

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Umbi Sarang Semut

1. Hasil Determinasi Tanaman Sarang Semut

Determinasi adalah membandingkan suatu tumbuhan dengan satu tumbuhan yang sudah dikenal sebelumnya atau dicocokkan (Setyani *et al.*, 2016). Determinasi suatu tanaman bertujuan untuk mengetahui kebenaran identitas tanaman tersebut, apakah tanaman tersebut adalah tanaman yang diinginkan untuk penelitian, dengan demikian kesalahan dalam pengumpulan bahan yang diteliti dapat dihindari. Determinasi tanaman Sarang Semut (*Myrmecodia pendens*) dilakukan di Laboratorium Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi Universitas Sebelas Maret Surakarta.

Hasil determinasi menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963; 1965):

1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-29b-30b-31b-403b-404b-405b-414a-415a-416b-417b-418a-419a_162. Rubiaceae

1a-2a-3b_____58. Myrmecodia

1_____ *Myrmecodia pendens* Merr. & L.M. Perry

Berdasarkan hasil determinasi diatas dapat diperoleh kepastian bahwa tanaman yang digunakan pada penelitian ini adalah spesies *Myrmecodia pendens* Merr. & L.M. Perry. Hasil determinasi dapat dilihat pada lampiran 1.

2. Pengeringan dan Pembuatan Serbuk Umbi Sarang Semut

Umbi Sarang Semut yang digunakan dalam penelitian ini diambil secara acak di daerah Wamena, provinsi Papua pengambilan dilakukan dengan memilih umbi yang sudah matang berwarna coklat, selanjutnya umbi Sarang Semut dilakukan pengeringan sampai umbi mudah dihancurkan. Tujuan dari pengeringan adalah mencegah pertumbuhan mikroorganisme atau jamur dan penguraian senyawa aktif oleh reaksi enzimatik serta proses hidrolisis karena kandungan air yang tinggi agar simplisia yang dihasilkan tidak mudah rusak sehingga bisa disimpan dalam waktu yang lama (Diniatik, 2015). Pengeringan dilakukan dengan memasukan umbi Sarang Semut ke dalam oven pada suhu 40°C selama 6 hari.

Umbi Sarang Semut yang sudah kering kemudian digiling menggunakan mesin penggiling, setelah menjadi serbuk kemudian diayak dengan ayakan mesh 40 agar serbuk menjadi halus dan partikel partikel selain serbuk tidak terikut. Hasil ayakan disimpan dalam wadah kering, bersih dan tertutup dan nanti akan digunakan untuk pembuatan ekstrak dan pengujian aktivitas antibakteri.

3. Hasil Penetapan Kadar Air Serbuk Umbi Sarang Semut

Penetapan kadar air serbuk umbi Sarang Semut ini memakai alat *Bidwell-sterling* dengan metode destilasi dan pelarut xylen. Serbuk umbi Sarang Semut ditimbang sebanyak 19,9988 gram ditambah dengan 125 ml xylen hasil akhir yang

didapatkan dari volume air yang terdestilasi yaitu 1 mL dilihat pada skala *receiver*.

Hasil penetapan kadar air dapat dilihat pada table 2:

Tabel 1. Penetapan Kadar Air Serbuk Umbi Sarang Semut

Berat bahan (gram)	Skala (mL)	Kadar Air (%)
19,9988 gram	1 mL	5,0%

Tabel 2. menunjukkan hasil penetapan kadar air serbuk umbi Sarang Semut yang diperoleh adalah 5,0%, sehingga telah memenuhi syarat yang telah ditetapkan yaitu kurang dari 10% (Hermawan *et al.*, 2016). Hasil yang diperoleh pada penetapan kadar air menunjukkan semakin tinggi suhu dan lama pengeringan umbi Sarang Semut menyebabkan kadar air didalam simplisia semakin kecil hal ini dikarenakan pada suhu tinggi air yang terkandung pada umbi Sarang Semut lebih banyak menguap dibandingkan dengan pengeringan memakai suhu yang rendah (Supriningrum *et al.*, 2018). Perhitungan penetapan kadar air serbuk umbi Sarang Semut dapat dilihat pada lampiran 4.

4. Hasil Pembuatan Ekstrak Perkolasi Umbi Sarang Semut

Pembuatan ekstrak dari umbi Sarang Semut dilakukan dengan metode perkolasi yang menggunakan pelarut etanol 96%. Waktu yang dibutuhkan perkolat untuk mencapai warna jernih adalah 5 hari. Volume cairan ekstrak yang didapat adalah 1800 mL. Hasil perhitungan persentase dari rendemen ekstrak umbi Sarang Semut didapatkan hasil sebagai berikut:

Tabel 2. Rendemen ekstrak

Serbuk umbi Sarang Semut (gram)	Berat wadah kosong (gram)	Berat wadah + ekstrak (gram)	Berat ekstrak yang didapat (gram)	Rendemen (%)
100 gram	127,92	150,13	22,21	22,21%

Tabel 3. menunjukkan persentase rendemen ekstrak etanolik umbi Sarang Semut sebesar 22,21%. Cairan ekstrak kemudian dipekatkan dengan evaporator hingga diperoleh ekstrak yang kental. Organoleptis ekstrak yang diperoleh berwarna coklat tua dan kental. Hasil perhitungan rendemen ekstrak dapat dilihat pada lampiran 5.

5. Uji Bebas Alkohol Ekstrak Etanolik Umbi Sarang Semut

Uji bebas alkohol ekstrak umbi Sarang Semut memiliki tujuan untuk memastikan kandungan alkohol (etanol) yang terkandung dalam ekstrak telah hilang dan tidak mempengaruhi hasil uji aktivitas antibakteri, selain itu etanol sendiri bersifat sebagai antibakteri dan antifungi sehingga tidak akan menimbulkan positif palsu pada pengujian (Kurniawati, 2015). Hasil uji bebas alkohol ekstrak umbi Sarang Semut dapat dilihat pada tabel 4:

Tabel 3. Uji Bebas Alkohol

Prosedur	Pustaka	Hasil
Ekstrak Umbi Sarang Semut + H ₂ SO ₄ pekat + CH ₃ COOH, kemudian dipanaskan	Tidak timbul bau ester	Tidak timbul bau ester etil asetat

Berdasarkan hasil pengujian bebas alkohol, ekstrak etanolik umbi Sarang Semut dinyatakan sudah bebas etanol dengan tidak adanya bau ester etil asetat

sehingga ekstrak etanolik umbi Sarang Semut dapat digunakan untuk penelitian uji aktivitas antibakteri.

6. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Umbi Sarang Semut

Identifikasi kandungan senyawa kimia pada ekstrak etanolik umbi Sarang Semut dilakukan dengan reaksi tabung. Identifikasi ini meliputi Flavonoid, Tanin, dan Polifenol. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak umbi Sarang Semut dapat dilihat pada tabel 5 dan lampiran 6:

Tabel 4. Identifikasi Kandungan Senyawa Kimia

Uji	Prosedur	Pustaka	Hasil Percobaan	Keterangan
Flavonoid	Ekstrak + 1 mL etanol 96% + 0,5 gr serbuk seng + 2 mL HCl 2N didiamkan kemudian + 2 mL HCl pekat	Reaksi Positif jika terbentuk warna merah jingga atau kuning (Soemari <i>et al.</i> , 2018).	Merah jingga	+
Tanin	2 mL Ekstrak + 3 tetes FeCl ₃ 1%	Reaksi positif jika terbentuk warna biru kehitaman atau biru tua (Soemari <i>et al.</i> , 2018).	Biru kehitaman	+
Polifenol	2 mL Ekstrak + aquadest 10 mL, dipanaskan 5', disaring filtrate+ 5 tetes FeCl 5%	Reaksi positif jika terbentuk warna biru tua atau hijau kehitaman (Munte <i>et al.</i> , 2015)	Hijau kehitaman	+

Berdasarkan tabel 5. menunjukkan bahwa ekstrak umbi Sarang Semut memiliki metabolit sekunder Flavonoid, Tanin dan Polifenol yang sesuai dengan penjelasan (Subroto & Saputro, 2006), bahwa hasil skrining fitokimia dari tumbuhan Sarang Semut menunjukkan adanya kandungan senyawa kimia dari golongan flavonoid, tanin dan polifenol.

Hasil skrining fitokimia senyawa golongan flavonoid pada ekstrak umbi Sarang Semut mendapatkan hasil positif, dibuktikan dengan terbentuknya warna merah jingga. Penambahan serbuk seng dan HCl menyebabkan tereduksinya senyawa flavonoid sehingga menimbulkan hasil reaksi warna merah jingga yang merupakan ciri adanya flavnoid (Soemari *et al.*, 2018).

Senyawa golongan tanin pada ekstrak umbi Sarang Semut mendapatkan hasil positif dibuktikan dengan terbentuknya warna biru kehitaman dan hasil skrining fitokimia senyawa golongan polifenol mendapatkan hasil positif dengan terbentuk hasil reaksi berwarna hijau kehitaman.

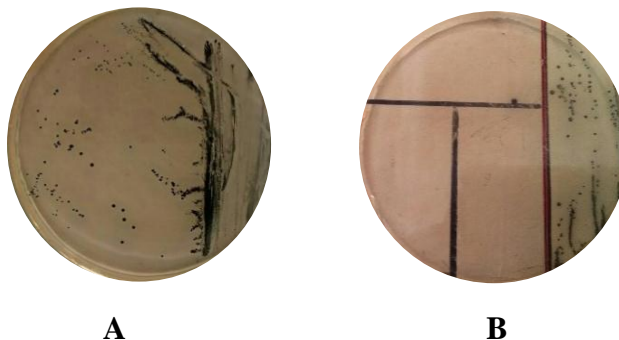
B. Uji aktivitas Antibakteri

1. Hasil Isolasi dan Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus* Kultur Laboratorium dan Isolat Sampel Pasien Rumah Sakit.

a. Isolasi dan Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus* Kultur Laboratorium dan Isolat Sampel Pasien Rumah Sakit dengan Media *Vogel Johnson Agar* (VJA)

Identifikasi *Staphylococcus aureus* pada medium Natrium Agar (NA) diinokulasikan pada medium Vogel Johnson Agar (VJA) yang telah ditambahkan kalium telurit sebanyak 4 tetes kemudian

diinokulasi selama 24 jam pada suhu 37°C. didapatkan hasil pertumbuhan koloni sebagai berikut:



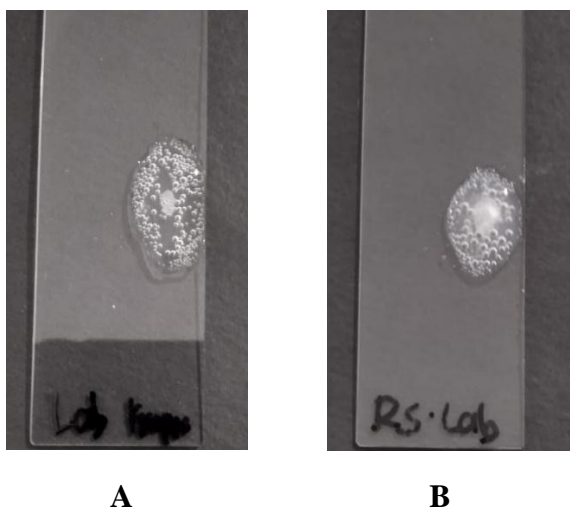
Gambar 1. (A) Inokulasi *Staphylococcus aureus* kultur laboratorium pada media VJA
(B) Inokulasi *Staphylococcus aureus* isolat sampel pasien rumah sakit pada media VJA

Gambar 8 Menunjukkan hasil pengamatan, pertumbuhan koloni yang dihasilkan berwarna hitam dan dikelilingi areal berwarna kuning. Koloni hitam yang terbentuk disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* yang mampu mereduksi *potassium tellurite* yang ditambahkan pada media VJA menjadi logam tellurium yang mengakibatkan koloni berwarna hitam. Sedangkan warna kuning disekitar koloni diakibatkan karena adanya reaksi fermentasi manitol (Primatika *et al.*, 2015).

Koloni bakteri *Staphylococcus aureus* berwarna hitam pada media Vogel Johnson Agar (VJA) diinokulasikan ke media Brain Heart Infusion (BHI) kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Didapatkan hasil kekeruhan yang menandakan adanya pertumbuhan pada media BHI.

b. Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus* Kultur Laboratorium dan Isolat Sampel Pasien Rumah Sakit dengan Uji Katalase

Uji katalase dilakukan dengan cara meneteskan Hydrogen peroksida (H_2O_2) pada *objek glass* kemudian oleskan 1-2 ose koloni, dikatakan positif jika terbentuk gelembung udara..(Brooks *et al.*, 2014). berdasarkan hasil uji katalase terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* isolat sampel pasien Rumah Sakit Dr. Moewardi didapatkan hasil positif yang ditunjukkan dengan adanya gelembung-gelembung udara. Hasil dari uji katalase dapat dilihat pada gambar 9 dan tabel 6:

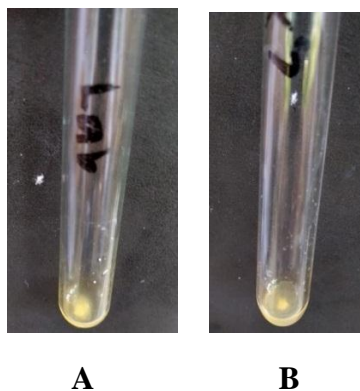


Gambar 2. (A) Hasil uji katalase bakteri *Staphylococcus aureus* kultur laboratorium
(B) Hasil uji katalase bakteri *Staphylococcus aureus* isolat sampel pasien rumah sakit

Uji katalase digunakan untuk mendeteksi adanya enzim sitokrom oksidase. Pembentukan gelembung-gelembung udara dikarenakan adanya pelepasan oksigen (Brooks *et al.*, 2014).

c. Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus* Kultur Laboratorium dan Isolat Sampel Pasien Rumah Sakit dengan Uji Koagulase

Uji koagulase dilakukan dengan cara mengambil koloni yang tumbuh pada media VJA diinokulasikan ke media BHI kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. 1 mL larutan plasma ditambahkan 3-4 ose suspensi bakteri kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Dikatakan positif jika terbentuk gumpalan. Berdasarkan hasil uji koagulase terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* isolat sampel pasien Rumah Sakit Dr. Moewardi didapatkan hasil positif dengan ditemukannya gumpalan. Hasil uji koagulase dapat dilihat pada gambar 10 dan tabel 6:



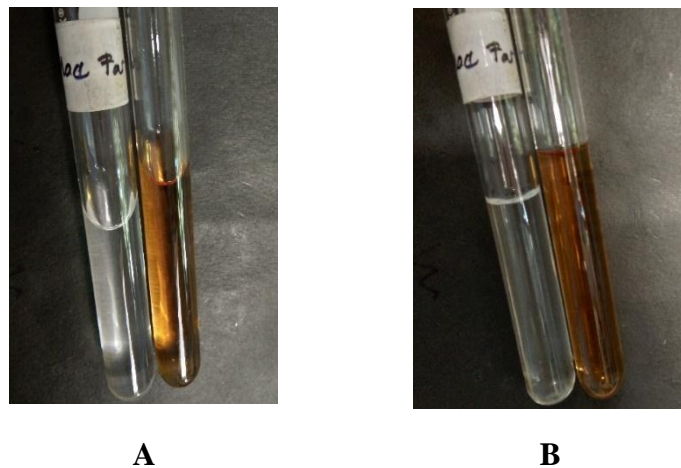
Gambar 3. (A) Hasil uji koagulase bakteri *Staphylococcus aureus* kultur laboratorium
(B) Hasil uji koagulase bakteri *Staphylococcus aureus* isolat sampel pasien rumah sakit

Gambar 10 menunjukkan hasil test koagulase pada *Staphylococcus aureus* kultur lab dan isolat sampel pasien dinyatakan positif karna terbentuk gumpalan. Enzim koagulase menghasilkan

esterase yang dapat meningkatkan aktivitas penggumpalan, sehingga terbentuk deposit fibrin pada permukaan sel yang dapat menghambat fagositosis (Jawetz *et al.*, 2013).

2. Hasil Pembuatan Suspensi *Staphylococcus aureus* Kultur Laboratorium dan Isolat Sampel Pasien Rumah Sakit.

Hasil pembuatan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* isolat sampel pasien rumah sakit dan kultur laboratorium dapat dilihat pada gambar 11:



Gambar 4. (A) suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* kultur laboratorium
(B) suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* isolat sampel pasien rumah sakit

Suspensi bakteri disamakan dengan standar Mc Farland yang merupakan penyetaraan konsentrasi mikroba dengan menggunakan larutan BaCl_2 dan H_2SO_4 . Standar kekeruhan Mc Farland ini dimaksudkan untuk menggantikan perhitungan bakteri satu per satu serta memperkirakan kepadatan sel yang akan digunakan pada pengujian (Haris *et al.*, 2013).

Tabel 5. Hasil Identifikasi Makroskopis Bakteri *Staphylococcus aureus* Kultur Laboratorium dan Isolat Sampel Pasien Rumah Sakit.

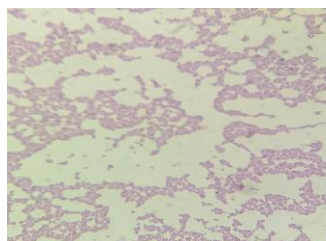
Jenis Uji	Hasil Pengamatan	Pustaka	Keterangan	
			RS	LAB
Media VJA	Bentuk : Bulat halus Warna : Hitam Permukaan : Cembung Khas : Adanya warna kuning disekitar koloni		+	+
BHI	Adanya kekeruhan	Adanya kekeruhan	+	+
Uji Katalase	Terbentuk gelembung udara	Terbentuk gelembung udara	+	+
Uji Koagulase	Terbentuk gumpalan	Terbentuk gumpalan	+	+

Keterangan: + = positif *Staphylococcus aureus*

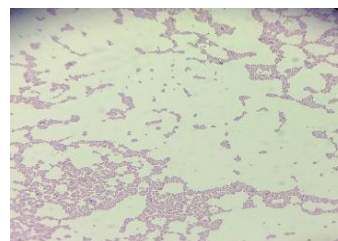
- = Negatif *Staphylococcus aureus*

3. Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus* Kultur Laboratorium dan Isolat Sampel Pasien Rumah Sakit dengan Pengecatan Gram

Identifikasi morfologi bakteri *Staphylococcus* dilakukan dengan pewarnaan gram yang didapatkan hasil sebagai berikut:



A



B

- Gambar 5.** (A) Hasil pewarnaan gram bakteri *Staphylococcus aureus* kultur laboratorium
(B) Hasil pewarnaan gram bakteri *Staphylococcus aureus* isolat sampel pasien rumah sakit

Identifikasi mikroskopis dari gambar 12 menunjukkan hasil koloni bulat, berwarna ungu dan bergerombol. Tujuan pewarnaan gram adalah mengetahui warna dan jenis gram sel bakteri tersebut. *Staphylococcus aureus* adalah bakteri gram positif sehingga berwarna ungu karna mempertahankan zat warna kristal violet. Koloni mikroskopik cenderung berbentuk menyerupai anggur (Radji, 2010).

C. Pengujian Aktivitas Antibakteri Secara Difusi Terhadap Bakteri

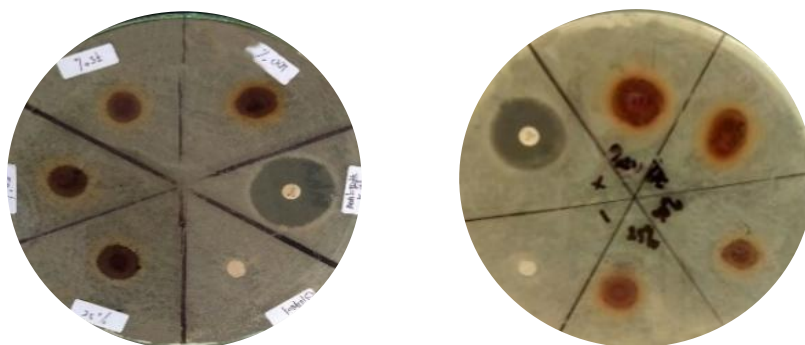
***Staphylococcus aureus* Kultur Laboratorium dan Isolat Sampel Pasien Rumah Sakit.**

Hasil sediaan dari ekstrak etanolik umbi Sarang Semut dilakukan pengujian aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* kultur laboratorium dan *Staphylococcus aureus* isolat pasien rumah sakit dengan menggunakan metode difusi. Pengujian ini menggunakan ekstrak kental dibagi menjadi empat konsentrasi yaitu 25%, 50%, 75% dan 100%. Penentuan seri konsentrasi ekstrak mengacu pada penelitian yang sudah dilakukan oleh Roslizawaty *et al.*, (2013). Penelitian tersebut menggunakan ekstrak etanolik Sarang Semut dan rebusan Sarang Semut dengan konsentrasi masing-masing 25% dan 50%. Konsentrasi ekstrak etanol pada penelitian ini dimulai dari konsentrasi 25%. Perbedaan metode ekstraksi, jenis penyari, dan jenis bakteri dengan penelitian sebelumnya dapat memberikan hasil yang berbeda, oleh karena itu konsentrasi pada penelitian ini ditingkatkan sampai 100%. Kontrol negatif dan pelarut yang digunakan adalah DMSO 2% karena dapat

melarutkan hampir seluruh senyawa polar maupun non polar, selain itu DMSO tidak memberikan daya hambat pada pertumbuhan bakteri sehingga tidak dapat mengganggu hasil pengujian aktivitas antibakteri (Fadlila *et al.*, 2015). Kontrol positif memakai Ciprofloxacin karna telah terbukti sebagai obat antibakteri.

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanolik umbi Sarang Semut yang memakai metode difusi dengan waktu inkubasi 24 jam pada suhu 37°C agar pertumbuhan bakteri optimal. Pembacaan hasil dilakukan dengan melihat zona jernih disekitar cakram disk, zona jernih tersebut diukur dengan jangka sorong dinyatakan dengan diameter (mm) dan kemudian dibandingkan dengan kontrol positif Ciprofloxacin. Replikasi yang dilakukan pada penelitian ini sebanyak tiga kali.

Hasil uji aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* kultur laboratorium dan isolat sampel pasien rumah sakit metode difusi dapat dilihat pada gambar 13, lampiran 7 dan tabel 7:



Gambar 6. (A) Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak umbi Sarang Semut terhadap *Staphylococcus aureus* kultur laboratorium metode difusi
(B) Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak umbi Sarang Semut terhadap *Staphylococcus aureus* isolat sample pasien rumah sakit metode difusi

Gambar 13 menunjukkan hasil pengamatan dari uji aktivitas antibakteri dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, 100% dimana terdapat daya hambat yang ditunjukkan dengan adanya zona bening disekitar cakram disk.

Hasil diameter zona hambat dari uji aktivitas antibakteri dapat dilihat sebagai berikut:

Tabel 6. Hasil Diameter Zona Hambat Pada Uji Aktivitas Antibakteri Umbi Sarang Semut Terhadap *Staphylococcus aureus* Kultur Laboratorium dan Isolat Sampel Pasien Rumah Sakit secara Difusi

Jenis	Konsentrasi	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-rata Diameter Zona Hambatan (mm)
		R1	R2	R3	
<i>Staphylococcus aureus</i> kultur laboratorium	25%	15	16	15	15,3
	50%	15	15	16	15,3
	75%	16	17	17	16,7
	100%	17	17	18	17,3
	Kontrol + (Ciprofloxacin)	29	25	27	27
	Kontrol - (DMSO 2%)	0	0	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i> isolat sampel pasien	25%	13	13	12	12,7
	50%	13	14	13	13,3
	75%	14	14	13	13,7
	100%	14	16	15	15
	Kontrol + (Ciprofloxacin)	31	29	34	31,3
	Kontrol - (DMSO 2%)	0	0	0	0

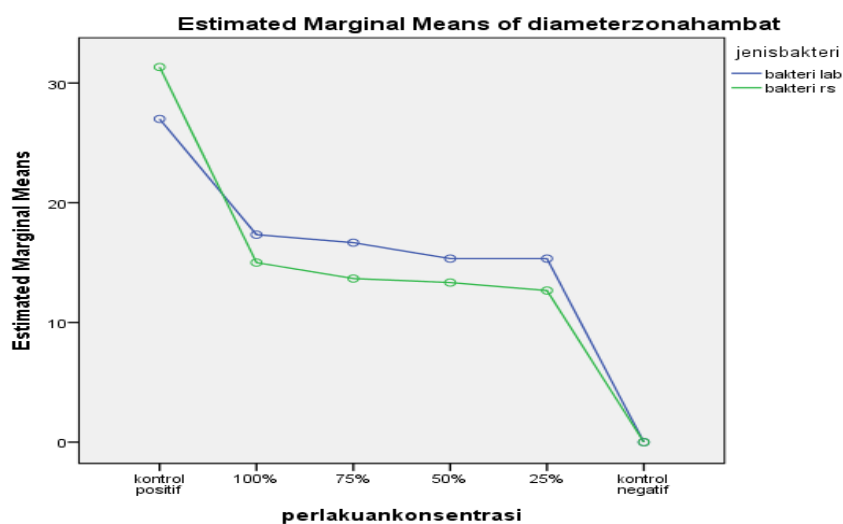
Pada tabel 7 menunjukan hasil dari perlakuan kontrol positif yaitu Ciprofloxacin terbentuk zona hambat yang paling besar yakni dengan rerata

diameter 30,3 mm terhadap *Staphylococcus aureus* kultur laboratorium dan 31,3 mm terhadap *Staphylococcus aureus* isolat sampel pasien, hal ini dikarenakan Ciprofloxacin merupakan suatu antibiotik sintetik golongan *fluroquinolin* dengan spektrum luas terhadap bakteri gram positif. Efek antibakteri Ciprofloxacin disebabkan oleh gangguan terhadap enzim DNA *topoisomerase* atau biasa disebut DNA-*gyrase* yang dibutuhkan untuk sintesa DNA bakteri. Ciprofloxacin merupakan antibiotik terpilih untuk mengobati infeksi yang disebabkan oleh bakteri patogen yang sensitif terhadap Ciprofloxacin seperti: infeksi saluran kemih, infeksi kulit dan jaringan lunak (Fauzia *et al.*, 2005). DMSO 2% sebagai kontrol negatif tidak memiliki zona hambat ini membuktikan bahwa pelarut yang digunakan tidak mempunyai aktivitas daya hambat terhadap bakteri uji.

Pemberian ekstrak etanol umbi Sarang Semut mempunyai efek antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dinyatakan dengan terbentuknya zona hambat disekitar cakram disk. Menurut Susanto *et al* (2012), bila terdapat diameter zona hambat 5 mm atau kurang maka aktivitas penghambatan dikategorikan lemah, diameter zona hambat sebesar 6-10 mm dikategorikan sedang, diameter zona hambat 11-20 mm dikategorikan kuat sedangkan diameter zona hambat sebesar 21 mm atau lebih maka aktivitas penghambatan dikategorikan sangat kuat.

Berdasarkan tabel 7 hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol umbi Sarang Semut bahwa masing-masing konsentrasi yaitu pada konsentrasi 25% rerata zona hambat yang terbentuk adalah 15,3 mm terhadap *Staphylococcus aureus* kultur laboratorium dan 12,7 mm terhadap *Staphylococcus aureus* isolat sampel pasien, pada konsentrasi 50% rerata zona hambat yang terbentuk adalah 15,3 mm

terhadap *Staphylococcus aureus* kultur laboratorium dan 13,3 mm terhadap *Staphylococcus aureus* isolat sampel pasien, pada konsentrasi 75% rerata zona hambat yang terbentuk adalah 16,7 mm terhadap *Staphylococcus aureus* kultur laboratorium dan 13,7 mm terhadap *Staphylococcus aureus* isolat sampel pasien, sedangkan pada konsentrasi 100% sebesar 17,3 mm terhadap *Staphylococcus aureus* kultur laboratorium dan 15 mm terhadap *Staphylococcus aureus* isolat sampel pasien. Perubahan diameter zona hambat dapat dilihat pada gambar 14:



Gambar 7. Perubahan Zona Hambat terhadap *Staphylococcus aureus* Kultur Laboratorium dan Isolat Sampel Pasien Rumah Sakit pada Peningkatan Konsentrasi Ekstrak Umbi Sarang Semut

Senyawa-senyawa kimia yang terdapat didalam ekstrak etanolik Sarang Semut dapat dihubungkan dengan hasil pengukuran diameter zona hambat. Berdasarkan hasil penelitian didapatkan senyawa kimia yang terkandung di dalam ekstrak etanolik umbi Sarang Semut adalah flavonoid, tanin dan polifenol. Flavonoid berfungsi sebagai bakteriostatik dan mekanisme kerjanya membentuk senyawa kompleks dengan protein terlarut sehingga merusak membran sel bakteri

dan mengganggu keutuhan membran sel bakteri (Nuria *et al*, 2009). Tanin mempunyai aktivitas sebagai antibakteri dengan mekanisme kerja mengkerutkan dinding sel bakteri dan sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhan sel terhambat (Ajizah, 2004). Polifenol dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara mendenaturasi protein sel bakteri (Fatimah *et al*, 2016).

D. Pengujian Aktivitas Antibakteri Secara Dilusi Terhadap Bakteri

***Staphylococcus aureus* Kultur Laboratorium dan Isolat Sampel Pasien Rumah Sakit**

Setelah pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanolik dengan metode difusi maka dilanjutkan dengan metode dilusi. Konsentrasi dilusi yang digunakan dalam penelitian ini adalah 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,12% dan 1,56%. Pengamatan nilai KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) dilakukan dengan melihat tingkat kekeruhan disetiap tabung yang menandakan adanya pertumbuhan bakteri, uji dilusi cair pada penelitian ini menggunakan pelarut DMSO 2% untuk melarutkan ekstrak, namun penelitian ini menggunakan ekstrak yang berwarna coklat gelap walaupun sudah diencerkan sehingga tidak dapat terlihat jelas perbedaan tabung yang jernih dan tabung yang keruh, maka hasil KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) tidak dapat ditetapkan dan data yang ditetapkan adalah data dari KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum) yang dilakukan dengan menginokulasikan seri pengenceran ke dalam media VJA yang berisi kalium telurit dan di inkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C.

Hasil uji aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* kultur laboratorium dan isolat sampel pasien rumah sakit metode dilusi dapat dilihat pada lampiran 8 dan tabel 8:

Tabel 7. Hasil Pengamatan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Umbi Sarang Semut terhadap *Staphylococcus aureus* Kultur Laboratorium dan Isolat Sampel Pasien Rumah Sakit.

Jenis	Konsentrasi	Konsentrasi Bunuh Minimum
		R1
Staphylococcus aureus Kultur Laboratorium	Kontrol – (ekstrak umbi Sarang Semut)	-
	50%	-
	25%	-
	12,5%	-
	6,25%	-
	3,12%	-
	1,56%	+
	Kontrol + (Suspensi bakteri)	+
Staphylococcus aureus Isolat Sampel Pasien Rumah Sakit	Kontrol – (ekstrak umbi Sarang Semut)	-
	50%	-
	25%	-
	12,5%	-
	6,25%	+
	3,12%	+
	1,56%	+
	Kontrol + (Suspensi bakteri)	+

Berdasarkan tabel di atas menunjukkan bahwa ekstrak umbi Sarang Semut memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* kultur laboratorium maupun *Staphylococcus aureus* isolat sampel pasien rumah sakit. Hasil pengujian menunjukkan bahwa Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ekstrak umbi Sarang Semut terhadap *Staphylococcus aureus* kultur laboratorium adalah 3,12% dan hasil Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ekstrak umbi Sarang Semut terhadap

Staphylococcus aureus isolat sampel pasien adalah 12,5%. Hasil positif pada media Vogel Johnson Agar (VJA) terdapat koloni *Staphylococcus aureus* berwarna hitam dengan tepi berwarna kuning. Nilai KBM berbanding terbalik dengan nilai sensitivitas bakteri, semakin rendah nilai KBM maka semakin tinggi nilai sensitivitasnya, hal ini sesuai dengan nilai sensitivitas pada metode difusi yakni diperoleh nilai sensitivitas sebesar 18 mm terhadap *Staphylococcus aureus* kultur laboratorium dan 16 mm terhadap *Staphylococcus aureus* isolat sampel pasien.

Hasil penelitian dapat diketahui bahwa nilai KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum) yang dihasilkan ekstrak etanolik umbi Sarang Semut terhadap *Staphylococcus aureus* kultur laboratorium lebih besar daripada KBM yang dihasilkan ekstrak etanolik umbi Sarang Semut terhadap *Staphylococcus aureus* isolat sampel pasien. *Staphylococcus aureus* kultur laboratorium lebih sensitif terhadap ekstrak etanolik Sarang Semut dengan nilai KBM sebesar 3,12% dibandingkan dengan *Staphylococcus aureus* isolat sampel pasien yang mendapatkan hasil KBM sebesar 12,5%.

Hasil penelitian menunjukkan *Staphylococcus aureus* kultur laboratorium lebih sensitif daripada *Staphylococcus aureus* isolat sampel pasien terhadap ekstrak etanolik umbi Sarang Semut hal ini terjadi karena *Staphylococcus aureus* isolat sampel pasien sudah pernah terpapar antibiotik ataupun senyawa-senyawa kimia yang terkandung pada umbi Sarang Semut sehingga menimbulkan penginaktifan obat, perubahan target atau sirkulasi enzim, variasi jalur metabolisme, dan bekurangnya akumulasi obat oleh adanya sel resisten (Jawetz *et al.*, 2001).

Analisis statistik menggunakan metode *One-way ANOVA*, analisis dilakukan dengan software SPSS 21.0, *One-way ANOVA* adalah analisis yang dilakukan untuk menguji perbedaan rata-rata data lebih dari dua kelompok dan menimbulkan variasi. Syarat dari uji anova adalah data yang akan diuji harus berdistribusi normal maka dilakukan uji normalitas dengan model *One sample Kolmogorov-Smirnov Test* yaitu suatu uji sederhana untuk mengetahui suatu data berdistribusi normal atau tidak berdistribusi normal. Apabila nilai $p > 0,05$ maka distribusi data dinyatakan memenuhi asumsi normalitas dan jika nilai $p < 0,05$ maka diinterpretasikan sebagai data tidak normal. Hasil uji normalitas didapatkan nilai signifikansi $0,050 > 0,05$ untuk *Staphylococcus aureus* kultur laboratorium dan $0,165 > 0,05$ pada *Staphylococcus aureus* isolat sampel pasien maka dapat disimpulkan bahwa data terdistribusi normal dan memenuhi syarat untuk uji *One-way ANOVA*.

Hasil tabel *One-way ANOVA* dalam dasar pengambilan keputusan (nilai probabilitas) terlihat pada *Staphylococcus aureus* kultur laboratorium nilai F 9,000 dengan signifikansi $0,006 < 0,05$ (H_0 ditolak) sedangkan pada *Staphylococcus aureus* isolat sampel pasien didapatkan nilai F 5,778 dengan signifikansi $0,021 < 0,05$ (H_0 ditolak) maka dapat disimpulkan bahwa rata-rata diameter zona hambat pada setiap jenis perlakuan konsentrasi adalah tidak sama atau berbeda nyata.

Hasil juga ditunjukkan pada *Homogeneous Subsets*, sampel uji *Staphylococcus aureus* kultur laboratorium Pada subset 1 sampai 2 terdapat lebih dari satu sediaan uji dalam 1 subset, sehingga tidak mempunyai perbedaan yang signifikan dalam penghambatan aktivitas bakteri. Tabel subset kolom 2 terdapat

ekstrak etanolik umbi Sarang Semut dengan konsentrasi 100% di bagian paling bawah sehingga dapat disimpulkan ekstrak etanolik umbi Sarang Semut dengan konsentrasi 100% merupakan ekstrak yang paling aktif. Sampel *Staphylococcus aureus* isolat sampel pasien pada tabel *Homogeneous Subsets* diketahui kolom subset 1 sampai 2 juga terdapat lebih dari satu sediaan uji dalam 1 subset, sehingga tidak mempunyai perbedaan yang signifikan dalam penghambatan aktivitas bakteri. Tabel subset kolom 2 juga terdapat ekstrak etanolik umbi Sarang Semut dengan konsentrasi 100% di bagian paling bawah sehingga dapat disimpulkan ekstrak etanolik umbi Sarang Semut dengan konsentrasi 100% merupakan ekstrak yang paling aktif. Hasil analisis data statistik dapat dilihat pada lampiran 9.

Ekstrak etanolik umbi Sarang Semut yang telah dilakukan pengujian aktivitas antibakteri dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* kultur laboratorium maupun *Staphylococcus aureus* isolat sampel pasien rumah sakit karena memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yakni flavonoid, tanin dan polifenol yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Flavonoid mempunyai aktivitas menghambat pertumbuhan bakteri dengan menyebabkan kerusakan pada membrane sel dan menghambat sintesis makromolekul sel bakteri (Dzoyem *et al.*, 2013). Senyawa tanin juga memiliki kemampuan menghambat bakteri dengan cara berikatan dengan dinding sel bakteri yang dapat mengkerutkan dinding sel dan menghambat aktivitas protease sehingga pertumbuhan sel terhambat (Mawan *et al.*, 2018). Mekanisme polifenol sebagai antibakteri dengan cara meracuni protoplasma, merusak dinding serta mengendapkan protein sel bakteri,

menginaktifkan enzim essensial di dalam sel bakteri dan menyebabkan kerusakan pada sel bakteri (Purwatiningsih, 2014).