

# BAB I PENDAHULUAN

## I.1 Latar Belakang

*Pseudomonas aeruginosa* terkenal akan patogenisitasnya pada manusia, karena kemampuannya untuk menyebabkan infeksi pada individu dengan kekebalan tubuh yang rendah. Bakteri ini bertanggung jawab atas sebagian besar infeksi nosokomial, dengan perkiraan 10-20% kasus disebabkan oleh bakteri ini. Bakteri ini umumnya ditemukan di lingkungan rumah sakit, termasuk peralatan medis, kateter, cairan infus, dan bahkan sabun (Puspita dan Muflifah, 2023). Bakteri ini diklasifikasikan sebagai *multidrug-resistant* (MDR), yang menunjukkan resistensi terhadap berbagai antibiotik. Selain dari sifat resistennya, *P. aeruginosa* dapat bertahan hidup di lingkungan yang sangat ekstrim ketika berada dalam bentuk biofilm. Pengobatan untuk menangani infeksi *P. aeruginosa* menjadi tantangan berat karena bakteri ini memiliki kemampuan bermutasi dengan cepat (Qin dkk., 2022). Salah satu strategi yang dapat digunakan adalah mencari senyawa antimikroba baru dari bahan alam.

Kecombrang (*Etilingera elatior*)—atau yang biasa dikenal dengan sebutan “Bongkot”—merupakan salah satu tanaman bumbu masakan yang digunakan oleh Masyarakat untuk berbagai masalah seperti bau mulut dan badan, penyembuhan luka, dan lain-lain (Wardani, 2020). Buah kecombrang merupakan bagian tanaman kecombrang yang paling sering digunakan serta memiliki kandungan fenolik yang lebih tinggi (261,52 mgGAE/g) dibandingkan dengan ekstrak bunga atau tunas kecombrang (Isyanti dkk., 2019; Nasution dkk., 2020). Secara *in vitro*, buah kecombrang telah dilaporkan menunjukkan aktivitas terhadap berbagai bakteri seperti *Escherichia coli* (Elviana dkk., 2022); *Staphylococcus aureus* (Dewi dan kadir, 2020), *Bacillus cereus* dan *P. aeruginosa* (Girsang dkk., 2022). Dalam menghambat pertumbuhan bakteri *P. aeruginosa*, ekstrak etanol buah kecombrang dalam konsentrasi 5% menunjukkan diameter zona hambat sebesar 18,20 mm terhadap *P. aeruginosa* (Dewi dan Kadri, 2020). Namun, hingga saat ini belum terdapat penelitian yang melaporkan aktivitas dari ekstrak-ekstrak buah kecombrang yang disari menggunakan pelarut lainnya terhadap bakteri *P. aeruginosa*.

Penggunaan pelarut dapat mempengaruhi senyawa antimikroba yang diperoleh selama proses ekstraksi. Kadar senyawa bioaktif yang terkandung di dalam suatu ekstrak akan lebih tinggi apabila menggunakan pelarut yang sesuai, hal ini dikarenakan variasi kepolaran suatu pelarut dan senyawa (Megha dan agai contoh, penelitian Elviana dkk. (2022) melaporkan tidak antimikroba dari ekstrak n-heksan buah kecombrang terhadap aktivitas ini nampak pada ekstrak air dan etil asetat. Aktivitas kan pada ekstrak bunga kecombrang (Naufalin dkk., 2005), atang kecombrang, ekstrak etil asetat menunjukkan aktivitas kuat terhadap *Streptococcus mutans* (Suryani dkk., 2019). Hal



tersebut menunjukkan adanya variasi aktivitas antimikroba, sehingga perlu diadakan penelitian yang lebih lanjut untuk menentukan pelarut yang paling optimal dalam menyari senyawa antimikroba dari buah kecombrang.

### **I.2 Rumusan Masalah.**

1. Bagaimana pengaruh penggunaan pelarut ekstraksi yang berbeda pada aktivitas antimikroba terhadap bakteri uji *P. aeruginosa*?
2. Golongan senyawa apakah yang dapat terekstrasi dan terkandung pada ekstrak buah kecombrang dari berbagai varian pelarut?

### **I.3 Tujuan**

1. Untuk mengetahui pengaruh penggunaan beberapa pelarut ekstraksi pada aktivitas antimikroba terhadap bakteri *P. aeruginosa*.
2. Untuk mengetahui golongan senyawa yang dapat terekstraksi dan terkandung pada ekstrak buah kecombrang dari berbagai varian pelarut.



## BAB II METODE PENELITIAN

### II.1 Alat dan Bahan

#### II.1.1 Alat

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.

#### II.1.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstrak buah kecombrang (koleksi Yuyu Mulsiani Evary), isolat *P.aeruginosa* (ATCC 27853), media *Mueller Hinton Agar* (HIMEDIA®), kertas cakram gentamisin (Oxoid® 10 µg), kertas cakram (*Macherey-Nagel*®), pelarut etanol 70%, pelarut etil asetat, pelarut n-heksan, *cotton swab*, ose bulat, lempeng silika gel GF-254 (Merck®), reagen AlCl<sub>3</sub>, reagen FeCl<sub>3</sub>, reagen *Dragendorff*, reagen *Lieberman-Buchard*, reagen H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10%, media *Nutrient Agar* (Merck®), media *Trypton Soy Broth* (Merck®), *aquadest*, kertas saring dan media *Cetrimide Agar* (HIMEDIA®).

### II.2 Metode Penelitian

#### II.2.1 Pembuatan Ekstrak Buah Kecombrang

Buah kecombrang dikeringkan menggunakan oven, kemudian diblender hingga menjadi bubuk. Serbuk buah kecombrang ditimbang sebanyak 10 g, lalu direndam dengan perbandingan 1:10 menggunakan 3 pelarut (etanol 70%, etil asetat dan n-heksan). Kemudian, serbuk buah kecombrang yang telah direndam dengan pelarut disonikasi selama 60 menit. Filtrat yang dihasilkan kemudian diuapkan dengan menggunakan rotary evaporator pada suhu 50°C, sehingga menghasilkan ekstrak yang lebih pekat (Delta dan Periselo, 2023; Elviana dkk., 2022).

#### II.2.2 Pembuatan Suspensi Bakteri

Bakteri *P. aeruginosa* diinokulasikan pada media *nutrient agar* dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C (Bhakti dkk., 2024). *P. aeruginosa* yang telah diremajakan disuspensikan kedalam larutan NaCl 0,9% dan disetarakan adap larutan McFarland 0,5 dengan bantuan densitometer



#### Media Pertumbuhan Bakteri

*Mueller Hinton Agar* (MHA) ditimbang sesuai kebutuhan dan dicampurkan ke dalam labu Erlenmeyer (38 g dalam 1 liter). Dihomogenkan menggunakan penangas air hingga larut. Labu Erlenmeyer

kemudian ditutup dan disterilkan dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C. Komposisi media *Mueller Hinton Agar* dapat dilihat pada Lampiran 3 (Junaedi dkk., 2023).

#### II.2.4 Pembuatan Larutan Stok

Larutan stok disiapkan dengan menimbang 200 mg ekstrak dan melarutkannya dalam 5 mL pelarut masing-masing (etanol 70%, etil asetat dan n-heksan) untuk menghasilkan konsentrasi stok 40 mg/mL. Selanjutnya, pengenceran bertingkat dilakukan untuk mendapatkan konsentrasi 20 mg/mL dan 10 mg/mL.

#### II.2.5 Penentuan Daya Hambat dengan Metode Difusi

Sebanyak 20 µL larutan stok ditambahkan ke kertas cakram kosong (konsentrasi akhir tiap kertas cakram adalah 200 µg/disk, 400 µg /disk dan 800 µg/disk). Masing-masing pelarut organik juga ditambahkan pada kertas cakram kosong dalam volume 20 µL, yang berfungsi sebagai kontrol untuk pelarut. Larutan stok dan pelarut tersebut kemudian dibiarkan menyerap ke dalam kertas cakram selama 30 menit agar kering. Suspensi bakteri *P. aeruginosa* digoreskan secara sinambung dan rapat dengan *cotton swab* steril. Selanjutnya, kertas cakram yang telah berisi dengan ekstrak buah kecombrang ditempelkan ke dalam media MHA yang telah digores. Kertas cakram berisi antibiotik gentamisin digunakan sebagai kontrol positif, sedangkan kontrol negatif menggunakan kertas cakram yang masing-masing berisi 3 pelarut berbeda (etanol 70%, etil asetat dan n-heksan). Cawan diinkubasi selama 1 x 24 jam pada suhu 37°C, besar diameter zona hambat diamati dan diukur dengan jangka sorong (Rizki dkk., 2022).

#### II.2.6 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Pada lempeng silika gel GF-254, ditotolkan ekstrak etanol, etil asetat dan n-heksan buah kecombrang sebanyak dua kali. Kemudian, ekstrak buah kecombrang pada lempeng silika dielusikan menggunakan tiga perbandingan fase gerak. Fase gerak ekstrak etanol 70% menggunakan etanol : metanol (3 : 1,5), ekstrak etil asetat menggunakan etil asetat : n-heksan (3 : 1), ekstrak n-heksan menggunakan etil asetat : n-heksan (2 : 3). Hasil elusi diamati pada sinar UV 254 nm dan 366 nm (Pramiastuti dkk., 2018).

#### II.2.7 Skrining Fitokimia dengan Metode Pereaksi Semprot

Lempeng silika gel yang telah dielusi sebelumnya, kemudian disemprot dengan berbagai macam reagen penampak bercak. Pereaksi  $AlCl_3$ , yang digunakan untuk uji flavonoid; pereaksi  $FeCl_3$ , yang digunakan untuk uji tanin; pereaksi *Dragendorff*, yang digunakan untuk uji alkaloid; dan pereaksi *Lieberman-Burchard*, yang digunakan untuk uji triterpenoid/steroid. Semua pengamatan dilakukan di panjang gelombang 254 nm dan 366 nm (Jonathan dkk.,



### II.2.8 Analisis Data

Data hasil pengujian yang diperoleh kemudian dikumpulkan dan dianalisis menggunakan aplikasi statistik *Microsoft Excel*. Hasil data statistik kemudian dijadikan pembahasan dan kesimpulan.

