

KANDUNGAN ALKALOID DAN TANIN SERTA UJI DAYA HAMBAT

*ECO ENZYME TERHADAP *Staphylococcus aureus*.*



SKRIPSI

*Diajukan sebagai salah satu syarat untuk
memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Gigi*

OLEH :

ELVIRA SALSABILA ANSAR

J011201091

DEPARTEMEN ORAL BIOLOGI

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2023

KANDUNGAN ALKALOID DAN TANIN SERTA UJI DAYA HAMBAT

ECO ENZYME TERHADAP *Staphylococcus aureus*.

SKRIPSI

*Diajukan sebagai salah satu syarat untuk
memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Gigi*

DISUSUN OLEH :

ELVIRA SALSABILA ANSAR

J011201091

DEPARTEMEN ORAL BIOLOGI

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2023

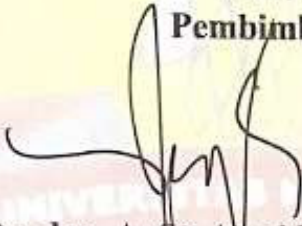
LEMBAR PENGESAHAN

Judul : Kandungan Alkaloid dan Tanin Serta Uji Daya Hambat *Eco Enzyme*
Terhadap *Staphylococcus aureus*.

Oleh : Elvira Salsabila Ansar / J011201091

Telah Diperiksa dan Disahkan
Pada Tanggal 20 Oktober 2023

Oleh :
Pembimbing

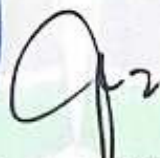



Dr. drg. A. St. Asmidar Anas., M.Kes
NIP. 197007262000032002

Mengetahui,

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi

Universitas Hasanuddin



drg. Irfan Sugianto, M.Med.Ed., Ph.D
NIP. 198102152008011009

SURAT PERNYATAAN

Dengan ini menyatakan mahasiswa yang tercantum di bawah ini:

Nama : Elvira Salsabila Ansar

NIM : J011201091

Judul : Kandungan Alkaloid dan Tanin Serta Uji Daya Hambat *Eco Enzyme*

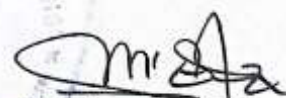
Terhadap *Staphylococcus aureus*.

Menyatakan bahwa skripsi dengan judul yang diajukan adalah judul baru dan tidak terdapat di Perpustakaan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin.

Makassar, 20 Oktober 2023

Koordinator Perpustakaan FKG Unhas




Amiruddin, S.Sos

NIP. 19661121 199201 1 003

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Elvira Salsabila Ansar

NIM : J011201091

Menyatakan bahwa skripsi dengan judul "**Kandungan Alkaloid dan Tanin Serta Uji Daya Hambat *Eco Enzyme* Terhadap *Staphylococcus aureus*.**" benar merupakan karya saya. Judul skripsi ini belum pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi. Jika di dalam skripsi ini terdapat informasi yang berasal dari sumber lain, saya nyatakan telah disebutkan sumbernya di dalam daftar pustaka.

Makassar, 20 Oktober 2023



Elvira Salsabila Ansar

J011201091

HALAMAN PERSETUJUAN SKRIPSI PEMBIMBING

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama Pembimbing:

1. Dr. drg. A. St. Asmidar Anas., M.Kes

Tanda Tangan

A handwritten signature in black ink, enclosed in parentheses. The signature is stylized and appears to be the name 'A. St. Asmidar Anas.' written in a cursive or shorthand style.

Judul Skripsi:

Kandungan Alkaloid dan Tanin Serta Uji Daya Hambat *Eco Enzyme* Terhadap *Staphylococcus aureus*.

Menyatakan bahwa skripsi dengan judul seperti tersebut di atas telah diperiksa, dikoreksi dan disetujui oleh pembimbing untuk di cetak dan/atau diterbitkan.

MOTTO

“Work Hard and Be Grateful”

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum warahmatullahi wabaraktuh.

Segala puji bagi Allah Subhanahu Wata'ala yang senantiasa melimpahkan rahmat, karunia, dan hidayah-Nya kepada penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Kandungan Alkaloid dan Tanin Serta Uji Daya Hambat *Eco Enzyme* Terhadap *Staphylococcus aureus*.” dengan baik. Penulisan skripsi ini ditujukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Kedokteran Gigi di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin. Selain itu skripsi ini diharapkan dapat bermanfaat bagi intitusi, pembaca, dan peneliti untuk menambah pengetahuan dalam bidang ilmu oral biologi. Shalawat serta salam tak lupa pula penulis haturkan kepada Nabiullah Muhammad SAW. yang merupakan sebaik-baiknya suri teladan.

Penulis menyadari bahwa dalam proses penulisan skripsi ini terdapat banyak hambatan yang penulis hadapi. Akan tetapi, selama proses penyusunan skripsi ini tentunya tidak luput dari bimbingan, dukungan dan bantuan dari berbagai pihak. Dalam kesempatan ini, penulis ingin mengucapkan banyak terima kasih kepada pihak-pihak yang telah membantu menyelesaikan skripsi ini, yaitu kepada:

1. Orang tua penulis **Ansar Arifin** dan **Haryati**, serta saudara-saudari yaitu **Muh. Feisal Ansar**, **Cindy Israeni Ansar** yang selalu membantu, memberikan dukungan, motivasi, dan senantiasa memanjatkan doa untuk penulis.
2. **drg. Irfan Sugianto, M.Med.Ed., Ph.D** selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin.

3. **Dr. drg. A. St. Asmidar Anas., M.Kes** selaku dosen pembimbing skripsi yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran untuk membimbing serta memberikan arahan dan saran kepada penulis selama proses penyusunan skripsi hingga selesai.
4. **Dr. drg. Nurlindah Hamrun., M.Kes dan drg. Rafikah Hasyim., M.Biomed** selaku dosen penguji skripsi yang telah memberikan masukan, arahan, kritik dan saran kepada penulis dalam penyempurnaan skripsi ini.
5. **Staf Akademik Fakultas Kedokteran Gigi** khususnya **Kak Basri, Ibu Indah, Ibu Eda, dan Pak Majid** yang telah banyak membantu penulis selama penyusunan skripsi ini, serta pembuatan etik penelitian demi kelancaran penelitian penulis.
6. **Kak Amirullah dan Kak Nuni** selaku laboran Laboratorium yang telah banyak membantu selama proses penelitian, memberikan banyak pelajaran serta pengalaman langsung mengenai penelitian fitokimia dan uji daya hambat sehingga skripsi ini dapat selesai.
7. **Alda** selaku teman seperjuangan sepembimbing skripsi untuk Kerjasama, bantuan, ilmu, dan semangat yang telah diberikan kepada penulis dalam menyelesaikan penyusunan skripsi ini.
8. Teman-teman terdekat penulis, **Nur Qalby, Fatin Yasmin Megawangi Riady, Khusnul Khatima, Mutma'innah S, Nurul Prima Ilmi, Vina Maulidya Anwar, A. Meily Salsabila Tenri, Aimannahdah, Anggun Dwitia R, Ashillah Nurul Aiman, Zalzabila M. Amin, Sitty Aisyah**

Fitriany. yang telah memberikan semangat dan dukungan selama perkuliahan dan penyusunan skripsi ini.

9. Segenap keluarga besar seperjuangan **Artikulasi 2020** atas bantuan dan dukungan yang telah diberikan kepada penulis.
10. Sahabat peneliti yaitu **Indah Cahyani, Rayhana Adhifa Muqarramah, Sitty Nurzakiah, Fathiyyah Nurul Afiyah, Andi Rizka Rahmayani, Nurul Salsabila Syam, A. Aan Mugniyah** yang telah kebersamai peneliti selama 10 tahun hingga saat ini. Terima kasih banyak telah setia melewati banyak suka dan duka bersama hingga saat ini. Terima kasih atas dukungan, bantuan, kasih sayang, motivasi, serta arahan kepada peneliti sehingga peneliti dapat kuat dalam menyelesaikan skripsi ini.
11. **Laila Arsih Ramadhina, Acca, Afia, Tasya, Nisa** yang telah memberi dukungan dan motivasi kepada penulis untuk menyelesaikan skripsi ini.
12. **Diri sendiri** yang telah *survive* menghadapi segala rintangan serta hambatan selama proses penyelesaian skripsi ini, terima kasih untuk tidak menyerah.
13. Serta semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu-persatu yang telah memberikan dukungan dan bantuan sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini. Semoga Allah SWT membalas kebaikan kalian dan memberikan kesehatan serta kekuatan dalam menjalani kehidupan.

Makassar, 20 Oktober 2023



Elvira Salsabila Ansar

J011201091

ABSTRAK

KANDUNGAN ALKALOID DAN TANIN SERTA UJI DAYA

HAMBAT *ECO ENZYME* TERHADAP *Staphylococcus aureus*

Latar Belakang: Terdapat bakteri pada rongga mulut yang awal mulanya bersifat komensal tetapi dapat berubah menjadi patogen yang menimbulkan bakteremia dan infeksi sistemik. Salah satu bakteri flora normal yang dapat berubah menjadi patogen di dalam rongga mulut adalah *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*). Infeksi yang biasanya disebabkan oleh bakteri ini adalah peradangan, nekrosis, dan pembentukan abses. Meskipun sebagian besar kasus infeksi *S. aureus* dapat diobati secara efektif dengan antibiotik, tetapi terdapat salah satu strain *S. aureus* yang resisten terhadap antibiotik yaitu *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) di mana termasuk *methicillin* dan antibiotik lainnya. Oleh karena itu, perlu mencari bahan alternatif lain yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri ini, dengan memanfaatkan sampah organik berupa kulit buah dengan membuat *eco enzyme*. **Tujuan:** Untuk mengetahui apakah *eco enzyme* mengandung alkaloid dan tanin, apakah ada perbedaan daya hambat bakteri *S. aureus* antara *eco enzyme* yang terbuat dari 5 jenis kulit buah dan 10 jenis kulit buah. **Metode:** Jenis penelitian yang digunakan yaitu penelitian eksperimental atau penelitian ilmiah di Laboratorium, dengan melakukan uji fitokimia dan uji coba aktivitas daya hambat pertumbuhan bakteri atau mikroorganisme. **Hasil:** Pada penelitian uji fitokimia terhadap *eco enzyme* ditemukan kandungan senyawa tanin memperoleh hasil positif karena terdapat warna hijau kehitaman, sedangkan senyawa alkaloid memperoleh hasil negatif karena tidak terbentuknya endapan cokelat setelah diamati. Pada penelitian uji daya hambat berdasarkan uji statistik menggunakan uji independent sample t-test terdapat perbedaan yang signifikan daya hambat terhadap bakteri *S. aureus* antara *eco enzyme* dari 5 jenis kulit buah dibandingkan dengan *eco enzyme* 10 jenis kulit buah ($p < 0.05$). **Kesimpulan:** *Eco enzyme* memiliki kandungan senyawa tanin, tetapi tidak mengandung senyawa alkaloid, *eco enzyme* 5 jenis kulit buah lebih dapat menghambat bakteri *S. aureus* dibandingkan *eco enzyme* 10 jenis kulit buah. **Kata kunci :** Uji fitokimia, Uji daya hambat, *Eco enzyme*, *Staphylococcus aureus*.

ABSTRACT

THE ALKALOID AND TANNIN CONTENTS WITH ECO ENZYME

INHIBITION TEST OF *Staphylococcus aureus*

Background: There are bacteria in the oral cavity that are initially commensal but can turn into pathogens that cause bacteremia and systemic infections. One of the normal flora bacteria that can turn into pathogens in the oral cavity is *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*). The infections usually caused by this bacterium are inflammation, necrosis and abscess formation. Although most cases of *S. aureus* infection can be effectively treated with antibiotics, there is one strain of *S. aureus* that is resistant to antibiotics, namely Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) which includes methicillin and other antibiotics. Therefore, it is necessary to find other alternative materials that can inhibit the growth of these bacteria, one of which is by utilizing organic waste in the form of fruit peels by making eco enzyme. **Objective:** To determine whether eco enzyme contains alkaloids and tannins, whether there is a difference in the inhibitory power of *S. aureus* bacteria between eco enzyme made from 5 types of fruit peels and 10 types of fruit peels. **Methods:** The type of research used is experimental research or scientific research in the laboratory, by conducting phytochemical tests and testing the activity of inhibition of bacterial growth or microorganisms. **Results:** In the phytochemical test research on eco enzyme, it was found that the tannin compound content obtained positive results because there was a blackish green color, while the alkaloid compound obtained negative results because no brown precipitate was formed after being observed. In the inhibition test based on statistical tests using independent sample *t*-test, there was a significant difference in inhibition against *S. aureus* bacteria between eco enzyme from 5 types of fruit peels compared to eco enzyme from 10 types of fruit peels ($p < 0.05$). **Conclusion:** Eco enzyme has tannin compounds, but does not contain alkaloid compounds, eco enzyme of 5 types of fruit peels can inhibit *S. aureus* bacteria more than eco enzyme of 10 types of fruit peels.

Keywords: Phytochemical test, Inhibition test, Eco enzyme, *Staphylococcus aureus*.

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
KATA PENGANTAR	viii
ABSTRAK	xi
ABSTRACT	xii
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR TABEL	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan Penelitian	6
1.4 Manfaat Penelitian	7
1.5 Hipotesis Penelitian.....	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	9
2.1 <i>Eco Enzyme</i>	9
2.1.1 Sejarah Penemuan <i>Eco Enzyme</i>	9
2.1.2 Definisi <i>Eco Enzyme</i>	9
2.1.3 Manfaat dan Kandungan <i>Eco Enzyme</i>	10
2.1.4 Prinsip Pembuatan <i>Eco Enzyme</i>	12
2.1.5 Gambaran Fisik <i>Eco Enzyme</i>	14
2.2 Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	15
2.2.1 Klasifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	15

2.2.2	Morfologi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	15
2.2.3	Daya Infeksi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	16
2.2.4	Pengaruh <i>Staphylococcus aureus</i> terhadap Kesehatan rongga mulut 17	
2.3	Uji Fitokimia	19
2.4	Uji Daya Hambat.....	24
BAB III METODE PENELITIAN		27
3.1	Jenis dan Desain Penelitian	27
3.2	Waktu Penelitian.....	27
3.3	Lokasi Penelitian	27
3.4	Sampel Penelitian	27
3.5	Variabel Penelitian	27
3.6	Definisi Operasional dan Kriteria Penilaian.....	28
3.7	Kerangka Konsep	30
3.8	Alat dan Bahan	30
3.9	Prosedur Penelitian	34
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....		38
4.1	Hasil Penelitian	38
4.1.1.1	Uji Fitokimia.....	38
4.1.1.2	Uji Daya Hambat Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	39
4.2	Pembahasan.....	42
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN		47
5.1	Kesimpulan	47
5.2	Saran.....	47
DAFTAR PUSTAKA		49

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 <i>Staphylococcus aureus</i> (Mikroskop perbesaran 1000x).....	15
Gambar 3.1 Kerangka Konsep.....	29

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Hasil penelitian uji fitokimia sampel <i>eco enzyme</i> 5 jenis kulit buah dan 10 jenis kulit buah.....	37
Tabel 4.2 Daya hambat bakteri <i>S. aureus</i> dengan menggunakan konsentrasi <i>eco enzyme</i> dari 5 jenis kulit buah.....	38
Tabel 4.3 Daya hambat bakteri <i>S. aureus</i> dengan menggunakan konsentrasi <i>eco enzyme</i> dari 10 jenis kulit buah.....	39
Tabel 4.4 Perbedaan daya hambat bakteri <i>S. aureus</i> antara <i>eco enzyme</i> dari 5 jenis kulit buah dan 10 jenis kulit buah.....	40

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Setiap rongga mulut manusia terdapat banyak mikroorganisme. Hal tersebut sangat memungkinkan terjadi pada setiap individu karena rongga mulut dan area nasofaring merupakan ruang yang ideal terjadinya pertumbuhan mikroorganisme¹. Terdapat bakteri pada rongga mulut yang awal mulanya bersifat komensal tetapi dapat berubah menjadi patogen yang menimbulkan bakteremia dan infeksi sistemik. Kondisi tersebut turut dipengaruhi oleh adanya fungsi *saliva*, dan riwayat penggunaan obat termasuk antibiotik².

Salah satu bakteri flora normal yang dapat berubah menjadi patogen di dalam rongga mulut adalah *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*). Infeksi yang biasanya disebabkan oleh bakteri ini adalah peradangan, nekrosis, dan pembentukan abses³. Abses gigi adalah pembengkakan yang berisi nanah cairan kental dan kekuningan yang terjadi pada gigi dan gingiva⁴. Berdasarkan hasil penelitian terdahulu, bahwa *S. aureus* merupakan bakteri yang paling sering menghasilkan nanah (pus)⁵.

Bakteri ini merupakan penyebab utama dari infeksi nosokomial, yang dimana terjadinya produksi eksudat purulent atau pus yang dapat terjadi pada luka operasi. Pembentukan pus merupakan respon akut terhadap kerusakan jaringan yang disebabkan oleh infeksi bakteri⁶. Hasil penelitian di Rumah Sakit Rajah Muthaiah India pada tahun 2010, menyebutkan bahwa bakteri

kontaminan penyebab dari infeksi luka operasi yang paling banyak ditemukan adalah *S. aureus*⁷. Opini tersebut didukung dengan ditemukannya bakteri kontaminan di dinding dan lantai Ruang Operasi RSUD Ulin Banjarmasin pada tahun 2020, yang paling banyak ditemukan adalah *S. aureus* dengan presentasi sebesar 57%⁸.

Pengobatan pada penyakit gigi dan mulut, misalnya pada gingiva yang bernanah dan abses periapikal yaitu dengan terapi antibiotik⁹. Namun, menurut data Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) tahun 2018 yang menunjukkan bahwa 42.2% masyarakat Indonesia masih melakukan praktik pengobatan diri sendiri. Mengobati gigi sendiri dengan mengonsumsi antibiotik tanpa resep dokter dapat memicu terjadinya resistensi terhadap antibiotik¹⁰. Meskipun sebagian besar kasus infeksi *S. aureus* dapat diobati secara efektif dengan antibiotik, tetapi terdapat salah satu strain *S. aureus* yang resisten terhadap antibiotik yaitu *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) di mana termasuk *methicillin* dan antibiotik lainnya yang umum digunakan seperti *amoxicillin*, *penicillin*, *amoxicillin* dan *cephalosporin*⁷.

Adapun penelitian yang telah dilakukan tentang pola kepekaan *S. aureus* terhadap enam jenis antibiotik di wilayah Jakarta Timur menunjukkan bahwa bakteri tersebut telah resisten terhadap antibiotik dengan urutan *tetracycline* 53,3%, *streptomycin* 44,8%, *chloramphenicol* 23,6%, *ampicillin* 18,1%, *erythromycin* 6,6%, dan *penicillin* 4,2%¹¹. Berdasarkan hasil riset tersebut telah menunjukkan bahwa resistensi bakteri *S. aureus* terhadap beberapa jenis

antibiotik sudah cukup tinggi. Oleh karena itu, perlu mencari bahan alternatif lain yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri ini, salah satunya adalah dengan memanfaatkan sampah organik berupa kulit buah yang mudah didapatkan di lingkungan sekitar kita, seperti sampah *domestic* (rumah tangga)¹².

Hasil riset lain, dikatakan bahwa sisa bahan organik rumah tangga yang dibuang tanpa pengelolaan terlebih dahulu, maka tumpukan sisa bahan organik tersebut akan menghasilkan gas Metana. Gas tersebut dapat memerangkap 21 kali lebih banyak panas dari pada Karbon dioksida (CO₂) yang dihasilkan oleh kendaraan bermotor. Hal ini berimplikasi kepada terjadinya pemanasan global (*global warming*). Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk mengurangi dampak negatif dari sisa bahan organik rumah tangga adalah pembuatan *eco enzyme* yang memiliki banyak manfaat¹³.

Selama ini, telah dilakukan beberapa penelitian tentang daya hambat pada beberapa jenis ekstrak kulit buah terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus*. Misalnya pada penelitian sebelumnya, menguji daya hambat ekstrak kulit buah nanas madu dan pepaya terhadap bakteri *S. aureus*, hasil penelitiannya menunjukkan bahwa kulit buah nanas madu lebih baik dalam menghambat pertumbuhan bakteri tersebut dengan konsentrasi terbaik yaitu 25% dengan menggunakan pelarut aquades steril, hal ini dapat terjadi karena kulit nanas mengandung tanin¹⁴. Sedangkan pada penelitian lainnya, ekstrak kulit buah mentah pisang kepok (*Musa paradisiaca x balbisiana*) mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan konsentrasi yang paling baik

dalam menghambat pertumbuhan bakteri tersebut yaitu pada konsentrasi 100% dikarenakan adanya senyawa antibakteri seperti tanin dan flavonoid¹⁵. Hasil penelitian lainnya juga menyimpulkan bahwa ekstrak buah mahkota dewa menggunakan pelarut etanol dan aquades yang memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dengan konsentrasi 40% karena terdapat senyawa aktif yaitu flavonoid, saponin, alkaloid, dan tanin¹⁶.

Eco enzyme dapat dikatakan berhasil apabila memiliki gambaran fisik organoleptik yang baik seperti beraroma segar khas fermentasi, derajat keasaman (pH) dibawah 4.0, dan pada umumnya *eco enzyme* berwarna kecoklatan¹⁷. Selain itu, penelitian terkait penggunaan *eco enzyme* sebagai anti mikroba menemukan flavonoid, alkaloid, saponin sebagai metabolit yang berbeda¹⁸.

Berdasarkan uraian penjelasan di atas, hal yang menjadi dasar alasan penulis melakukan penelitian yaitu menguji bahan alternatif selain antibiotik, menggunakan *eco enzyme* dengan mengamati gambaran fisik organoleptik, menguji kandungan senyawa alkaloid dan tanin yang terdapat pada *eco enzyme*, dan menguji *eco enzyme* untuk menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* yang memiliki banyak manfaat. Sedangkan, hal yang menjadi pembeda dari penelitian sebelumnya adalah peneliti terdahulu melakukan uji daya hambat dengan jumlah yang kurang dari 5 jenis kulit buah, tetapi pada penelitian ini akan dilakukan menguji daya hambat *eco enzyme* yang terdiri dari 5 jenis kulit buah dan ada yang terdiri dari 10 jenis kulit buah terhadap *S. aureus*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang dikemukakan di atas, maka rumusan masalahnya adalah sebagai berikut :

1. Apakah *eco enzyme* yang terbuat dari 5 jenis kulit buah (nanas, jeruk, semangka, mangga, dan pisang) dan 10 jenis kulit buah (nanas, jeruk, semangka, mangga, pisang, pepaya, buah naga, melon, pir, dan alpukat) mengandung alkaloid dan tanin?
2. Apakah ada perbedaan kandungan senyawa alkaloid dan tanin *eco enzyme* yang terbuat dari 5 jenis kulit buah (nanas, jeruk, semangka, mangga, dan pisang) dan 10 jenis kulit buah (nanas, jeruk, semangka, mangga, pisang, pepaya, buah naga, melon, pir, dan alpukat)?
3. Apakah *eco enzyme* yang terbuat dari 5 jenis kulit buah (nanas, jeruk, semangka, mangga, dan pisang) dan 10 jenis kulit buah (nanas, jeruk, semangka, mangga, pisang, pepaya, buah naga, melon, pir, dan alpukat) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*?
4. Apakah ada perbedaan daya hambat bakteri *S. aureus* antara *eco enzyme* yang terbuat dari 5 jenis kulit buah (nanas, jeruk, semangka, mangga, dan pisang) dan 10 jenis kulit buah (nanas, jeruk, semangka, mangga, pisang, pepaya, buah naga, melon, pir, dan alpukat)?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini antara lain:

1. Untuk mengetahui apakah *eco enzyme* yang terbuat dari 5 jenis kulit buah (nanas, jeruk, semangka, mangga, dan pisang) dan 10 jenis kulit buah

(nanas, jeruk, semangka, mangga, pisang, pepaya, buah naga, melon, pir, dan alpukat) mengandung alkaloid dan tanin.

2. Untuk mengetahui apakah ada perbedaan kandungan senyawa alkaloid dan tanin *eco enzyme* yang terbuat dari 5 jenis kulit buah (nanas, jeruk, semangka, mangga, dan pisang) dan 10 jenis kulit buah (nanas, jeruk, semangka, mangga, pisang, pepaya, buah naga, melon, pir, dan alpukat).
3. Untuk mengetahui apakah *eco enzyme* yang terbuat dari 5 jenis kulit buah (nanas, jeruk, semangka, mangga, dan pisang) dan 10 jenis kulit buah (nanas, jeruk, semangka, mangga, pisang, pepaya, buah naga, melon, pir, dan alpukat) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*
4. Untuk mengetahui apakah ada perbedaan daya hambat bakteri *S. aureus* antara *eco enzyme* yang terbuat dari 5 jenis kulit buah (nanas, jeruk, semangka, mangga, dan pisang) dan 10 jenis kulit buah (nanas, jeruk, semangka, mangga, pisang, pepaya, buah naga, melon, pir, dan alpukat).

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini, diharapkan dapat memperoleh manfaat, yaitu:

1. Manfaat Ilmiah

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan sumbangsih pemikiran berupa keterangan-keterangan ilmiah yang bersifat teoritik, terkait dengan manfaat atau fungsi *eco enzyme* dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*.

2. Manfaat Praktis

- a. Sebagai pedoman atau panduan tentang cara pemanfaatan limbah organik untuk dijadikan produk *eco enzyme* dalam melaksanakan program yang inovatif untuk meningkatkan kesehatan pada masyarakat.
- b. Sebagai bahan referensi untuk memberikan solusi bagaimana agar limbah rumah tangga bisa dimanfaatkan, khususnya kulit buah bagi ibu-ibu rumah tangga.
- c. Sebagai referensi bagi pemerintah daerah di Indonesia dalam perumusan dan implementasi program penanganan masalah sampah di setiap kota yang hingga saat ini masih menjadi permasalahan penting yang belum terpecahkan.

1.5 Hipotesis Penelitian

1. *Eco enzyme* memiliki kandungan senyawa alkaloid dan tanin
2. *Eco enzyme* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Eco Enzyme*

2.1.1 Sejarah Penemuan *Eco Enzyme*

Berkisar pada tahun 2003, seorang doktor dari Thailand mendapat penghargaan dari *Food Agricultural Organization* (Lembaga dari PBB yang mengurus soal pangan dunia) regional Thailand untuk penemuannya diberi nama *eco enzyme*. Pada dasarnya penemuan ini merupakan suatu upaya yang dilakukan Dr. Rosukon Poompanvong terhadap lingkungan dengan membantu para petani setempat untuk memperoleh hasil panen yang lebih baik sekaligus menunjukkan tindakan yang ramah lingkungan¹⁹.

2.1.2 Definisi *Eco Enzyme*

Definisi *eco enzyme* dalam Kamus Bahasa Indonesia disebut bahwa *eco enzyme* merupakan larutan zat organik kompleks yang diproduksi dari proses fermentasi sisa organik, gula, dan air²⁰.

Eco enzyme merupakan produk fermentasi dari campuran bahan-bahan tertentu seperti sisa sayur dan buah, atau juga dapat menambahkan bunga atau dedaunan aromatik, kemudian gula jawa atau gula aren bahkan dianjurkan menggunakan molase agar mengurangi *budget*, dan juga air. Penggunaan gula aren ataupun molase ini menimbulkan warna coklat pada *eco enzyme* yang baru dibuat, serta aromanya akan segar seperti bahan yang digunakan²¹.

2.1.3 Manfaat dan Kandungan *Eco Enzyme*

Hasil dari fermentasi *eco enzyme* ini dapat digunakan dalam berbagai bidang. *Eco enzyme* dapat digunakan untuk keperluan rumah tangga seperti pembersih lantai karena bersifat asam. Digunakan sebagai pemurnian udara atau menghilangkan bau dan udara beracun terlarut. Manfaat lain dari *eco enzyme* yang digunakan sebagai pengawet makanan karena mengandung asam propionat yang efektif dalam mencegah pertumbuhan mikroba.²².

Eco enzyme juga mengandung asam asetat (H_3COOH) yang dapat menghancurkan organisme, sehingga dapat digunakan sebagai insektisida dan pestisida²². *Eco enzyme* mengandung Tripsin, Amilase, Lipase, selain itu *eco enzyme* ini dapat mencegah bahkan membunuh bakteri yang bersifat patogen. *Eco enzyme* juga menghasilkan Nitrat (NO_3) dan karbon trioksida (CO_3) sebagai nutrient pada tanah. Bidang ekonomi, penggunaan *eco enzyme* ini dapat mengurangi biaya pembelian desinfektan, maupun cairan pembersih lainnya²¹.

Sedangkan manfaat lain dari *eco enzyme* yaitu untuk pertanian (sebagai pupuk organik cair, pestisida nabati), untuk kesehatan (sebagai desinfektan, cairan pembersih), untuk rumah tangga (sebagai pengganti sabun mandi, obat kumur)²³.

Menurut pandangan peneliti lain, bahwa selama proses pembuatan *eco enzyme*, dihasilkan pula ozon yang bermanfaat dalam mengurangi Karbondioksida (CO_2) dan logam berat di udara. Selain itu dihasilkan

pula Nitrat (NO₃) dan Karbontrioksida (CO₃) yang juga membantu dalam membersihkan udara di atmosfer. Gas yang dihasilkan selama pembuatan *eco enzyme* ini sangat berperan dalam menurunkan efek rumah kaca penyebab pemanasan global (*global warming*). Nitrit di udara berperan sebagai nutrisi tanaman dan tanah. *Eco enzyme* ini juga dapat menetralkan racun dan polutan di sungai, tanah, dan atmosfer²⁴.

Keuntungan lainnya dari pemanfaatan kulit buah adalah berkurangnya jumlah sampah yang terbuang sia-sia, sehingga dapat menciptakan kondisi lingkungan yang lebih bersih, nyaman, dan rapi. Produk hasil yaitu *eco enzyme* ini berpotensi untuk dijual, karena mengingat keberadaan sampah organik rumah tangga warga di setiap kelurahan di perkotaan yang tidak dimanfaatkan secara optimal serta bahan-bahan lain yang diperlukan sangat mudah ditemukan di lingkungan kelurahan di perkotaan²⁵.

Keberlanjutan pembuatan *eco enzyme* untuk menjadi produk layak jual, tentu saja memerlukan dukungan dan monitoring perangkat kelurahan atau pemerintah setempat untuk menggerakkan masyarakatnya²⁵. Namun, karena selama ini masih banyak keluarga, terutama ibu-ibu yang belum mengetahui cara memanfaatkan kulit buah sebagai bahan pembuatan *eco enzyme* yang bernilai ekonomi dan kesehatan, maka yang terjadi adalah penumpukan sampah organik yang diproduksi oleh setiap rumah tangga di perkotaan.

Telah dilakukan Program Kreativitas Mahasiswa (PkM) di Bank Berkah Abadi Kelurahan Limbungan Kota Pekanbaru, menunjukkan bahwa pada umumnya ibu-ibu rumah tangga belum mengetahui tentang manfaat *eco enzyme*, dan cara pembuatannya. Salah satu tujuan dilaksanakannya kegiatan tersebut adalah untuk memberikan solusi bagaimana seluruh limbah rumah tangga bisa dimanfaatkan, khususnya kulit buah dan sisa sayuran. Hasil pengabdian yang dilakukan menunjukkan bahwa terdapat peningkatan pengetahuan mitra tentang cara pemanfaatan limbah organik untuk dijadikan produk *eco enzyme* dari yang tidak tahu 62%, cukup tahu 32% dan tahu 6% menjadi tahu sebesar 100%. Hal tersebut menunjukkan bahwa peserta benar-benar antusias mengikuti proses penyuluhan dan pelatihan pembuatan produk *eco enzyme*²⁶.

2.1.4 Prinsip Pembuatan *Eco Enzyme*

Cara pembuatan *eco enzyme* hampir sama dengan pembuatan kompos, namun bedanya yaitu pada *eco enzyme* ditambahkan air dengan perbandingan air : sampah organik : molase (gula merah) sebesar 10 : 3 : 1 dengan waktu fermentasi selama minimal 3 bulan²⁷.

Keistimewaan *eco enzyme* ini adalah tidak memerlukan lahan yang luas untuk proses fermentasi seperti pada pembuatan kompos, bahkan produk ini tidak memerlukan bak komposter dengan spesifikasi tertentu²⁸.

Proses pembuatan fermentasi *eco enzyme*, juga dapat menggunakan molase sebagai pengganti gula merah. Molase adalah produk limbah industri gula yang harganya lebih murah. Bahan ini merupakan produk sampingan dari tebu dan produksi gula. Karbohidrat dalam molase siap untuk langsung difermentasi tanpa adanya perlakuan terlebih dahulu karena berbentuk gula²⁹.

Hal-hal yang perlu diperhatikan dalam cara pembuatan *eco enzyme* :^{24,29,30}

- a) Hindari menggunakan wadah kaca atau logam karena tidak bisa mengembang (karena akan ada gas yang dihasilkan sehingga volume gas dan tekanan akan bertambah), seperti menggunakan wadah plastik bermulut lebar,
- b) Pemilahan sampah organik/bahan organik (BO) sejak dari dapur rumah tangga berupa kulit buah segar dan sayuran segar kemudian dibersihkan agar tidak ada zat pengganggu fermentasi seperti sisa nasi, sisa makanan yang telah diolah sehingga akan memengaruhi proses fermentasi dan pemilihan molase/gula merah sebagai pembantu fermentasi,
- c) Semua bahan dimasukkan dalam wadah dan tertutup dengan rapat,
- d) Pembuatan *eco enzyme* diobservasi selama 7 hari pertama dengan membuka tutup wadah sebentar sehari sekali untuk membuang gas hasil fermentasi agar wadah tidak meledak,

- e) Setelah 7 hari bahan diaduk dengan tangan (jika kapasitas wadah 1 sampai 20 L) atau bahan kayu/bambu bersih (jika kapasitas wadah di atas 20 L),
- f) Warna ideal *eco enzyme* adalah coklat tua dan memiliki aroma asam/segar, jika berwarna hitam tambahkan gula untuk mengulang proses fermentasinya,
- g) Sisa atau residu organik *eco enzyme* dapat digunakan kembali, tambahkan saja sampah dapur segar. Atau bisa juga dibuat sebagai pupuk dengan cara mengeringkannya, kemudian kubur dalam tanah. Bisa juga digiling lalu masukkan ke toilet, tambahkan gula coklat lalu siram. Cara ini bermanfaat untuk membersihkan toilet.
- h) Jika tidak memiliki sampah dapur yang cukup, kita bisa memasukkannya sedikit-sedikit. Fermentasi 3 bulan dimulai ketika sampah dapur terakhir ditambahkan.
- i) Semakin lama difermentasikan akan semakin baik, *eco enzyme* tidak memiliki tanggal kadaluarsa. Jangan disimpan dalam kulkas, letakkan di suhu ruangan.

2.1.5 Gambaran Fisik *Eco Enzyme*

Eco enzyme dapat dikatakan berhasil apabila memiliki gambaran fisik organoleptik yang baik seperti beraroma asam segar khas fermentasi, derajat keasaman (pH) di bawah 4.0, dan pada umumnya *eco enzyme* mengalami perubahan yang semula berwarna coklat bening

(warna asal dari larutan gula aren) berubah menjadi berwarna coklat keruh¹⁷.

2.2 Bakteri *Staphylococcus aureus*

2.2.1 Klasifikasi bakteri *Staphylococcus aureus*

Menurut Soedarto pada buku Mikrobiologi Kedokteran pada tahun 2015, Klasifikasi *S. aureus* yaitu :³¹

Domain : *Bacteria*

Kingdom : *Eubacteria*

Filum : *Firmicutes*

Kelas : *Bacilli*

Ordo : *Bacillales*

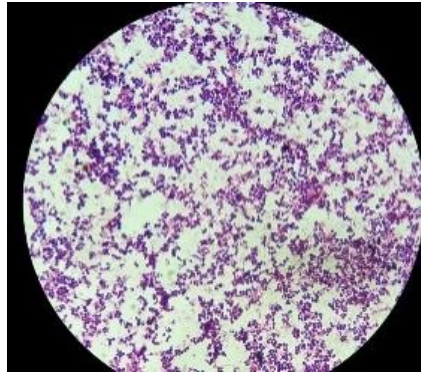
Famili : *Staphylococcaceae*

Genus : *Staphylococcus*

Spesies : *Staphylococcus aureus*

2.2.2 Morfologi bakteri *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus berasal dari kata *staphyle* berarti kelompok buah anggur, *coccus* berarti bulat dan *aureus* berarti keemasan. Bakteri ini sering ditemukan berkolonisasi sebagai flora normal pada kulit, rongga mulut dan hidung³⁰. *S. aureus* merupakan sel berbentuk bola dengan garis tengah sekitar 1 μm dan tersusun dalam kelompok-kelompok tak beraturan³². *S. aureus* merupakan bakteri anaerob fakultatif yang bersifat Gram-positif; jika dilihat di bawah mikroskop berbentuk seperti kelompok anggur^{33,34}.



Gambar 2.1 *Staphylococcus aureus* (Mikroskop perbesaran 1000x)
Sumber : *Journal of Agromedicine and Medical Sciences*. 2019; 5(1): 22.

2.2.3 Daya Infeksi bakteri *Staphylococcus aureus*

S. aureus merupakan patogen utama pada manusia dan hampir setiap orang pernah mengalami infeksi bakteri tersebut dengan tingkat keparahan yang bervariasi, mulai dari keracunan makanan hingga infeksi kulit ringan sampai berat yang mengancam jiwa³⁵. Jalur masuknya *Staphylococcus* ke tubuh melalui folikel rambut, tusukan jarum atau melalui saluran pernafasan. Prototipe lesi *Staphylococcus* adalah furunkel atau abses lokal lainnya yang dapat menyebabkan nekrosis jaringan (faktor dermatonekrotik)³⁶.

S. aureus dikenal sebagai patogen penting dalam infeksi kulit dan jaringan lunak di lingkungan yang mendukung bakteri tersebut berkembang³⁷. Tumbuh cepat pada beberapa media dan dengan aktif melakukan metabolisme, melakukan fermentasi karbohidrat, menghasilkan bermacam pigmen dari warna putih hingga kuning gelap. Bakteri ini dapat tumbuh dengan atau tanpa bantuan oksigen³⁸.

Infeksi yang disebabkan oleh bakteri ini dapat terjadi secara langsung maupun tidak langsung. Bakteri ini juga menghasilkan nanah

(pus) sehingga biasa disebut dengan bakteri piogenik. Ciri khas infeksi yang disebabkan oleh *S. aureus* pada infeksi piogenik adalah menyebabkan beberapa penyakit umum, diantaranya impetigo, sepsis, spondylodiscitis, otitis media, sistitis dan meningitis. Infeksi piogenik menghancurkan neutrofil melalui pelepasan leukosidin sehingga terbentuk abses⁵.

Faktor virulensi *S. aureus* saling mempengaruhi, dengan struktur dan sekresi produknya yang berperan dalam patogenesis infeksi. Manifestasi klinis menyebar luas termasuk bakterimia, endokarditis, pneumonia, osteomielitis, artritis septik, dan pembentukan abses³⁹.

S. aureus dapat mudah difagositosis dengan antibodi yang cukup, namun sebagian besar bakteri tetap bertahan hidup dan sangat sulit untuk dieliminasi seluruhnya. Bila infeksi tidak teratasi dengan baik, lesi berat dapat terjadi pada penjamu yang imun berupa hipersensitifitas lambat tipe IV³⁹.

2.2.4 Pengaruh *Staphylococcus aureus* terhadap Kesehatan rongga mulut

S. aureus adalah salah satu bakteri khas yang hidup di rongga mulut. Meskipun menjadi bagian dari flora normal, bakteri ini kadang-kadang dapat berubah menjadi patogen karena dipengaruhi oleh berbagai faktor, termasuk karakteristik inang, makanan, dan penggunaan antibiotik.

S. aureus merupakan bakteri globular, dikelompokkan seperti anggur, Gram-positif, mengandung protein yang bertindak sebagai antigen, zat penting dalam struktur dinding sel, tidak membentuk spora, dan memiliki ngela. Salah satu penyebab dari bakteri ini adalah infeksi pada rongga mulut. Infeksi ini ditandai dengan nekrosis, inflamasi, dan pembentukan abses⁴⁰.

S. aureus merupakan bakteri fakultatif anaerob yang tidak bergerak serta dapat tumbuh dan berkembang secara optimum pada suhu 37°C. *S. aureus* mempunyai selaput polisakarida yang berperan sebagai virulensi bakteri yang menimbulkan penyakit berspektum luas. *S. aureus* dapat melakukan pembelahan sel secara cepat dan menyebar luas ke jaringan serta memproduksi bahan ekstraseluler yang mengakibatkan infeksi pada manusia. Infeksi lokal ditandai dengan nyeri, reaksi inflamasi kuat dan terlokalisir⁴¹.

Plak gigi terbentuk melalui tiga tahap, yaitu proses pembentukan *pellicle*, kolonisasi primer, serta kolonisasi sekunder dan maturasi. Apabila proses ini terjadi secara terus menerus pada kurun waktu yang cukup lama dengan kebersihan rongga mulut yang buruk disertai respon imun yang tidak adekuat menyebabkan terjadinya proses inflamasi pada jaringan pendukung gigi dan mengalami kerusakan. Salah satu bakteri yang dapat melakukan kolonisasi pada *pellicle* gigi adalah *S. aureus*⁴².

S. aureus juga dapat memperberat kejadian periodontitis dengan masuk ke dalam periodontal *pocket* yang terbentuk karena adanya kedalaman sulkus gingiva yang tidak normal³⁶. Penderita penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri *S. aureus* umumnya diberi terapi berupa antibiotik seperti *cloxacillin*, *dicloxacillin* dan *eritromycin*⁴³.

2.3 Uji Fitokimia

Fitokimia adalah cabang ilmu yang mempelajari senyawa kimia alami yang terdapat dalam tumbuhan. Bidang ini berkaitan dengan identifikasi, isolasi, karakterisasi, dan pemahaman tentang senyawa-senyawa tersebut serta efek biologis atau farmakologisnya⁴⁴. Skrining fitokimia merupakan metode yang sederhana, cepat, serta sangat selektif, yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi golongan senyawa serta mengetahui keberadaan senyawa aktif biologis yang terdistribusi dalam jaringan tumbuhan⁴⁵. Adapun pendapat lain mengenai skrining fitokimia adalah uji kualitatif kandungan senyawa kimia dalam bagian tumbuhan, terutama kandungan metabolit sekunder yang di antaranya yaitu flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, dan sebagainya. Skrining fitokimia harus memenuhi beberapa persyaratan, antara lain sederhana, cepat, dapat dilakukan dengan menggunakan peralatan yang minimal⁴⁶. Tujuan utama fitokimia adalah untuk memahami komposisi kimia tumbuhan, hubungan struktur aktivitas senyawa, serta potensipenggunaannya seperti obat-obatan, makanan, dan produk alami lainnya⁴⁴. Kandungan senyawa fitokimia dipengaruhi berbagai faktor yaitu spesies,

varietas, kondisi pertumbuhan, variasi musim, metode pengolahan dan penyimpanan⁴⁷.

Adapun kandungan senyawa fitokimia antara lain:

1. Alkaloid

Alkaloid adalah senyawa metabolit sekunder terbanyak yang memiliki atom nitrogen, yang ditemukan dalam jaringan tumbuhan dan hewan⁴⁸. Nama alkaloid diambil dari kata alkaline yang merupakan istilah untuk menggambarkan zat-zat yang mengandung nitrogen⁴⁹. Alkaloid bersifat basa, sehingga dapat menggantikan basa mineral dalam mempertahankan keseimbangan ion dalam tumbuhan⁴⁸. Keberadaan alkaloid umumnya terkonsentrasi pada jumlah yang tinggi pada bagian tanaman tertentu seperti akar, biji, buah, daun, dan di kulit batang⁵⁰.

Senyawa alkaloid yang berkhasiat sebagai anti diare, anti diabetes, anti mikroba dan anti malaria, namun beberapa senyawa golongan alkaloid bersifat racun yang dapat melindunginya dari serangga dan herbivora, berperan sebagai pengatur pertumbuhan, dan senyawa simpanan yang mampu menyuplai nitrogen dan unsur lain yang dibutuhkan tanaman. Oleh karena itu, perlu dilakukan adanya identifikasi senyawa golongan alkaloid yang dapat diketahui manfaatnya⁴⁸.

Beberapa jenis tumbuhan mengandung bahan yang berkhasiat obat, namun tidak ada batasan yang jelas sehingga pemanfaatan

tanaman obat perlu hati-hati agar tidak berakibat fatal bagi yang menggunakan. Senyawa aktif pada tumbuhan yang bersifat racun bagi manusia tetapi dapat digunakan sebagai obat adalah senyawa alkaloid, sehingga dapat digunakan secara luas dalam bidang pengobatan. Pemeriksaan alkaloid dapat ditambahkan pada masing-masing tabung reaksi yaitu ditambahkan pereaksi Mayer maupun pereaksi Dragendorff dan alkaloid dianggap positif jika terjadi endapan atau kekeruhan⁵⁰.

Alkaloid memiliki efek farmakologi pada manusia dan hewan yakni sebagai zat antibakteri. Hal ini disebabkan karena alkaloid mempunyai kemampuan dalam menghambat kerja enzim untuk mensintesis protein bakteri. Penghambatan kerja enzim ini dapat mengakibatkan metabolisme bakteri terganggu. Alkaloid juga dapat merusak komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel⁴⁹.

2. Tanin

Tanin adalah senyawa fenol dengan memiliki berat molekul besar yang terdiri dari gugus hidroksil (OH) dan beberapa gugus yang bersangkutan seperti karboksil untuk membentuk kompleks kuat yang efektif dengan protein dan beberapa makromolekul. Secara kimiawi, terdapat dua jenis utama tanin yaitu tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis. Tanin terkondensasi terjadi

karena reaksi polimerisasi (kondensasi) antar flavonoid, sedangkan tanin terhidrolisis terbentuk dari reaksi esterifikasi asam fenolat dan gula (glukosa). Tanin mudah teroksidasi, bergantung pada banyaknya zat tersebut terkena air panas atau udara, dengan mudah ia dapat berubah menjadi asam tanat. Asam tanat sebagai salah satu contoh tanin terhidrolisis⁵¹.

Identifikasi terhadap senyawa tanin dilakukan melalui penambahan Besi(III) klorida (FeCl_3). Senyawa tanin adalah senyawa yang bersifat polar karena adanya gugus OH, ketika ditambahkan FeCl_3 10% akan terjadi perubahan warna seperti biru tua atau hijau kehitaman yang menandakan adanya senyawa tanin. Tanin terhidrolisis akan menunjukkan warna biru kehitaman sedangkan tanin terkondensasi akan menunjukkan warna hijau kehitaman ketika penambahan FeCl_3 .⁵²

3. Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu metabolit sekunder penting pada tumbuhan. Secara umum klasifikasi flavonoid terdiri dari flavon, flavonol, flavanol, flavanone, ansotianidin, dan kalkon. Klasifikasi flavonoid ini tergantung pada perbedaan substitusi struktur flavonoid dan perbedaan ini menyebabkan aktivitas farmakologi yang beragam⁵³. Flavonoid termasuk senyawa fenolik alam yang potensial sebagai antioksidan dan mempunyai bioaktivitas

sebagai obat. Senyawa-senyawa ini dapat ditemukan pada batang, daun, bunga, dan buah⁵⁴.

Flavonoid terhadap tumbuhan berperan memberi warna, rasa pada biji, bunga, dan buah serta aroma, melindungi tumbuhan dari pengaruh lingkungan, sebagai antimikroba, dan perlindungan dari paparan sinar UV. Di bidang kesehatan, senyawa ini berperan sebagai antibakteri, anti oksidan, anti inflamasi, dan anti diabetes⁵³. Selain itu, manfaat lain dari senyawa ini adalah untuk melindungi struktur sel, meningkatkan efektivitas vitamin C, mencegah keropos tulang dan sebagai antibiotik⁵⁴.

4. Saponin

Saponin merupakan salah satu senyawa metabolit sekunderyang terkandung dalam tanaman. Senyawa ini merupakan salah satu senyawa fitokimia yang mempunyai karakteristik berupa kemampuan membentuk busa dan mengandung aglikon polisiklik yang berikatan dengan satu atau lebih. Identifikasi senyawa saponin bertujuan untuk melihat apakah terdapat senyawa saponin di dalam ekstrak sampel menggunakan pelarut metanol dan etil asetat. Berdasarkan penelitian terdahulu, pengujian identifikasi saponin dengan cara uji buih pada ekstrak metanol positif senyawa saponin sedangkan ekstrak etil asetat negatif senyawa saponin, hal ini ditunjukkan dengan terbentuknya buih pada tabung reaksi yang berisi ekstrak metanol. Menurut Kumalasari dan Sulistyani (2011),

menyatakan bahwa busa terbentuk karena saponin merupakan senyawa yang mempunyai gugus hidrofilik dan hidrofob. Saat dikocok gugus hidrofilik akan berikatan dengan air sedangkan gugus hidrofob akan berikatan dengan udara sehingga membentuk buih⁵⁵.

2.4 Uji Daya Hambat

Uji daya hambat adalah proses pengujian untuk menentukan kemampuan suatu zat atau bahan dalam menghambat pertumbuhan atau aktivitas mikroorganisme seperti bakteri atau jamur. Daya hambat adalah kemampuan suatu zat dalam menghambat pertumbuhan dan perkembangan suatu mikroorganisme. Zona hambat merupakan daerah jernih di sekeliling sumur dari media pertumbuhan bakteri uji yang tidak ditumbuhi oleh bakteri⁵⁶. Zona hambat dapat terbentuk karena adanya kandungan antibakteri yang terdapat pada zat atau bahan yang diuji⁵⁷.

Pengukuran zona hambat dilakukan dengan cara mengambil garis horizontal pada zona bening di sekitar *disk* menggunakan jangka sorong⁵⁸. Menurut Morales et al (2003), aktivitas zona hambat antimikroba dikelompokkan menjadi empat kategori, yaitu : aktivitas lemah (<5 mm), sedang (5- 10 mm), kuat (>10- 20 mm), sangat kuat (>20- 30 mm). Aktivitas daya hambat antimikroba dinyatakan berdasarkan zona bening yang dihasilkan di sekitar kertas cakram. Diameter zona hambat pertumbuhan bakteri diukur dalam satuan milimeter (mm).⁵⁹ Terdapat beberapa faktor yang dapat mempengaruhi terbentuknya zona hambat yaitu kepekaan pertumbuhan

bakteri, rekasi antara bahan aktif dengan medium dan suhu inkubasi⁶⁰. Selain itu, tebalnya media agar-agar juga dapat menjadi salah satu faktor yang mempengaruhi diameter zona hambat pertumbuhan bakteri. Ketebalan agar-agar yang efektif yaitu sekitar 4 mm. Jika kurang dari 4 mm difusi ekstrak akan menjadi lebih cepat, sedangkan jika lebih dari 4 mm difusi ekstrak akan menjadi lambat⁶¹.

Beberapa metode uji daya hambat yang umum digunakan :

1. Metode Difusi Cakram (Disk Diffusion)

Metode difusi cakram merupakan pengukuran daerah zona bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram yang digunakan untuk mengetahui aktivitas antimikroba. Kelebihan dari metode difusi cakram yaitu proses pengujian cepat, biaya relatif murah, mudah dan tidak memerlukan keahlian khusus. Sedangkan kelemahan dari metode ini yaitu sulit untuk diaplikasikan pada mikroorganisme yang perkembangannya lambat dan zona bening yang terbentuk dipengaruhi pada kondisi inkubasi, inokulum serta ketebalan medium⁶².

2. Metode Difusi Agar (Agar Diffusion)

Metode difusi agar adalah suatu uji yang digunakan untuk menguji daya hambat suatu zat terhadap pertumbuhan mikroorganisme dengan menambah zat tersebut ke dalam media agar yang telah ditanami dengan mikroorganisme menggunakan

teknik tertentu seperti sumuran, kemudian mengamati zona hambat yang terbentuk di sekitar area di mana zat tersebut telah berdifusi dalam media agar⁶³.

3. Metode Dilusi

Metode dilusi dibagi menjadi 2, yaitu dilusi cair dan padat. Metode dilusi cair digunakan untuk mengukur KHM (kadar hambat minimum) sementara metode dilusi padat digunakan untuk menentukan KBM (kadar bakterisidal minimum). Cara yang dilakukan pada metode dilusi cair adalah dengan membuat seri pengenceran agen antimikroba pada medium cair yang ditambahkan dengan mikroba uji. Metode dilusi padat dilakukan dengan menginokulasi mikroba uji pada media agar yang mengandung agen antimikroba. Keuntungan dari metode dilusi adalah satu konsentrasi agen antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji⁶⁴.