

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram positif yang dapat menyebabkan infeksi di berbagai jaringan tubuh; mulai dari infeksi ringan hingga berat, bahkan telah menyebabkan kematian (Yusran dan Muhammad, 2018). Data melaporkan prevalensi resistensi di beberapa rumah sakit Indonesia terhadap mikroba ini mencapai 13-26%, sehingga menjadi salah satu target prioritas pencarian senyawa antimikroba baru oleh WHO (Dahesihdewi *et al.*, 2019).

Bahan alam menjadi salah satu sumber utama senyawa antimikroba baru dan salah satunya adalah kecombrang yang mengandung banyak metabolit sekunder seperti steroid, alkaloid, flavonoid, saponin, polifenol, dan minyak atsiri dengan aktivitas antibakteri (Naufalin *et al.*, 2005), antiinflamasi (Ginting *et al.*, 2022) dan antioksidan (Harun, 2024). Aktivitas antibakteri dari beberapa bagian tanaman kecombrang seperti buah, bunga, biji, batang dan rimpang kecombrang terhadap berbagai jenis mikroorganisme juga telah dilaporkan (Elviana *et al.*, 2022).

Buah kecombrang merupakan bagian tanaman yang paling banyak mengandung senyawa fenol seperti yang dilaporkan pada penelitian Nasution *et al.* (2020) ekstrak buah kecombrang mengandung senyawa fenol sebesar 261,52 mgGAE/g dibanding ekstrak tunas dan bunganya. Berdasarkan penelitian Yusran dan Muhammad (2018) menunjukkan ekstrak air buah kecombrang memiliki konsentrasi KHM sebesar 10% terhadap *S. aureus*. Penelitian lain oleh Dewi dan Kadir (2017) melaporkan ekstrak etanol buah kecombrang pada konsentrasi 5% menunjukkan zona hambat terbesar terhadap *S. aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Namun, belum ada penelitian yang melaporkan perbandingan jenis pelarut ekstraksi terhadap aktivitas antibakteri dari buah kecombrang terhadap *S. aureus*.

Pemilihan pelarut ekstraksi yang tepat dapat mengoptimalkan perolehan senyawa antimikroba, sehingga perlu diadakan penelitian dengan membandingkan aktivitas antimikroba terhadap ekstrak buah kecombrang dengan variasi pelarut ekstraksi. Penelitian Elviana *et al.* (2022) melaporkan adanya aktivitas dari ekstrak air dan etil asetat buah kecombrang terhadap *Escherichia coli*; aktivitas ini tidak nampak pada ekstrak n-heksan yang menunjukkan adanya pengaruh penggunaan pelarut terhadap aktivitas antimikroba.arena itu, penelitian ini difokuskan pada pengaruh pelarut terhadap aktivitas antibakteri tanaman kecombrang (*Etlingera elatior*)



1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah pada penelitian ini, yaitu:

1. Bagaimana pengaruh penggunaan pelarut ekstraksi yang berbeda pada aktivitas antimikroba terhadap bakteri uji *S. aureus*?
2. Golongan senyawa apakah yang terkandung dalam ekstrak buah kecombrang yang disari dengan jenis pelarut yang berbeda?

1.3 Tujuan

Berdasarkan rumusan masalah di atas, maka tujuan penelitian ini yaitu:

1. Untuk mengetahui pengaruh penggunaan pelarut ekstraksi yang berbeda pada aktivitas antimikroba terhadap bakteri uji *S. aureus*.
2. Untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak buah kecombrang yang disari dengan jenis pelarut yang berbeda.



BAB II METODE PENELITIAN

2.1 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah alat-alat gelas, *Biological Safety Cabinet* (*Thermo Scientific*®), *rotary evaporator* (*Banchll*®), mikro pipet, sonikator, jangka sorong, inkubator (*Memmert*®), autoklaf (*All American Model 25X-2*®), densitometer, blender, *waterbath*, timbangan analitik (*Ohaus*® SCOUT), jarum ose, *refrigerator*, botol coklat 100 mL, cawan porselen, oven, penangas air, pipet tetes, plastik *wrap* dan batang pengaduk.

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstrak buah kecombrang (koleksi Yuyu Mulsiani Evary), isolat *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) ATCC 29213, kertas cakram amoksisilin (*Oxoid*® 25 µg), kertas cakram kosong (*Macherey-Nagel*®), pelarut etanol 70%, pelarut etil asetat, pelarut n-heksana, media *Mueller Hinton Agar* (*HIMEDIA*®), lempeng silika gel GF254 (*Merck*®), reagen $AlCl_3$, reagen $FeCl_3$, reagen *Dragendorff*, reagen *Lieberman-Buchard*, reagen H_2SO_4 10%, media *Nutrient Agar* (*Merck*®), media *Peptone Water* (*Merck*®), akuades, *cotton swab*, kertas saring dan media *Mannitol Salt Agar* (*HIMEDIA*®).

2.2 Metode Kerja

2.2.1 Pembuatan ekstrak buah kecombrang

Serbuk buah kecombrang ditimbang sebanyak 10 gram dan direndam menggunakan 3 pelarut yang berbeda (etanol 70%, etil asetat dan n-heksana) dengan perbandingan 1:10. Setelah itu, campuran disonikasi selama 60 menit. Filtrat yang diperoleh kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C untuk memperoleh ekstrak kental (Delta dan Periselo, 2023; Elviana *et al.*, 2022).

2.2.2 Pembuatan suspensi bakteri

Suspensi biakan dibuat dengan mensuspensikan bakteri *S. aureus* yang telah diremajakan dalam larutan NaCl 0,9% hingga diperoleh kekeruhan setara dengan standar 0,5 Mc Farland (setara $1,5 \times 10^8$ cfu/mL) (Delta dan Periselo, 2023; Sidoretno, 2021).

2.2.3 Pembuatan media pertumbuhan bakteri

Media yang diinginkan, kemudian ditambahkan dengan air hingga larut. Media yang sudah larut disterilkan dalam autoclave pada suhu 121°C. Komposisi media dapat dilihat pada tabel 1 (Fisher, 2022).



2.2.4 Pembuatan larutan stok

Larutan stok dibuat dengan menimbang 200 mg ekstrak kemudian dilarutkan dengan pelarut masing-masing (etanol 70%, etil asetat, dan n-heksan) hingga volume larutan mencapai 5 mL sehingga diperoleh konsentrasi stok 40 mg/mL. Kemudian, pengenceran bertingkat disiapkan untuk memperoleh konsentrasi larutan stok 20 mg/mL dan 10 mg/mL.

2.2.5 Penentuan daya hambat dengan metode difusi

Larutan stok dari ekstrak beberapa pelarut diteteskan ke dalam kertas cakram kosong sebanyak 20 μ L hingga diperoleh konsentrasi akhir 800 μ g/disk, 400 μ g/disk dan 200 μ g/disk. Kontrol pelarut disiapkan dengan meneteskan 20 μ L dari masing-masing pelarut ke dalam kertas cakram kosong, kemudian didiamkan 30 menit agar kering. Suspensi biakan digoreskan secara rapat menggunakan *cotton swab* steril. Kertas cakram berisi ekstrak ditempelkan ke dalam media yang telah digoreskan biakan uji. Kertas cakram berisi antibiotik amoksisilin juga ditempelkan ke dalam media. Setelah itu, pra-inkubasi dilakukan di suhu dingin selama 15 menit, kemudian diinkubasi selama 1 x 24 jam pada suhu 37°C. Zona hambat yang terbentuk di sekitar kertas cakram diukur menggunakan jangka sorong (Delta dan Periselo, 2023).

2.2.6 Kromatografi lapis tipis (KLT)

Ekstrak etanol buah kecombrang, ekstrak etil asetat buah kecombrang, dan ekstrak n-heksana buah kecombrang ditotolkan pada lempeng silika gel GF254 kemudian dielusi dengan campuran fase gerak untuk masing-masing ekstrak. Perbandingan eluen yang digunakan antara lain etanol : metanol (3:1,5) untuk ekstrak etanol 70%, etil asetat : n-heksan (3:1) untuk ekstrak etil asetat, dan etil asetat : n-heksan (2:3) untuk ekstrak n-heksan. Setelah itu, dilakukan pengamatan pada sinar UV 254 nm, 366 nm dan penyemprotan H_2SO_4 10% untuk memperjelas penampakan noda (Pramiastuti *et al.*, 2018).

2.2.7 Skrining fitokimia dengan metode semprot

Lempeng silika gel yang telah dielusi kemudian disemprotkan dengan penampak bercak. Pada uji flavonoid menggunakan reagen AlCl_3 , hasil positif ditandai dengan warna kuning-kehijauan. Pada uji fenol menggunakan reagen FeCl_3 , hasil positif ditandai dengan warna hijau kehitaman. Pada uji alkaloid menggunakan reagen *Dragendorff*, hasil positif ditandai dengan warna jingga. Pada uji triterpenoid/steroid menggunakan reagen *Lieberman-Buchard*), hasil positif ditandai dengan warna merah keunguan. k dilihat pada sinar UV 254 nm dan 366 (Pramiastuti *et al.*,



a

yang diperoleh kemudian dianalisis dan dibahas selanjutnya kesimpulan.