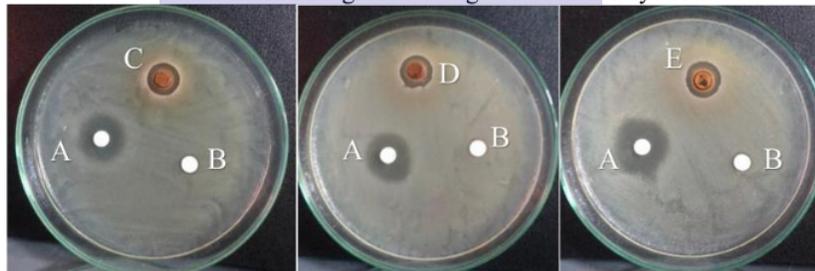
Diameter zona hambat (mm)	Kontrol negatif (mm)	Kontrol positif (mm)	Diameter Zona Hambat tiap Konsentrasi (mm)		
			65%	75%	85%
			I	7,03	16,4
II	6,8	17,5	12,28	13,76	13,37
III	6	14,5	12,52	13,64	13,67
IV	6,96	18,6	13,26	14,95	13,54
V	7,17	18,4	13,41	13,66	12,67
Rata-rata	6,79	17,07	12,71	13,79	13,2

Bakteri tersebut ditanam pada MHA selama 24 jam setelah diinkubasi 37 derajat Celcius. Bening di sekitar disc menunjukkan kemampuan daya hambat tersebut. Berdasarkan diameternya 12,71 mm – 13,79 mm. Rata- rata dari semua perlakuan dapat dilihat bahwa konsentrasi yang paling berpengaruh yaitu pada

konsentrasi 75% dengan rata-rata 13,79 mm. Interpretasi daya hambat berdasarkan CLSI termasuk kedalam *intermediate* (I), sedangkan berdasarkan kategori zona hambat yang terbentuk memiliki diameter 11-20 dengan kekuatan daya hambat kuat.



Gambar 4.1. Diagram Batang Rata-Rata Daya Hambat



Gambar 4.2. Hasil Zona Hambat (Dokumentasi Pribadi)

- A = Kontrol Positif (Tetrasiklin)
- B = Kontrol Negatif (DMSO)
- C = Ekstrak Daun Kecombrang 65 %
- D = Ekstrak Daun Kecombrang 75%
- E = Ekstrak Daun Kecombrang 85%

4.1.2. Hasil Skrinning Uji Fitokimia Daun Kecombrang (*Etlingera elatior*)

Fitokimia adalah bahan kimia tanaman non-nutrisi yang mempunyai sifat protektif atau preventif penyakit. Nutrisi tersebut merupakan nutrisi non-esensial, artinya nutrisi tersebut tidak diperlukan oleh tubuh manusia untuk menunjang kehidupan. Sudah diketahui bahwa tanaman memproduksi bahan kimia ini untuk melindungi dirinya sendiri, namun penelitian terbaru menunjukkan bahwa tanaman juga dapat melindungi terhadap penyakit (Ajuru, *et al.* 2017). Pada penelitian ini hasil analisis fitokimia ekstrak daun kecombrang dan uji sensitifitas bakteri metode difusi. Hasil analisis fitokimia ekstrak daun kecombrang pada penelitian terdapat kandungan.

Tabel 4.3. Fitokimia Daun Kecombrang

Parameter	Hasil (mg/kg ekstrak)
Flavonoid	30,10
Alkaloid	25,25
Fenolik	10,50
Saponin	3,12

Berdasarkan hasil skrinning daun kecombrang (*Etlingera elatior*) dengan kandungan senyawa alkaloid, flavonoid, fenolik, diduga yang efektif menghambat pertumbuhan bakteri yaitu senyawa flavonoid dengan hasil 30,10 mg/kg ekstrak. ¹ Alkaloid dapat ditemukan di bagian biji, daun, ranting, dan kulit batang tumbuhan, menurut Renda (2019). ²⁴ Metabolit sekunder, yang ditemukan di bagian tanaman

tertentu, seperti buah, daun, dan batang, disebut senyawa fenolik. Senyawa ini unik karena memiliki ⁵⁰ satu atau lebih gugus hidroksil yang menempel pada struktur cincin mereka. Tanaman menghasilkan derivat dari senyawa fenolik, yang merupakan metabolit sekunder terbesar. Senyawa fenolik dapat memiliki sifat antioksidan, antitumor, antiviral, dan antibiotik. Jumlah senyawa fenolik yang tinggi mempengaruhi aktivitas farmakologinya (Haryoto dan Ardiyani, 2021).

4.2. Pembahasan

Pengujian kepekaan aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan cara difusi cakram karena efisien dalam memastikan efektivitas antibiotik yang alami (Rahmawati dkk, 2018). Beberapa kerentanan senyawa aktif terhadap hambatan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* menghasilkan beberapa kategori *sensitive* (S), *intermediate* (I), *resistant* (R) dicetuskan *Clinical And Laboratory Standards Institute* (CLSI 2021). Penggunaan tetrasiklin mempunyai bakteriostatik namun pada dosis tinggi memiliki sifat bakteriosidal yang mampu menghambat jalan sintesis protein dengan mengikat ribosom sebagai pembuatan ikatan peptida (Dian dkk, 2015). Bakteri *Staphylococcus aureus* dikatakan sensitif terhadap antibiotik tetrasiklin apabila diameter inhibisi minimum pada bakteri mencapai ≥ 15 mm (CLSI 2021).

Fitokimia daun kecombrang (*Etlingera elatior*) terdiri dari senyawa alkaloid flavonoid 30,10 mg/kg, 25,25 mg/kg, dan fenolik 10,50 mg/kg. Kandungan

senyawa yang paling tinggi pada ekstrak daun kecombrang yaitu senyawa flavonoid 30,10 mg/kg. Flavonoid dikarenakan kandungan flavonoid dalam daun kecombrang cukup kuat melawan bakteri.

Pada tanaman, flavonoid disintesis untuk berfungsi sebagai antibakteri atau melindungi tanaman dari infeksi bakteri. Flavonoid memiliki kemampuan untuk mencegah DNA girase bakteri, yang menghentikan pertumbuhan bakteri. Selain itu, karena adanya gugus hidroksil flavonoid, yang mengubah komponen organik dan mengangkut nutrisi ke bakteri, kandungan flavonoid memiliki efek toksik pada bakteri (Ningsih et al., 2023). Sebagai antioksidan, senyawa flavonoid banyak digunakan sebagai bahan baku obat. Sebagai bahan kimia, flavonoid dan turunannya berfungsi sebagai antimikroba dan antivirus untuk tanaman (Ardananurdin, 2004). Flavonoid merusak membran sel bakteri dengan mendenaturasi proteinnya. Karena kerusakan ini, yang dapat menyebabkan kematian bakteri (Mhaske et al., 2012). Flavonoid juga melindungi struktur sel tubuh. Fenol adalah senyawa yang terdapat dalam flavonoid (Kurniawan dan Aryana, 2015).

Salah satu manfaat alkaloid untuk kesehatan adalah menghentikan infeksi yang disebabkan oleh mikroorganisme (Naufalin dkk, 2005). Alkaloid memiliki sifat antibakteri, yang menghentikan bagian-bagian yang membentuk

peptidoglikan. Hal ini menyebabkan lapisan dinding sel rusak dan kematian sel (Ajizah,2004)

Diketahui bahwa fenolik memiliki peran yang signifikan dalam tingginya (Pramiastuti, 2018). Fenolik, juga dikenal sebagai asam korbalat, adalah kristal berwarna merah muda cerah. Sebagai antibakteri, senyawa fenolik berinteraksi dengan sel bakteri melalui proses absorpsi yang melibatkan ikatan hidrogen. Selain itu, senyawa fenolik mengganggu berbagai proses di dalam membran sitoplasma, seperti menghentikan transpor aktif dan kekuatan proton (Putri et al., 2014).

¹¹ V.KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Ekstrak daun kecombrang (*Etlingera elatior*) memiliki sifat antibakteri yang berpotensi dapat menghentikan perkembangan bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil uji fitokimia dari daun kecombrang (*Etlingera elatior*) didapatkan flavonoid 30,10 mg/kg, alkaloid 25,25 mg/kg, fenolik 10,50 mg/kg, dan saponin 3,12 mg/kg.

³⁷ 5.2. Saran

1. Penelitian lebih lanjut perlu dilakukan untuk mengetahui ¹¹ apakah ekstrak daun kecombrang (*Etlingera elatior*) memiliki aktivitas antibakteri.
2. Penelitian lebih lanjut perlu dilakukan mengenai efek ekstrak daun kecombrang sebagai antibakteri alami *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan berbagai tingkat konsentrasi.

ORIGINALITY REPORT

26%

SIMILARITY INDEX

23%

INTERNET SOURCES

11%

PUBLICATIONS

10%

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	repository.ub.ac.id Internet Source	2%
2	repositori.uma.ac.id Internet Source	1%
3	jurnal.akfarsam.ac.id Internet Source	1%
4	repository.uin-suska.ac.id Internet Source	1%
5	Adelia Agustanty, Andre Budi. "POLA RESISTENCY OF VIBRIO CHOLERAE BACTERIA TO THE ANTIBIOTIC CIPROFLOXACIN AND TETRACYCLINE", Journal Health & Science : Gorontalo Journal Health and Science Community, 2022 Publication	1%
6	Submitted to Universitas PGRI Semarang Student Paper	1%
7	psr.ui.ac.id Internet Source	1%

8	www.neliti.com Internet Source	1 %
9	Submitted to Konsorsium Perguruan Tinggi Swasta Indonesia Student Paper	1 %
10	text-id.123dok.com Internet Source	1 %
11	repository.uinjkt.ac.id Internet Source	1 %
12	jurnal.fp.unila.ac.id Internet Source	1 %
13	www.scribd.com Internet Source	1 %
14	jtam.ulm.ac.id Internet Source	<1 %
15	Submitted to Universitas Esa Unggul Student Paper	<1 %
16	doaj.org Internet Source	<1 %
17	eprints.unimudasorong.ac.id Internet Source	<1 %
18	repository.uinsu.ac.id Internet Source	<1 %
19	jurnal.poltekkespalembang.ac.id	

Internet Source

<1 %

20

Submitted to Universitas Katolik Widya
Mandala

Student Paper

<1 %

21

Submitted to University of North Carolina,
Greensboro

Student Paper

<1 %

22

id.123dok.com

Internet Source

<1 %

23

www.slideshare.net

Internet Source

<1 %

24

Submitted to Universitas Brawijaya

Student Paper

<1 %

25

ecampus.poltekkes-medan.ac.id

Internet Source

<1 %

26

Uci Trisnawaty Habi, Marleni Limonu,
Muhamad Tahir. "UJI KIMIA SERBUK HERBAL
RAMBUT JAGUNG YANG DIFORMULASI
DENGAN SERBUK KAYU MANIS (
Cinnamomum burmannii)", Jambura Journal
of Food Technology, 2021

Publication

<1 %

27

edoc.pub

Internet Source

<1 %

28	etheses.uin-malang.ac.id Internet Source	<1 %
29	pt.scribd.com Internet Source	<1 %
30	Submitted to Universitas Kristen Duta Wacana Student Paper	<1 %
31	docplayer.info Internet Source	<1 %
32	jurnal.poltekkespim.ac.id Internet Source	<1 %
33	e-journal.upr.ac.id Internet Source	<1 %
34	jurnal.pdgimakassar.org Internet Source	<1 %
35	jurnalfkip.unram.ac.id Internet Source	<1 %
36	repository.stikesmukla.ac.id Internet Source	<1 %
37	adoc.pub Internet Source	<1 %
38	semirata2017.mipa.unja.ac.id Internet Source	<1 %
39	Munira Munira, Fina Rodisa, Muhammad Nasir. "Uji antibakteri kombinasi ekstrak daun	<1 %

Biduri (*Calotropis gigantea* L.) dan daun
Bandotan (*ageratum conyzoides* L.)", Jurnal
SAGO Gizi dan Kesehatan, 2020

Publication

40	core.ac.uk Internet Source	<1 %
41	eprints.umm.ac.id Internet Source	<1 %
42	erepository.uwks.ac.id Internet Source	<1 %
43	media.neliti.com Internet Source	<1 %
44	ejournal.undip.ac.id Internet Source	<1 %
45	muhammadnurnisba.wordpress.com Internet Source	<1 %
46	repo.stikesicme-jbg.ac.id Internet Source	<1 %
47	repositori.uin-alauddin.ac.id Internet Source	<1 %
48	repository.poltekkespim.ac.id Internet Source	<1 %
49	repository.usd.ac.id Internet Source	<1 %

50	www.coursehero.com Internet Source	<1 %
51	Melia Soniman. "EFEKTIVITAS SENYAWA AKTIF KOMBINASI KENCUR KAEMPFERIA GALANGA DAN ILALANG IMPERATA CYLINDRICA SECARA IN VITRO TERHADAP BAKTERI GRAM POSITIF DAN BAKTERI GRAM NEGATIF", <i>Journal of Aquatropica Asia</i> , 2022 Publication	<1 %
52	digilib.uin-suka.ac.id Internet Source	<1 %
53	id.scribd.com Internet Source	<1 %
54	jurnal.unsyiah.ac.id Internet Source	<1 %
55	kutubuku.web.id Internet Source	<1 %
56	nursapitri.blogspot.com Internet Source	<1 %
57	repository.unair.ac.id Internet Source	<1 %
58	repository.unpas.ac.id Internet Source	<1 %
59	rozi-fpk.web.unair.ac.id Internet Source	<1 %

60

tokosiwakkamyabi.multiply.com

Internet Source

<1 %

61

www.kancyl.com

Internet Source

<1 %

62

Afifah Nur Shobah, Fajrin Noviyanto, Nia Marlina Kurnia. "Kombinasi Ekstrak Daun Kecombrang (*Etlingera elatior*) dan Daun Beluntas (*Pluchea indica*) sebagai Biolarvasida", *JURNAL KESEHATAN PERINTIS (Perintis's Health Journal)*, 2021

Publication

<1 %

63

Christiani Yasmine, Andree Wijaya Setiawan, Yoga Aji Handoko. "ISOLASI BAKTERIOFAG *Xanthomonas oryzae* DARI LAHAN SAWAH DI KELURAHAN KECANDRAN, KECAMATAN SIDOMUKTI, SALATIGA DAN STABILITASNYA TERHADAP BERBAGAI pH", *Jurnal Agrotek Tropika*, 2023

Publication

<1 %

64

Nisrina Fauziyah Sholihah, Lely Sulfiani Saula, Mally Ghinan Sholih. "Perbandingan Antibakteri Ekstrak Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*) dan Daun Kemangi (*Ocimum sanctum*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*", *Journal of Pharmaceutical And Sciences*, 2022

Publication

<1 %

65

123dok.com

Internet Source

<1 %

66

ejurnal.undana.ac.id

Internet Source

<1 %

67

jtpc.farmasi.unmul.ac.id

Internet Source

<1 %

Exclude quotes Off

Exclude matches Off

Exclude bibliography On