

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOLIK DAUN
KECOMBRANG (*Nicolaia speciosa*) TERHADAP
*Shigella sp***

KARYA TULIS ILMIAH

Untuk Memenuhi Sebagian Persyaratan Sebagai
Ahli Madya Analis Kesehatan



Oleh :
Desy Kartika Dewi
33152903J

**PROGRAM STUDI D-III ANALIS KESEHATAN
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

LEMBAR PERSETUJUAN

KARYA TULIS ILMIAH :

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOLIK DAUN
KECOMBRANG (*Nicolaia speciosa*) TERHADAP
*Shigella sp***

Oleh :

**Desy Kartika Dewi
33152903J**

Surakarta, 9 Mei 2018

Menyetujui Untuk Ujian Sidang KTI

Pembimbing



Rinda Binugraheni, S.Pd., M.Sc.
NIS. 01201403162182

LEMBAR PENGESAHAN

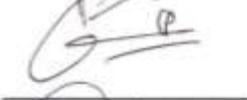
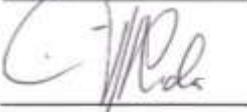
Karya Tulis Ilmiah :

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOLIK DAUN KECOMBRANG (*Nicolaia speciosa*) TERHADAP *Shigella sp*

Oleh :

Desy Kartika Dewi
33152903J

Telah Dipertahankan di Depan Tim Penguji
pada Tanggal 11 Mei 2018

	Nama	Tanda Tangan
Penguji I :	Dra. Nony Puspawati, M.Si.	
Penguji II :	Guruh Sri Pamungkas, S.Pt., M.Si.	
Penguji III :	Rinda Binugraheni, S.Pd., M.Sc.	

Mengetahui,

Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan
Universitas Setia Budi



Prof. dr. Marsetrawan HNE, S. M.Sc., Ph.D.
NIDN 0029094802



Ketua Program Studi
D-III Analis Kesehatan



Dra. Nur Hidayati, M.Pd.
NIS. 01198909202067

MOTTO dan PERSEMBAHAN

Motto :

"Berusahalah! Karena suatu saat kau akan menyesal jika tidak melakukan yang terbaik sekarang. Jangan pernah berfikir 'ini sudah terlambat', mungkin butuh waktu tapi tidak ada yang buruk karena berlatih" (Jeon Jungkook)

Persembahan :

- Allah SWT dengan segala nikmat dan karuniaNya
- Bapak dan Ibu yang selalu mendukung dan memberikan motivasi
- Teman-teman D-III Ankes angkatan 2015 dan almamater

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah yang berjudul “UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOLIK DAUN KECOMBRANG (*Nicolaia speciosa*) TERHADAP *Shigella sp*”. Karya tulis ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan program pendidikan sebagai D-III Analis Kesehatan di Universitas Setia Budi Surakarta.

Penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini tidak lepas dari bimbingan, doa dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan ucapan terimakasih kepada :

1. Dr. Djoni Tarigan, M.BA selaku Rektor Universitas Setia Budi Surakarta.
2. Prof. dr. Marsetyawan HNE Soesatya, M.Sc., Ph.D. selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Setia Budi.
3. Dra. Nur Hidayati, M.Pd. selaku Ketua Program Studi D-III Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Setia Budi.
4. Rinda Binugraheni, S.Pd., M.Sc. selaku pembimbing KTI yang telah memberi bimbingan, masukan dan nasehat kepada penulis selama penyusunan karya tulis ini.
5. Bapak dan Ibu dosen D-III Analis Kesehatan Universitas Setia Budi yang telah memberikan bekal ilmu dan pengetahuan.
6. Staf Laboratorium Universitas Setia Budi yang telah membeantu dan membimbing penulis dalam melaksanakan praktek Karya Tulis Ilmiah.
7. Orang tua yang telah memberikan dukungan materil dan moril sehingga karya tulis ini dapat terselesaikan.

8. Teman-teman D-III Analisis Kesehatan angkatan 2015 atas bantuan dan semangatnya.
9. Semua pihak yang telah membantu penulis dalam menyusun karya tulis ini baik secara langsung maupun tidak langsung.

Penulis menyadari bahwa Karya Tulis Ilmiah ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun dari pembaca. Penulis berharap semoga Karya Tulis Ilmiah ini bermanfaat bagi semua pihak. Terimakasih.

Surakarta, 9 Mei 2018

Penulis

DAFTAR ISI

	HALAMAN
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
MOTTO DAN PERSEMBAHAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
INTISARI	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang Masalah	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Tanaman.....	5
2.1.1 Klasifikasi Tanaman	5
2.1.2 Morfologi Tanaman.....	5
2.1.3 Kandungan Kimia dan Manfaat.....	6
2.2 Simplisia	7
2.2.1 Pengertian Simplisia.....	7
2.2.2 Pengeringan Simplisia	7
2.3 Ekstraksi	8
2.3.1 Pengertian Ekstraksi.....	8
2.3.2 Metode Ekstraksi Maserasi.....	8
2.3.3 Pelarut.....	8
2.4 Bakteri Uji	9
2.4.1 Klasifikasi <i>Shigella sp.</i>	9

2.4.2	Morfologi <i>Shigella sp.</i>	9
2.4.3	Patogenesis dan Gejala.....	9
2.5	Media	11
2.6	Antibakteri.....	12
2.7	Uji Aktifitas Antibakteri	12
2.8	Hipotesis	14
BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....		15
3.1	Tempat dan Waktu Penelitian	15
3.1.1	Tempat Penelitian.....	15
3.1.2	Waktu Penelitian.....	15
3.2	Bahan dan Alat Penelitian	15
3.2.1	Bahan	15
3.2.2	Alat Penelitian	16
3.3	Variabel Penelitian	16
3.4	Prosedur Penelitian.....	16
3.4.1	Identifikasi Tanaman	16
3.4.2	Pembuatan Serbuk Daun Kecombrang (<i>Nicolaia speciosa</i>).....	17
3.4.3	Identifikasi Serbuk Daun Kecombrang (<i>Nicolaia speciosa</i>).....	17
3.4.4	Penetapan Kadar Air Serbuk Daun Kecombrang (<i>Nicolaia speciosa</i>)	17
3.4.5	Pembuatan Ekstrak	17
3.4.6	Uji Bebas Etanol.....	18
3.4.7	Identifikasi Kandungan Kimia Ekstrak Daun Kecombrang	18
3.4.8	Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Etanolik Daun Kecombrang	19
3.4.9	Pembuatan Media <i>Muller Hinton Agar</i>	19
3.4.10	Pembuatan Media <i>Brain Heart Infusion</i>	19
3.4.11	Pembuatan Suspensi Bakteri.....	20

3.4.12 Identifikasi Bakteri Uji	20
3.4.13 Pengujian Aktivitas Antibakteri.....	22
3.5 Analisis Data Statistik.....	22
3.6 Desain Penelitian	23
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	25
4.1 Hasil Penelitian	25
4.1.1 Identifikasi Tanaman	25
4.1.2 Hasil Pembuatan Serbuk Daun	25
4.1.3 Hasil Identifikasi Serbuk Daun Kecombrang.....	26
4.1.4 Hasil Penentuan Kadar Air	26
4.1.5 Hasil Pembuatan Ekstrak Etanolik Daun Kecombrang	26
4.1.6 Hasil Uji Bebas Etanol Ekstrak Daun Kecombrang.....	27
4.1.7 Hasil Identifikasi Kandungan Kimia Daun Kecombrang	27
4.1.8 Hasil Pembuatan Suspensi Bakteri	28
4.1.9 Hasil Identifikasi Bakteri Uji	28
4.1.10 Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri	31
4.2 Pembahasan.....	32
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	39
5.1 Kesimpulan	39
5.2 Saran	39
DAFTAR PUSTAKA.....	P-1

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Pembuatan Ekstrak Etanolik Daun Kecombrang (<i>Nicolaia speciosa</i>)	23
Gambar 2.	Skema Uji <i>Shigella sp.</i> Metode Difusi	24
Gambar 3.	Hasil Pengecatan Gram <i>Shigella sp.</i>	28
Gambar 4.	Hasil Identifikasi Bakteri pada Media SSA	29
Gambar 5.	Hasil Uji Biokimia	30
Gambar 6.	Diagram Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri.....	32

DAFTAR TABEL

Tabel 1.	Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Etanolik Daun Kecombrang.....	19
Tabel 2.	Hasil Identifikasi Organoleptis Daun Kecombrang.....	26
Tabel 3.	Hasil Uji Bebas Etanol Daun Kecombrang	27
Tabel 4.	Hasil Identifikasi Kandungan Kimia Daun Kecombrang.....	27
Tabel 5.	Keterangan Gambar Hasil Pengecatan Gram <i>Shigella sp..</i>	29
Tabel 6.	Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Daun Kecombrang (<i>Nicolaia speciosa</i>).....	31

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Determinasi Tanaman Kecombrang	L-1
Lampiran 2. Komposisi Media Reagen	L-2
Lampiran 3. Alat dan Bahan Penelitian	L-5
Lampiran 4. Identifikasi Bakteri	L-8
Lampiran 5. Hasil Penelitian	L-9
Lampiran 6. Uji Statistika	L-10
Lampiran 7. Perhitungan Konsentrasi Ekstrak	L-13

INTISARI

Dewi, D.K., 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Daun Kecombrang (*Nicolaia speciosa*) Terhadap *Shigella sp*, “Karya Tulis Ilmiah”, Program Studi D-III Analisis Kesehatan, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Setia Budi Surakarta.

Kecombrang (*Nicolaia speciosa*) adalah salah satu tanaman yang berkhasiat sebagai penghilang bau badan dan bakteri yang tidak sehat dalam tubuh karena tanaman kecombrang mengandung senyawa polifenol, saponin dan flavonoid. *Shigella sp.* merupakan bakteri penyebab disentri dengan gejala klinis diare yang disertai lendir dan darah. Tujuan penelitian ini untuk menguji aktivitas antibakteri ekstrak daun kecombrang terhadap bakteri *Shigella sp.*

Daun kecombrang diperoleh dari Pandeglang, Banten. Daun kecombrang diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Pengenceran ekstrak daun kecombrang dibuat dalam konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100% dengan DMSO 2% sebagai pengencer. Kontrol positif yang digunakan kotrimoksazol dan DMSO 2% sebagai kontrol negatif. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi cara sumuran untuk mengetahui diameter zona hambat terhadap *Shigella sp.*

Hasil penelitian menunjukkan kandungan kimia ekstrak daun kecombrang yaitu polifenol, saponin dan flavonoid. Pada konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100% menunjukkan adanya zona hambat terhadap pertumbuhan *Shigella sp.* dan pada uji statistik konsentrasi yang paling aktif adalah 75% yaitu sebesar 14 mm.

Kata kunci : antibakteri, daun kecombrang, *Shigella sp*, difusi

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Air bersih dan sanitasi yang baik adalah elemen untuk menunjang kesehatan manusia. Akan tetapi pemenuhan kebutuhan tersebut belum sepenuhnya berjalan baik. Menurut WHO, lebih dari 1,1 milyar orang di pedesaan dan perkotaan kekurangan akses air minum dari sumber yang berkembang dan 2,6 milyar orang tidak memiliki akses terhadap sanitasi dasar. Akibat hal tersebut, WHO memperkirakan sebanyak 1,6 juta balita meninggal akibat air yang tidak aman dan kurangnya higienitas pada tahun 2005. Anak-anak beresiko terhadap penyakit yang bersumber pada air seperti diare dan penyakit akibat parasit. Kurangnya sanitasi juga meningkatkan KLB (Kejadian Luar Biasa) terhadap kolera, tifoid dan disentri (KEMENKES RI, 2007). Berdasarkan kelompok umur, prevalensi diare tertinggi di Indonesia terjadi pada balita usia 1-4 tahun sebanyak 16,7% dan prevalensi diare di pedesaan sebesar 10% dan di perkotaan 7,4%. Sedangkan penyebab kematian pada bayi usia 29 hari - 11 bulan adalah diare dengan prosentase 31,4% dan penyebab kematian pada balita usia 12-11 bulan adalah diare dengan prosentasi 25,2% (KEMENKES RI, 2011).

Disentri merupakan infeksi usus akut atau radang usus disertai diare, buang air besar bercampur darah, lendir dan nanah dengan masa inkubasi 1-7 hari (Radji, 2010). Penyebab disentri adalah infeksi dari bakteri ataupun amuba. Infeksi yang disebabkan bakteri disebut disentri basiler yang disebabkan oleh bakteri *Shigella* sedangkan infeksi yang disebabkan amuba

disebut disentri amuba yang disebabkan *Entamoeba histolytica* (Anonital dan Lelly, 2011).

Salah satu penyebab infeksi pada saluran pencernaan adalah kuman *Shigella*, kuman ini bemanifestasi klinis diare yang disertai darah (disentri). *Shigella sp.* menyebabkan disentri dengan jalan menyerang mukosa kolon. Kemudian bakteri akan berkembang biak di sel epitel kolon sehingga menyebabkan kematian sel, menyebar ke lateral untuk menginfeksi dan membunuh sel epitel yang berdekatan, menyebabkan ulserasi mukosa, peradangan dan pendarahan. Secara umum, *Shigella sp.* bertanggung jawab untuk 5 dari 10 persen kasus diare dan 30 persen kasus dari kasus disentri (Niyogi, 2005).

Indonesia memiliki lebih dari 20.000 jenis tumbuhan obat, akan tetapi hanya 10.000 jenis tanaman saja yang sudah dimanfaatkan untuk pengobatan tradisional (Hariana, 2013). Salah satu jenis tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional adalah tanaman kecombrang (*Nicolaia speciosa*). Bagian dari tanaman kecombrang (*Nicolaia speciosa*) yang biasanya dimanfaatkan adalah bunga, daun dan batangnya (Kusumawati, 2015).

Menurut Suparmi dan Ari Wulandari (2012), tanaman kecombrang (*Nicolaia speciosa*) memiliki manfaat untuk menghilangkan bau badan dan menghilangkan bakteri yang tidak sehat di tubuh karena tanaman kecombrang mengandung saponin, flavonoida dan polifenol. Menurut penelitian dari Ningtyas (2010), ekstrak air daun kecombrang (*Nicolaia speciosa*) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* pada konsentrasi 100% dan *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 20%.

Menurut Hidayat dan Rodame (2015), kandungan senyawa polifenol yang tinggi pada daun kecombrang (*Nicolaia speciosa*) dapat digunakan sebagai obat disentri. Salah satu penyebab disentri adalah genus dari *Shigella* yang terdiri dari *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella boydii* dan *Shigella sonnei*. Bakteri tersebut dapat ditransmisikan secara langsung maupun tidak langsung. Transmisi langsung dapat melalui fecal sedangkan transmisi tidak langsung melalui pangan dan air minum yang terkontaminasi oleh fecal (Supandi dan Wardah, 2014).

Berdasarkan uraian di atas, peneliti ingin meneliti lebih lanjut mengenai aktivitas antibakteri daun kecombrang (*Nicolaia speciosa*) terhadap *Shigella sp.*

1.2 Rumusan Masalah

- a. Apakah ekstrak etanolik daun kecombrang (*Nicolaia speciosa*) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Shigella sp.* ?
- b. Pada konsentrasi berapakah ekstrak etanolik daun kecombrang (*Nicolaia speciosa*) memiliki aktifitas antibakteri paling aktif terhadap *Shigella sp.* ?

1.3 Tujuan Penelitian

- a. Mengetahui adanya aktivitas antibakteri ekstrak etanolik daun kecombrang (*Nicolaia speciosa*) terhadap *Shigella sp.*
- b. Mengetahui pada konsentrasi berapa ekstrak daun kecombrang (*Nicolaia speciosa*) memiliki aktifitas antibakteri paling aktif terhadap *Shigella sp.*

1.4 Manfaat Penelitian

a. Masyarakat

Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan informasi mengenai pemanfaatan daun kecombrang untuk mengobati penyakit yang disebabkan oleh *Shigella sp.*

b. Peneliti

Menambah wawasan peneliti tentang manfaat daun kecombrang sebagai antibakteri.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman

2.1.1 Klasifikasi Tanaman

Klasifikasi tanaman kecombrang sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Liliopsida
Ordo	: Zingiberales
Famili	: Zingiberaceae
Genus	: Nicolaia
Spesies	: <i>Nicolaia speciosa</i> (Lisayani, 2011).

2.1.2 Morfologi Tanaman

Tanaman kecombrang mempunyai akar serabut dan warna kuning gelap. Tanaman ini merupakan tanaman semak dengan tinggi 1-3 meter, berbatang semu, tegak, berpelelah, membentuk rimpang dan warna hijau. Daunnya tunggal, lanset, ujung dan pangkal runcing tetapi rata, panjang daun \pm 20-30 cm dan lebar 5-15 cm, tulang daun menyirip dan warna hijau. Bunga kecombrang adalah bunga majemuk berbentuk bongkol, panjang tangkai 40-48 cm, panjang benang sari \pm 7,5 cm dan warna kuning, putiknya kecil dan warna putih. Mahkota bunga bertaju, berbulu jarang dengan warna merah jambu. Biji kecombrang bentuk kotak atau bulat telur dengan warna putih atau merah jambu. Buah kecil dan warna coklat (Ningtyas, 2010).

2.1.3 Kandungan Kimia dan Manfaat

Menurut Suparmi dan Ari Wulandari (2012), tanaman kecombrang mengandung saponin, flavonoida dan polifenol yang dapat digunakan sebagai obat pencegah bau badan dan dapat menghilangkan bakteri yang tidak sehat di dalam tubuh.

a. Saponin

Saponin merupakan senyawa aktif yang kuat dan dapat menimbulkan busa jika dikocok didalam air. Saponin diduga sebagai senyawa antibakteri karena saponin dapat menghambat fungsi membrane sel sehingga permeabilitas membrane rusak yang mengakibatkan dinding sel rusak (Ayuningtyas, 2008). Menurut Ngajow dkk (2013), saponin mempunyai sifat sebagai antimikroba, antiinflamasi, spermisida dan sitotoksik.

b. Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa golongan fenol yang berfungsi sebagai antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu integritas membran bakteri. Mekanisme kerja fenol dalam menghambat pertumbuhan bakteri yaitu dengan menginaktivasi protein pada membrane sel sehingga struktur protein rusak. Ketidakstabilan dinding sel dan membrane sitoplasma bakteri menyebabkan fungsi permeabilitas selektif, pengangkutan aktif, pengendalian susunan protein dari sel bakteri terganggu, yang berakibat hilangnya makromolekul dan ion dari sel sehingga sel bakteri kehilangan bentuk dan lisis (Santoso dkk, 2012).

c. Polifenol

Fenol merupakan senyawa yang memiliki gugus –OH terikat dengan cincin aromatic. Fenol merupakan senyawa intermediet yang digunakan oleh industri untuk produk adhesif dan antiseptik. Selain itu, fenol dapat digunakan sebagai desinfektan (Siswoyo, 2009).

2.2 Simplisia

2.2.1 Pengertian Simplisia

Simplisia adalah bahan alami yang digunakan sebagai obat dan belum mengalami proses perubahan apapun, kecuali dengan cara pengeringan. Simplisia terdiri dari 3 golongan yakni simplisia nabati, hewani dan pelikan. Simplisia nabati adalah simplisia berupa tanaman utuh, bagian tanaman, eksudat tanaman atau gabungan dari ketiganya. Simplisia hewani adalah simplisia hewan utuh yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa bahan kimia murni. Simplisia pelikan adalah simplisia berupa bahan pelikan yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa bahan kimia murni (Endarini, 2016).

2.2.2 Pengeringan Simplisia

Pengeringan simplisia bertujuan untuk menurunkan kadar air sehingga bahan tidak mudah ditumbuhi kapang atau bakteri dan menghilangkan aktivitas enzim yang bisa menguraikan lebih lanjut kandungan zat aktif dan mempermudah pengecekan selanjutnya (ringkas, mudah disimpan dan tahan lama). Pengeringan dilakukan sampai kadar air $\leq 10\%$. Hal yang harus diperhatikan ketika pengeringan yaitu suhu, kelembaban, udara, waktu dan luas permukaan bahan (Endarini, 2016).

2.3 Ekstraksi

2.3.1 Pengertian Ekstraksi

Ekstraksi merupakan cara penarikan satu atau lebih zat dari bahan asal dengan menggunakan pelarut. Tujuan dilakukannya ekstraksi adalah untuk memisahkan sebanyak mungkin zat yang memiliki khasiat pengobatan (Tandah, 2016).

2.3.2 Metode Ekstraksi Maserasi

Maserasi adalah pengestrakan simplisia dengan pelarut dengan beberapa kali pengocokan pada suhu kamar (Indraswari, 2008). Maserasi dipilih karena memiliki beberapa keuntungan yaitu prosedur dan peralatan yang digunakan sederhana, tidak perlu pemanasan sehingga bahan-bahan alam tidak akan terurai. Ekstraksi dingin memungkinkan senyawa banyak yang terekstraksi meskipun pada suhu kamar beberapa senyawa memiliki kelarutan terbatas dalam pelarut (Istiqomah, 2013).

2.3.3 Pelarut

Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi harus ditentukan dahulu kemampuan dalam melarutkan zat aktif. Pelarut yang baik dapat melarutkan zat aktif dalam jumlah maksimum dan minimum untuk unsur yang tidak diinginkan (Ansel, 2011). Etanol dapat digunakan untuk melarutkan alkaloida basa, minyak penguap, glikosida, kurkumin, kumarin, antrakinon, flavonoid, steroid, damar dan klorofil. Sedangkan untuk lemak, tanin dan saponin hanya sedikit larut. Etanol dipertimbangkan sebagai penyari karena lebih efektif, kapang dan bakteri sulit tumbuh pada etanol \geq 20%, tidak beracun, netral, absorbsinya baik, dapat bercampur dengan air

dan panas yang diperlukan untuk pemekatan hanya sedikit (Sa'adah dan Henny, 2015).

2.4 Bakteri Uji

2.4.1 Klasifikasi *Shigella sp.*

Klasifikasi *Shigella sp.* sebagai berikut :

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gamma Proteobacteria
Order	: Enterobacteriales
Family	: Enterobacteriaceae
Genus	: Shigella
Spesies	: <i>Shigella sp.</i> (Pratiwi, 2015)

2.4.2 Morfologi *Shigella sp.*

Shigella sp. termasuk famili dari Enterobacteriaceae. *Shigella sp.* merupakan bakteri gram negatif dengan ukuran 0,5-0,7 μm x 2-3 μm dengan morfologi berbentuk batang, tidak berspora, tidak berflagel dan tidak bermotil (Pratiwi, 2015). Koloni berbentuk konveks, bulat, transparan dengan diameter 2 mm dalam 24 jam. Bakteri ini dapat tumbuh subur pada suhu 37°C, hidup secara aerobik (tumbuh paling baik) atau fakultatif anaerobik (Ulama, 2016).

2.4.3 Patogenesis dan Gejala

Shigella sp. merupakan bakteri patogen penyebab Shigellosis, yaitu kondisi klinis yang ditandai dengan infeksi usus akut atau radang usus disertai diare, buang air besar bercampur darah, lendir dan nanah dengan

masa inkubasi 1-7 hari (Radji, 2010). Bakteri yang tertelan akan berada di usus halus menuju ileum terminal dan kolon. Kemudian bakteri akan melekat dan menginvasi sel epitel mukosa dengan cara menginduksi fagositosis kemudian keluar dari vakuola fagositik, bereplikasi, menyebar di sitoplasma sel epitel dan jaringan sekitar. Mikroabses yang terbentuk menyebabkan peradangan, nekrosis, ulserasi superficial, perdarahan, sel terlepas dan pembentukan pseudomembran. Ketika invasi berhenti, jaringan granulasi akan mengisi ulkus dan berbentuk jaringan parut dengan gejala tinja lembek bercampur darah, mukus, pus dan nyeri abdomen (Sari, 2015).

Infeksi *Shigella sp.* hanya terbatas pada sistem gastrointestinal dengan dosis yang dapat menginfeksi orang dewasa $\pm 10^3$ sel. Gejala akan nampak dalam waktu 12 jam sampai 7 hari namun secara umum 1-3 hari setelah mengkonsumsi bahan pangan yang terkontaminasi. Infeksi ringan akan nampak gejala dalam 5-6 hari dan 2-3 minggu untuk infeksi berat. Gejala Shigellosis antara lain sakit perut, diare berdarah, bernanah, demam, kedinginan dan sakit kepala. Selain itu, anak lebih rentan terhadap Shigellosis (Supandi dan Wardah, 2014).

Menurut Sari (2015), *Shigella sp.* menghasilkan Shigatoksin yang terdiri dari 2 jenis yaitu :

a. Endotoksin

Infeksi hanya terbatas di saluran cerna. Reaksi peradangan merupakan faktor utama yang membatasi penyakit hanya di usus. Waktu terjadinya autolisis ketika semua kuman mengeluarkan

lipopolisakarida yang toksik kemudian endotoksin yang dihasilkan akan menambah iritasi pada lumen usus.

b. Eksotoksin

Eksotoksin adalah protein yang merangsang produksi antitoksin. Efek toksik ini akan menghambat absorpsi elektrolit, glukosa dan asam amino dari lumen interstisial. Pada awalnya, toksin ini hanya berakibat diare air namun dapat berubah menjadi darah dan nanah.

2.5 Media

Media pembenihan adalah media nutrisi yang disiapkan untuk menumbuhkan bakteri di laboratorium. Beberapa bakteri tumbuh baik pada media pembenihan dan ada yang perlu media khusus. Media pembenihan harus menyediakan energi yang digunakan untuk pertumbuhan bakteri. Media harus mengandung sumber karbon, sulfur, fosfor, nitrogen dan faktor pertumbuhan organik. Bakteri yang diinokulasikan pada media pembenihan disebut inokulum sedangkan bakteri yang tumbuh dan berkembang biak pada media pembenihan disebut biakan bakteri.

Syarat media pembenihan :

- a. Media mengandung nutrisi tepat untuk bakteri spesifik yang akan dibiakkan.
- b. Kelembapan harus cukup, pH sesuai dan kadar oksigen cukup baik.
- c. Media pembenihan harus steril dan tidak mengandung mikroorganisme lain.
- d. Media inkubasi pada suhu tertentu (Radji, 2010).

2.6 Antibakteri

Antibakteri adalah substansi yang dapat menghambat bahkan membunuh pertumbuhan organisme lain khususnya mikroorganisme (Pratiwi, 2008). Cara kerjanya dengan merusak dinding sel, merubah permeabilitas sel, merubah molekul protein dan asam nukleat, menghambat kerja enzim dan hambat sintesis asam nukleat dan protein (Prasetyowati, 2014). Aktivitas antibakteri dibedakan menjadi 2 yaitu bakteriostatik (menghambat pertumbuhan namun tidak membunuh patogen) dan bakterisidal (dapat membunuh patogen dalam spektrum luas) (Sahputra, 2014).

2.7 Uji Aktifitas Antibakteri

Uji ini dilakukan untuk mengukur respon pertumbuhan mikroorganisme terhadap agen antibakteri. Uji antibakteri dilakukan dengan metode difusi dan dilusi.

Menurut Pratiwi (2008), metode difusi yang digunakan antara lain :

a. Metode disc diffusion (tes Kirby & Bauer)

Metode ini digunakan untuk menentukan aktifitas agen antimikroba. Piringan berisi agen antimikroba diletakkan pada media Agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media tersebut. Area jernih mengindikasikan hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba pada permukaan media.

b. E-test

Metode ini digunakan untuk mengestimasi MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) yaitu konsentrasi minimal agen antimikroba untuk dapat

menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Metode ini menggunakan strip plastik yang mengandung agen antimikroba dari kadar terendah sampai tertinggi dan diletakkan pada permukaan media Agar yang telah ditanami mikroorganisme. Pengamatan pada area jernih yang menunjukkan kadar agen antimikroba yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme.

c. Ditch-plate technique

Metode ini menggunakan sampel agen antimikroba yang diletakkan pada parit yang dibuat dengan cara memotong media agar dalam cawan petri pada bagian tengah secara membujur dan mikroba uji digoreskan ke arah parit yang berisi agen antimikroba.

d. Cup-plate technique

Metode ini dilakukan dengan membuat sumur pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme dan pada sumur diberi agen antimikroba yang akan diuji.

e. Gradient-plate technique

Metode ini menggunakan konsentrasi agen antimikroba pada media agar secara teoritis bervariasi dari 0 hingga maksimal. Kemudian media agar dicampurkan dan larutan yang akan diuji ditambahkan. Campuran tersebut dituang dalam cawan petri dan diletakkan miring. Nutrisi kedua dituang di atasnya. Plate diinkubasi 24 jam agar agen antimikroba berdifusi dan permukaan media kering. Mikroba uji digoreskan mulai dari konsentrasi tinggi ke rendah. Hasil diperhitungkan sebagai panjang total pertumbuhan mikroorganisme maksimum yang mungkin dibandingkan dengan panjang pertumbuhan hasil goresan.

2.8 Hipotesis

Dari permasalahan yang telah dijabarkan di atas, hipotesis penelitian antara lain :

- a. Ekstrak etanolik daun kecombrang (*Nicolaia speciosa*) dapat menghambat pertumbuhan *Shigella sp.*
- b. Semakin besar konsentrasi ekstrak etanolik daun kecombrang (*Nicolaia speciosa*), maka semakin aktif menghambat pertumbuhan *Shigella sp.*

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

3.1.1 Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Fitokimia Universitas Setia Budi Surakarta.

3.1.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2017 – April 2018.

3.2 Bahan dan Alat Penelitian

3.2.1 Bahan

a. Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kecombrang yang diambil secara acak dari Pandeglang, Banten.

b. Bakteri Uji

Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Shigella sp.* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi Surakarta.

c. Medium

Medium yang digunakan pada penelitian ini adalah *Muller Hinton Agar* (MHA), *Brain Heart Infusion* (BHI), *Salmonella Shigella Agar* (SSA), *Kliger Iron Agar* (KIA), *Sulfida Indol Motility* (SIM), *Lysine Iron Agar* (LIA) dan Citrat.

3.2.2 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah neraca analitik, penggiling, ayakan no 40, tabung reaksi, nampan, alat maserasi, pipet ukur, gelas ukur, batang pengaduk, rak tabung reaksi, cawan petri, jarum ose, jarum ent,obyek glass, korek api, rak pengecatan, mikroskop, pembakar spirtus, boorprof, kapas lidi steril, clinipet, yellow type, autoclave, inkas, incubator, *Bidwell Sterling*, kompor, oven, botol sampel steril, mistar, Alat Pelindung Diri (APD).

3.3 Variabel Penelitian

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah biakan murni bakteri *Shigella sp.* dan sampel daun kecombrang (*Nicolaia speciosa*). Daun kecombrang diperoleh dari Kabupaten Pandeglang Provinsi Banten, daun kecombrang dipanen langsung dari pohon, bagian yang akan dipanen merupakan bagian daun tua yang sehat dan segar, berwarna hijau tua, tidak terserang hama, yang diambil dari beberapa populasi pohon kecombrang. Sedangkan biakan murni bakteri *Shigella sp.* diperoleh dari sediaan bakteri yang kemudian dilakukan pemisahan serta pengujian. Variabel bebas dari penelitian ini ialah konsentrasi ekstrak daun kecombrang yang digunakan.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Identifikasi Tanaman

Pada tahap pertama penelitian yaitu melakukan identifikasi tanaman kecombrang (*Nicolaia speciosa*) yang bertujuan menetapkan kebenaran

tanaman yang berkaitan dengan ciri-ciri dan morfologi secara makroskopis terhadap kepustakaan dan dibuktikan di Laboratorium Sistematika Tumbuhan Universitas Setia Budi Surakarta.

3.4.2 Pembuatan Serbuk Daun Kecombrang (*Nicolaia speciosa*)

Daun kecombrang (*Nicolaia speciosa*) dicuci hingga bersih dengan air yang mengalir agar terbebas dari kotoran dan debu. Kemudian dikeringkan dengan bantuan sinar matahari selama 3 hari. Daun kecombrang yang sudah kering tersebut kemudian dimasukkan ke dalam alat penghancur dan diayak sehingga diperoleh serbuk daun kecombrang.

3.4.3 Identifikasi Serbuk Daun Kecombrang (*Nicolaia speciosa*)

Identifikasi serbuk daun kecombrang (*Nicolaia speciosa*) dilakukan secara organoleptis yang meliputi bentuk, warna, bau dan rasa.

3.4.4 Penetapan Kadar Air Serbuk Daun Kecombrang (*Nicolaia speciosa*)

Penetapan kadar air pada serbuk daun kecombrang dilakukan dengan alat *Bidwell Sterling* dengan menimbang 20 g serbuk daun kecombrang kemudian dimasukkan dalam labu destilasi dan ditambah dengan pelarut xylene sampai serbuk terendam. Kemudian alat *Bidwell Sterling* dipasang dan dipanaskan. Pemanasan dihentikan jika sudah tidak terdapat air yang menetes pada tabung receiver selama ± 1 jam. Kemudian kadar air diukur dengan melihat volume pada skala receiver dan dihitung prosentase air dan berat contoh (Yenrina, 2015).

3.4.5 Pembuatan Ekstrak

Sebanyak 200,0 g serbuk daun kecombrang (*Nicolaia speciosa*) diekstraksi dengan pelarut etanol 96% menggunakan metode maserasi. Caranya dengan memasukkan 200,0 g serbuk daun kecombrang ke dalam

botol coklat dan ditambah dengan etanol 96% dengan perbandingan 1:10 kemudian ditutup dan didiamkan selama 3 hari dengan pengocokan berulang. Setelah 3 hari, maserat disaring. Sari yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan evaporator sampai didapatkan ekstrak kental. Pelarut yang masih tertinggal diuapkan dengan oven hingga bebas pelarut.

3.4.6 Uji Bebas Etanol

Ekstrak pekat diuji bebas etanol dengan esterifikasi yaitu dengan menambahkan ekstrak dengan asam asetat dan asam sulfat pekat kemudian dipanaskan. Jika tidak terdapat bau ester maka sudah tidak terdapat etanol.

3.4.7 Identifikasi Kandungan Kimia Ekstrak Daun Kecombrang

Identifikasi kandungan kimia pada ekstrak daun kecombrang (*Nicolaia speciosa*) dilakukan untuk menetapkan kebenaran kandungan kimia yang terkandung di dalam daun kecombrang (*Nicolaia speciosa*) yang meliputi senyawa saponin, flavonoida dan polifenol yang dilakukan di Laboratorium Fitokimia Universitas Setia Budi Surakarta.

a. Identifikasi Saponin

Sebanyak 10 mg ekstrak dimasukkan tabung reaksi. Kemudian ditambahkan 5 ml air panas dan dikocok 15 detik, lalu ditambahkan 1 sampai 2 tetes HCl 2 N. Adanya saponin ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang stabil dan pada penambahan HCL 2N buih tidak hilang (Kusumawati, 2015).

b. Identifikasi Flavonoida

Sebanyak 10 mg ekstrak dimasukkan tabung reaksi kemudian ditambahkan 5 tetes HCl pekat, sedikit serbuk Mg dan 5 tetes amil

alkohol lalu dikocok. Hasil reaksi positif ditunjukkan dengan warna merah atau kuning atau jingga pada amil alkohol (Kusumawati, 2015).

c. Identifikasi Polifenol

Sebanyak 10 mg ditambah aquadest dan FeCl_3 1%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna ungu (Kusumawati, 2015).

3.4.8 Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Daun Kecombrang

Ekstrak daun kecombrang dibuat seri konsentrasi yakni 25%, 50%, 75% dan 100% dengan cara dilarutkan dengan DMSO 2%. Pembuatan konsentrasi ekstrak dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Etanolik Daun Kecombrang

Konsentrasi ekstrak daun kecombrang	Ekstrak daun kecombrang (g)	DMSO 2% (ml)
100%	2	2
75%	1,5	0,5
50%	1	1
25%	0,5	1,5

3.4.9 Pembuatan Media *Muller Hinton Agar*

Sebanyak 7,6 g medium MHA ditimbang dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer kemudian ditambah 200 ml aquadest, ditutup dengan kapas dan disterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit. Kemudian didinginkan hingga suhu $\pm 50^\circ\text{C}$ dan dituang ke dalam cawan petri steril dan dibiarkan hingga memadat. Setelah medium padat, dibungkus dengan kertas dan disimpan di lemari pendingin.

3.4.10 Pembuatan Media *Brain Heart Infusion*

Sebanyak 3,7 g medium BHI ditimbang dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambah dengan 100 ml aquadest steril, ditutup dengan kapas dan disterilkan dengan autoclave dengan suhu 121°C

selama 15 menit. Kemudian didinginkan hingga suhu $\pm 50^{\circ}\text{C}$ dan disimpan di lemari pendingin.

3.4.11 Pembuatan Suspensi Bakteri

Bakteri uji *Shigella sp.* dari biakan murni diambil 2 ose dan ditanam dalam tabung yang berisi 5 ml medium *Brain Heart Infusion* (BHI) kemudian diinkubasi suhu 37°C selama 24 jam. Setelah itu, diambil beberapa ose dan dimasukkan ke dalam 10 ml media BHI. Kekeruhan dicocokkan dengan standar Mc Farland 0,5.

3.4.12 Identifikasi Bakteri Uji

a. Pengecatan gram

Suspensi bakteri dari media BHI diambil 1-2 ose kemudian ditempatkan pada objek glass. Suspensi diratakan mengikuti pola yang sudah dibuat sebelumnya. Preparat dikering udarakan kemudian difiksasi diatas api spirtus. Selanjutnya preparat diletakkan di atas rak pengecatan dan dicat menggunakan pengecatan Gram. Preparat digenangi cat Gram A selama 3 menit kemudian dicuci dengan air mengalir, dilanjutkan cat Gram B selama 2 menit kemudian dicuci dengan air mengalir. Kemudian warna pada preparat dilunturkan dengan cat Gram C. Preparat digenangi cat Gram D selama 1 menit kemudian dicuci dengan air mengalir. Preparat dikeringkan dan diamati dengan mikroskop perbesaran 100x. Morfologi bakteri Gram negatif, berbentuk batang dan susunan menyebar.

b. Identifikasi pada media *Salmonella Shigella Agar* (SSA)

Suspensi bakteri uji *Shigella sp.* diinokulasikan pada media *Salmonella Shigella Agar* (SSA) dan diinkubasi suhu 37°C selama 24

jam. Koloni yang terbentuk yaitu kecil, halus, transparan, konvek, bulat, rata pada tepi dan permukaan.

c. Identifikasi pada media uji biokimia

Identifikasi uji biokimia dengan menggunakan medium *Kliger Iron Agar* (KIA), *Sulfida Indol Motility* (SIM), *Lysine Iron Agar* (LIA) dan Citrat. Pada medium KIA, inokulasi bakteri dilakukan dengan cara ditusukkan ke dalam kemudian digores pada lereng media dengan menggunakan jarum ent kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Maka akan terbentuk warna merah pada bagian lereng (K) dan pada bagian dasar medium akan terbentuk warna kuning (K) sedangkan pada sulfida negatif (S -) dan rongga udara negatif (G -).

Pada medium *Sulfida Indol Motility* (SIM), inokulasi bakteri dengan cara ditusukkan menggunakan jarum ent pada media SIM kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil sulfida negatif (S -), indol negatif (I -) dan hasil motilitas negatif (M -).

Pada medium *Lysine Iron Agar* (LIA), inokulasi bakteri dilakukan dengan cara ditusukkan pada media kemudian digores pada bagian lereng menggunakan jarum ent kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Pada bagian lereng dan dasar media akan tetap berwarna ungu (K) dan sulfida negatif (S -).

Pada medium Citrat, inokulasi dilakukan dengan cara digores menggunakan jarum ose pada lereng media kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Maka hasil yang didapatkan negatif (C -).

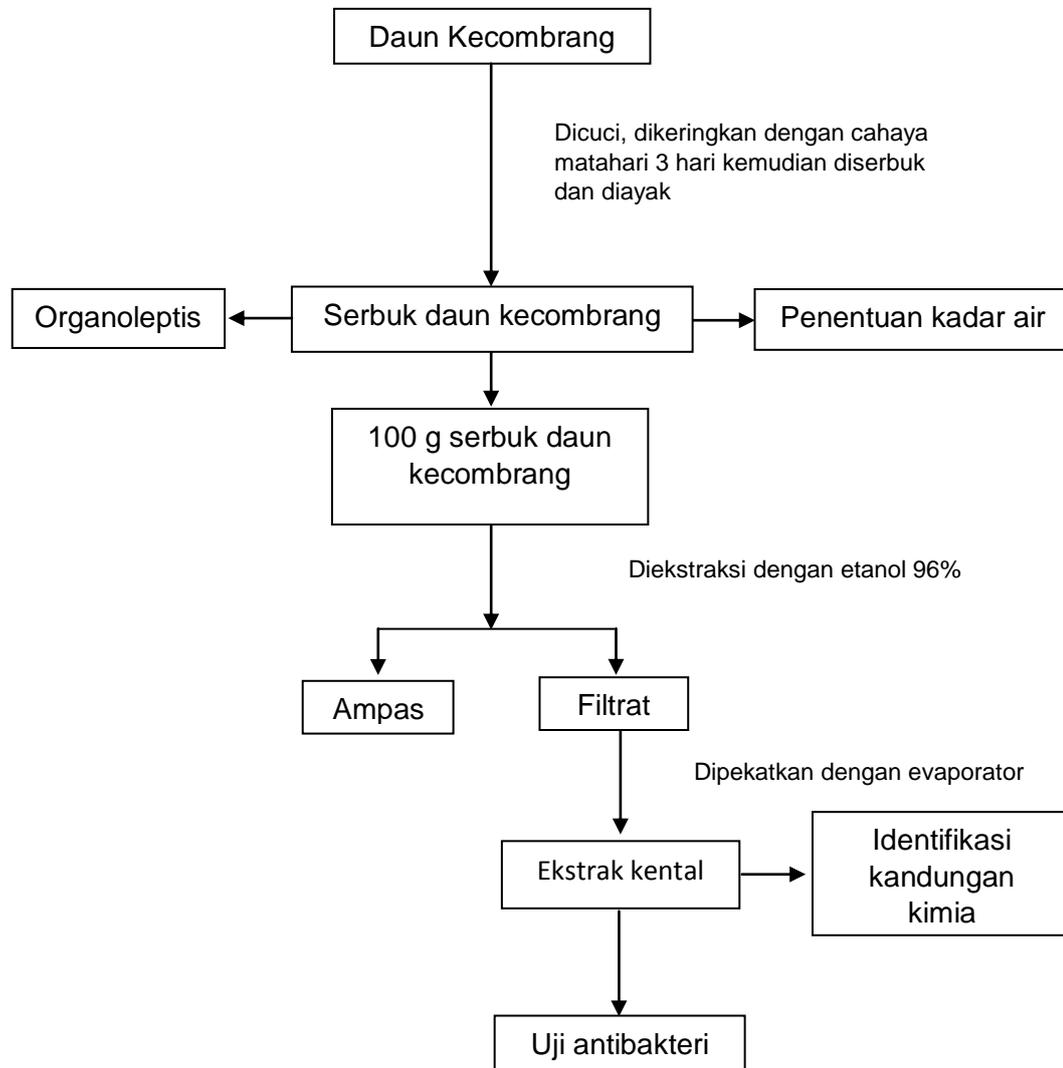
3.4.13 Pengujian Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi (sumuran) yang ditandai terbentuknya zona jernih yang tidak ditumbuhi bakteri disekitar sumuran. Caranya dengan menggoreskan suspensi bakteri dengan kapas lidi steril pada media MHA. Kemudian dengan menggunakan boorprof, media dilubangi sebanyak 6 sumuran yang masing-masing berisi 50 µl kotrimoksazol sebagai kontrol positif, DMSO 2% sebagai kontrol negatif, ekstrak yang diuji pada konsentrasi 25%, 50%, 75%, 100%. Kemudian diinkubasi suhu 37°C selama 24 jam. Setelah itu diamati terbentuknya daya hambat radikal atau irradikal disekitar sumuran dan diukur dengan satuan mm dengan dibandingkan antara kontrol positif dan negatif.

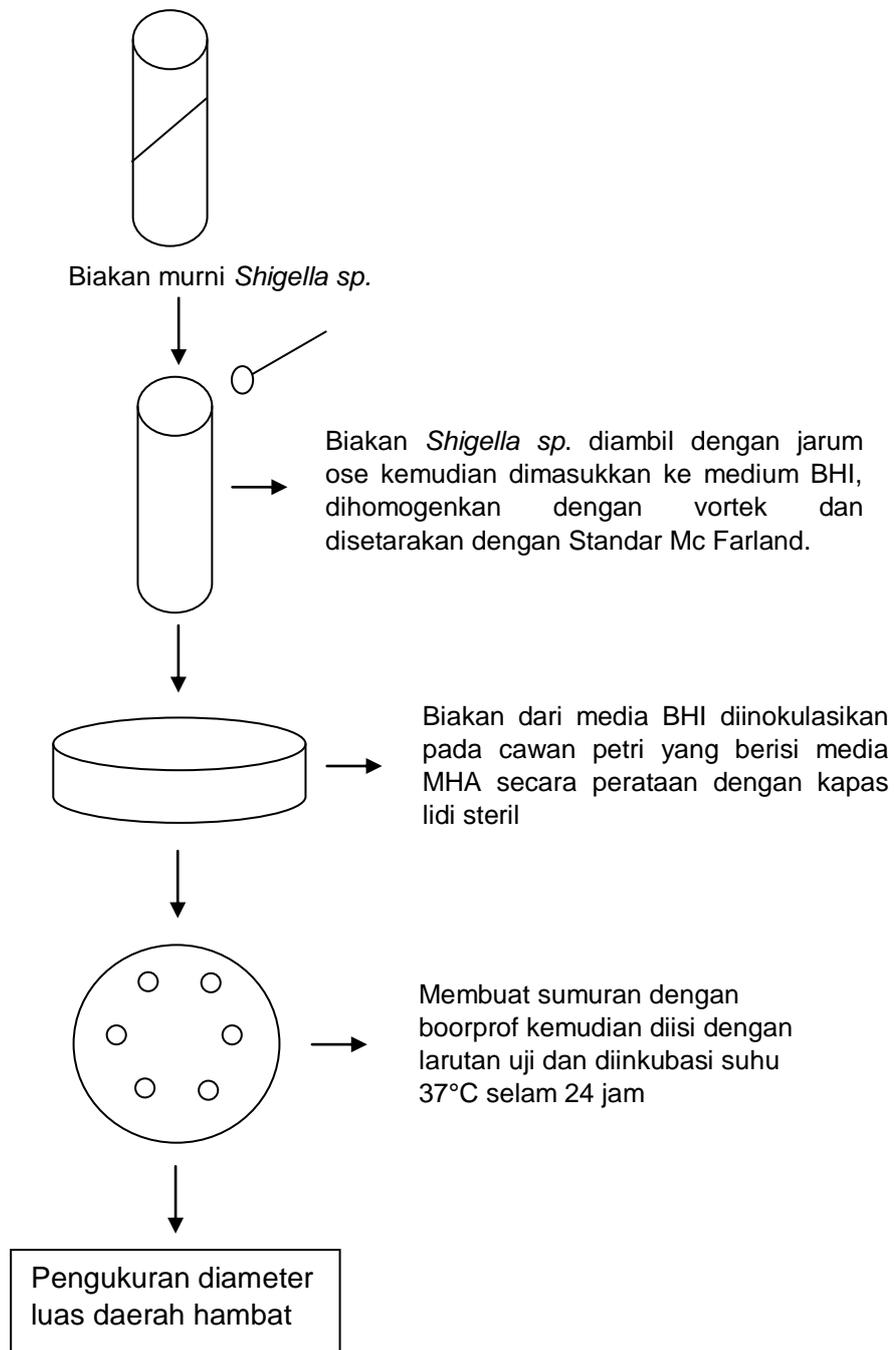
3.5 Analisis Data Statistik

- a. Analisis deskriptif untuk memberi gambaran data penelitian yang diuraikan secara kualitatif dan disajikan dalam bentuk tabel.
- b. Uji Normalitas dan Homogenitas.
- c. Uji One Way Anove (analisa varian satu arah) untuk mengetahui perbedaan ekstrak daun kecombrang pada masing-masing konsentrasi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella sp.*
- d. Uji Post Hoc (SNK) untuk menentukan perbedaan pada masing-masing konsentrasi ekstrak daun kecombrang.

3.6 Desain Penelitian



Gambar 1. Pembuatan Ekstrak Etanolik Daun Kecombrang (*Nicolaia speciosa*)



Gambar 2. Skema Uji *Shigella sp.* Metode Difusi

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

4.1.1 Identifikasi Tanaman

1b - 2b – 3b- 4b- 12b – 13b – 14b – 17b – 18b – 19b – 20b – 21b – 22b – 23b – 24a – 25a – 26b – 27a – 28b – 29b – 30a – 31a – 32a – 33a – 34b – 333b – 334b – 335a – 336a – 337a – 338a – 339b – 340a. Familia 207. Zingiberaceae. 1a – 2a – 6c – 11a – 12a. Nicolaia. 1a – 2b. **Nicolaia speciosa (Bl.)** Horan. Sinonim : *Phaeomeria speciosa* (Bl.) Kds.

Deskripsi :

Habitus : Herba.

Akar : Rhizoma, bercabang-cabang.

Batang : Percabangan simpodial, hijau tua, bagian pangkal merah.

Daun : Tunggal, bangun lanset, ujung meruncing, pangkal membulat, tepi rata, tulang daun menyirip, permukaan licin, panjang 29-31 cm, lebar 7,2-8,1 cm, tangkai daun tidak berambut, putih kekuningan atau ungu, panjang 0,75-2 cm.

Bunga : Majemuk, tumbuh dari rhizoma, bractea tegak, herbaceus sampai coriaceous, bulat telur sampai bulat memanjang, kelopak bentuk tabung, daun mahkota merah jambu, benangsari kuning, putik kecil.

4.1.2 Hasil Pembuatan Serbuk Daun

Hasil pengeringan dan pembuatan serbuk daun kecombrang. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kecombrang yang diperoleh dari Pandeglang, Banten pada bulan Desember 2017. Daun

kecombrang yang telah dikeringkan diserbuk dengan alat penggiling dan diayak dengan ayakan nomor 40. Pembuatan serbuk daun kecombrang untuk memperluas luas permukaan partikel bahan yang kontak dengan pelarut sehingga penyarian dapat berlangsung lebih efektif.

4.1.3 Hasil Identifikasi Serbuk Daun Kecombrang

Identifikasi organoleptis serbuk daun kecombrang yang telah dilakukan di Laboratorium Fitokimia Universitas Setia Budi diamati secara visual. Organoleptis ini meliputi bentuk, warna, bau dan rasa. Hasil identifikasi organoleptis serbuk daun kecombrang dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Identifikasi Organoleptis Daun Kecombrang

No	Identifikasi Spesifik	Hasil Penelitian
1.	Bentuk	Serbuk
2.	Warna	Hijau tua
3.	Bau	Khas
4.	Rasa	Pahit

4.1.4 Hasil Penentuan Kadar Air

Penentuan kadar air ekstrak daun kecombrang dengan menggunakan alat *Bidwell sterling* diperoleh hasil 11,96%.

4.1.5 Hasil Pembuatan Ekstrak Etanolik Daun Kecombrang

Serbuk daun kecombrang ditimbang sebanyak 200 g kemudian dimasukkan ke botol untuk dilakukan maserasi dengan ditambah pelarut etanol sebanyak 2 liter. Proses ini berlangsung selama 3 hari dengan penggojokan sesekali. Hasil maserasi disaring dan kemudian filtrat dipekatkan.

4.1.6 Hasil Uji Bebas Etanol Ekstrak Daun Kecombrang

Uji bebas etanol dilakukan untuk mengetahui apakah ekstrak masih terdapat pelarut atau tidak yang akan berpengaruh pada pengujian selanjutnya. Hasil uji bebas etanol dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Uji Bebas Etanol Daun Kecombrang

Prosedur	Hasil	Pustaka
Ekstrak + H ₂ SO ₄ conc + CH ₃ COOH dipanaskan	Tidak tercium bau khas ester	Tidak tercium bau khas ester (Kusumawati, 2015)

Hasil uji bebas etanol berdasarkan pada tabel diatas menunjukkan bahwa ekstrak daun kecombrang sudah bebas dari pelarutnya yaitu etanol 96% yang ditunjukkan dengan tidak adanya bau ester yang khas.

4.1.7 Hasil Identifikasi Kandungan Kimia Daun Kecombrang

Identifikasi kandungan kimia dilakukan untuk mengetahui senyawa aktif yang terdapat pada daun kecombrang. Hasil identifikasi kandungan kimia dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Identifikasi Kandungan Kimia Daun Kecombrang

Kandungan Kimia	Test	Hasil	Pustaka	Keterangan
Saponin	10 mg ekstrak + 5 ml air panas, dikocok 15 detik + 1 sampai 2 tetes HCl 2 N	Terbentuk buih stabil + 1 tetes HCl 2N buih tidak hilang	Terbentuk buih stabil + 1 tetes HCl 2N buih tidak hilang (Kusumawati, 2015)	(+) 
Flavonoid	10 mg ekstrak + 5 tetes HCl pekat, sedikit serbuk Mg + 5 tetes amil alkohol, dikocok	Terbentuk warna merah, kuning, jingga pada pelarut amil alkohol	Terbentuk warna merah, kuning, jingga pada pelarut amil alkohol (Kusumawati, 2015)	(+) 

Kandungan Kimia	Test	Hasil	Pustaka	Keterangan
Polifenol	10 mg ekstrak + aquadest + FeCl ₃ 1%	Terbentuk warna ungu	Terbentuk warna ungu (Kusumawati, 2915)	(+) 

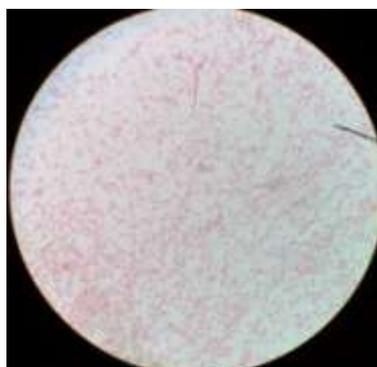
4.1.8 Hasil Pembuatan Suspensi Bakteri

Pembuatan suspensi bakteri *Shigella sp.* dengan cara mengambil 1-2 ose biakan murni kemudian ditanam pada media BHI dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Kemudian diambil beberapa ose suspensi bakteri lalu dimasukkan ke media BHI 10 ml dan kekeruhan sesuai dengan standar MC Farland 0,5 untuk dilakukan pengujian aktivitas antibakteri.

4.1.9 Hasil Identifikasi Bakteri Uji

a. Hasil Pengecatan Gram

Identifikasi bakteri *Shigella sp.* dengan pengecatan Gram diperoleh bakteri Gram negatif, berbentuk batang dan susunan menyebar. Hasil pengecatan Gram dapat dilihat pada Gambar 3 dan keterangan gambar dapat dilihat pada Tabel 5.



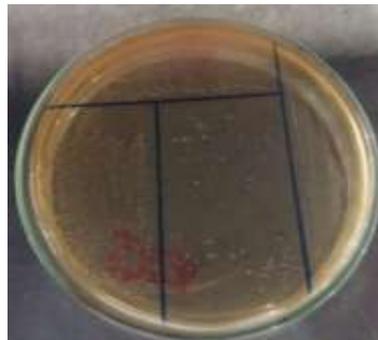
Gambar 3. Hasil Pengecatan Gram *Shigella sp.*

Tabel 5. Keterangan Gambar Hasil Pengecatan Gram *Shigella sp.*

Bentuk	Batang
Susunan	Menyebar
Cat	Gram
Sifat	Gram Negatif
Latar Belakang	Putih

b. Hasil Identifikasi Media SSA

Identifikasi bakteri uji *Shigella sp.* dengan menginokulasikan pada media *Salmonella Shigella Agar* (SSA) kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Koloni yang terbentuk yaitu kecil, halus, tidak berwarna, berbentuk konvek, bulat, transparan, tepi dan permukaan rata. Hasil inokulasi bakteri pada media SSA dapat dilihat pada Gambar 4.

**Gambar 4.** Hasil Identifikasi Bakteri Pada Media SSA

c. Hasil Identifikasi Biokimia

Hasil identifikasi biokimia bakteri *Shigella sp.* pada media KIA (K/A^{S-}), SIM (---), LIA (K/A^{S-}) dan Citrat (-) dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Hasil Uji Biokimia *Shigella sp.*

Keterangan :

KIA : Lereng berwarna merah (K), dasar berwarna kuning (A) dan sulfida negatif (tidak terbentuk warna hitam).

SIM : Sulfida negatif (tidak terbentuk warna hitam), indol negatif (tidak terbentuk warna merah), motilitas negatif.

LIA : Lereng berwarna ungu (K), dasar berwarna kuning (A) dan sulfida negatif (tidak terbentuk warna hitam).

Citrat : Negatif (media tetap berwarna hijau, bakteri tidak menggunakan citrat sebagai sumber carbon tunggal).

4.1.10 Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri

Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanolik daun kecombrang terhadap *Shigella sp.* dilakukan dengan menggunakan metode difusi. Hasil ekstrak dibuat dalam 4 konsentrasi yakni 25%, 50%, 75% dan 100%. Kontrol positif yang digunakan adalah kotrimoksazol sedangkan kontrol negatif yang digunakan DMSO 2%. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Daya antibakteri dari setiap konsentrasi dapat dilihat dari ada atau tidaknya zona hambat yang diukur dalam satuan mm

dan dibandingkan dengan kontrol. Hasil uji aktivitas antibakteri dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 6. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Daun Kecombrang

No	Konsentrasi Ekstrak (%)	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-rata
		Cawan 1	Cawan 2	Cawan 3	
1	25%	11	12	8	10,33
2	50%	12	13	11	12
3	75%	14	15	13	14
4	100%	18	15	14	15,67
5	Kontrol Positif	25	25	25	25
6	Kontrol Negatif	0	0	0	0

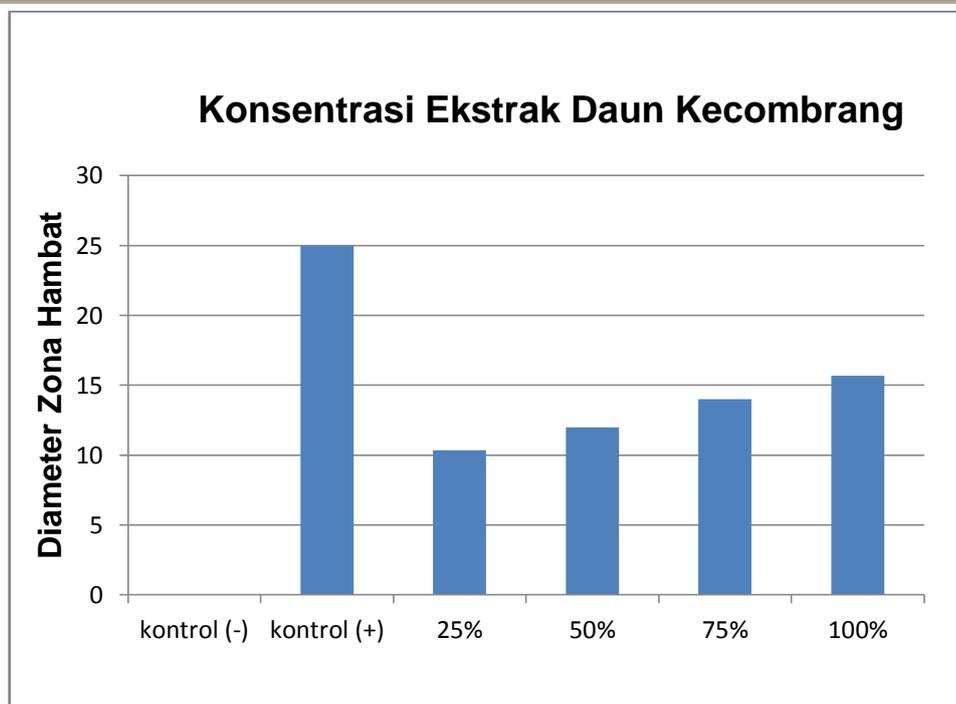
Keterangan :

Positif (+) : terbentuk zona hambat

Negatif (-) : tidak terbentuk zona hambat

Kontrol positif : antibiotik kotrimoksazol

Kontrol negatif : DMSO 2%



Gambar 6. Diagram Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri

Hasil penelitian daun kecombrang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella sp.* pada konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100%. Hal tersebut ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambat pada media *Muller Hinton Agar* (MHA). Rata-rata diameter zona hambat ekstrak daun kecombrang terhadap pertumbuhan bakteri *Shigella sp.* adalah 10,33 mm pada konsentrasi 25%, 12 mm pada konsentrasi 50%, 14 mm pada konsentrasi 75% dan 15,67 mm pada konsentrasi 100%.

4.2 Pembahasan

Penelitian ini menggunakan ekstrak etanolik daun kecombrang. Sebelum pembuatan ekstrak, daun kecombrang mengalami beberapa proses yaitu pemilihan daun kecombrang, pemotongan daun kecombrang, pengeringan daun kecombrang dan penyerbukan daun kecombrang. Pemilihan daun kecombrang untuk ekstraksi adalah daun kecombrang yang cukup umur karena kandungan senyawa aktif maksimal. Pengeringan daun kecombrang ini bertujuan untuk menurunkan kadar air sehingga bahan tersebut tidak mudah ditumbuhi kapang dan bakteri.

Pembuatan ekstrak daun kecombrang pada penelitian ini menggunakan metode maserasi. Maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia ke dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke rongga sel yang mengandung zat aktif sehingga zat aktif akan larut karena perbedaan konsentrasi antara larutan

larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel, maka larutan yang terpekat didesak keluar (Indraswari, 2008).

Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi daun kecombrang adalah etanol. Etanol dapat digunakan untuk melarutkan alkaloida basa, minyak penguap, glikosida, kurkumin, kumarin, antraknon, flavonoid, steroid, damar dan klorofil. Sedangkan untuk lemak, tanin dan saponin hanya sedikit larut. Etanol dipertimbangkan sebagai penyari karena lebih efektif, kapang dan bakteri sulit tumbuh pada etanol $\geq 20\%$, tidak beracun, netral, absorpsinya baik, dapat bercampur dengan air dan panas yang diperlukan untuk pemekatan hanya sedikit (Sa'adah dan Henny, 2015).

Identifikasi bakteri *Shigella sp.* dengan pengecatan Gram terbentuk bakteri dengan Gram negatif, berbentuk batang dan susunan menyebar. Identifikasi bakteri uji *Shigella sp.* dengan menginokulasikan pada media *Salmonella Shigella Agar (SSA)* kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Koloni yang terbentuk yaitu kecil, halus, tidak berwarna, berbentuk konvek, bulat, transparan, tepi dan permukaan rata.

Identifikasi bakteri *Shigella sp.* secara biokimia pada medium KIA hasilnya K/A^{S-} , bagian lereng berwarna merah (K) karena bakteri bersifat alkali acid, alkali terbentuk karena proses oksidasi dekarboksilasi protein membentuk amina bersifat alkali dengan adanya phenol red maka terbentuk warna, bagian dasar berwarna kuning (A) karena bakteri memfermentasikan karbohidrat dengan menguraikan glukosa dan tidak menguraikan laktosa dan sulfida negatif karena bakteri tidak memproduksi hydrogen sulfida (S-).

Pada medium SIM hasil yang diperoleh ---, sulfida negatif karena bakteri tidak dapat mereduksi sodium thiosulfat sehingga tidak menghasilkan hydrogen sulfida yang menyebabkan media tidak berwarna hitam, indol negatif karena bakteri tidak memiliki enzim tryptophanase yang mengubah tryptopan menjadi merah, motilitas negatif karena bakteri tidak bergerak dan tidak memiliki flagel.

Pada medium LIA hasil yang diperoleh K/A^{S-} , lereng media berwarna ungu (K) dan dasar media berwarna kuning (A) karena bakteri tidak mampu mendekarboksilasi lisin sehingga menyebabkan reaksi asam, sulfida negatif karena bakteri tidak mampu memproduksi hydrogen sulfida. Pada medium Citrat hasil yang diperoleh negatif karena bakteri tidak menghasilkan natrium karbonat yang bersifat alkali dan tidak menggunakan Citrat sebagai sumber karbon tunggal.

Pada penelitian ini, pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanolik daun kecombrang menggunakan metode difusi. Metode difusi berguna untuk mengetahui seberapa besar diameter zona hambat ekstrak daun kecombrang yang dapat membunuh bakteri. Keuntungan metode difusi adalah pengujian dapat dilakukan dengan cepat dan mudah serta dapat membedakan lebih jelas daerah bakterisida dan bakteristatik karena pada hasil akan terbentuk zona radikal dan irradikal, kontaminasi oleh bakteri lain pemeriksaan dapat lebih mudah terlihat atau diketahui.

Berdasarkan hasil pengujian antibakteri ekstrak daun kecombrang terhadap bakteri *Shigella sp.* diperoleh diameter zona hambat yang berbeda-beda pada setiap konsentrasi yaitu 10,33 mm pada konsentrasi 25%, 12 mm pada konsentrasi 50%, 14 mm pada konsentrasi 75% dan

15,67 mm pada konsentrasi 100%. Sedangkan untuk kontrol positif sebesar 25 mm dan kontrol negatif 0 mm. Menurut Ningtyas (2010), semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan maka semakin tinggi pula daya hambatnya karena semakin tinggi konsentrasi maka semakin banyak kandungan senyawa aktif antibakterinya. Hal serupa juga dinyatakan oleh Kusumawati (2015), bahwa keefektifan zat antimikroba untuk menghambat pertumbuhan mikroba bergantung pada sifat mikroba, konsentrasi dan lama waktu kontak dan sifat biostatik yang dapat meningkat dengan semakin tingginya konsentrasi yang ditambahkan.

Dari hasil penelitian tersebut terbukti bahwa ekstrak daun kecombrang mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Shigella sp.* Hal ini disebabkan karena zat aktif yang terkandung didalam ekstrak daun kecombrang. Berdasarkan uji kandungan kimia pada daun kecombrang, ekstrak etanolik daun kecombrang positif terdapat senyawa saponin, flavonoid dan polifenol. Senyawa-senyawa aktif tersebutlah yang berperan sebagai antibakteri.

Menurut Gunawan dan Mulyani (2004), flavonoid merupakan golongan senyawa fenol yang mekanisme kerjanya mendenaturasi protein dan merusak membran sel bakteri tanpa dapat diperbaiki lagi sehingga pertumbuhan bakteri terhambat. Menurut Munfaati dkk (2015), dinding sel bakteri yang mengandung lapisan peptidoglikan dapat ditembus oleh flavonoid. Kemudian dinding sel bakteri yang terkena flavonoid akan kehilangan permeabilitas sel.

Senyawa saponin dapat berdifusi melalui membran lalu mengikat sitoplasma sehingga akan mengganggu dan mengurangi kestabilan membran yang mengakibatkan sitoplasma bocor keluar sel. Hal tersebut yang mengakibatkan kematian pada bakteri (Pratiwi, 2016). Fenol merupakan senyawa dengan gugus $-OH$ yang terikat dengan cincin aromatik (Siswoyo, 2009). Sebagai agen antibakteri, fenol akan meracuni protoplasma, merusak dan menembus dinding serta mengendapkan protein pada sel bakteri. Senyawa fenolik yang memiliki molekul besar, dapat menginaktifkan enzim esensial dalam sel bakteri meski konsentrasi rendah. Senyawa ini juga dapat menyebabkan kerusakan pada sel bakteri, denaturasi protein, menginaktifkan enzim dan menyebabkan kebocoran sel (Moeljanto, 2006).

Kontrol positif yang digunakan adalah kotrimoksazol. Kotrimoksazol merupakan kombinasi dari trimethoprim dan sulfametoksazol. Trimethoprim merupakan antibiotik nonsulfonamid yang akan meningkatkan aktifitas kombinasi obat. Mekanisme kerja kotrimoksazol adalah dengan menghambat tahap sintesis protein dan asam nukleat dari bakterisidal (Wulandari, 2013). Berdasarkan hasil penelitian, kotrimoksazol memiliki aktivitas antibakteri lebih tinggi daripada ekstrak etanol daun kecombrang. Namun, penggunaan antibiotik kimiawi memiliki efek samping jika dikonsumsi secara terus menerus. Efek samping yang ditimbulkan dapat berupa hipersensitivitas, anafilaksis dan resistensi bakteri penyebab penyakit (Amin, 2014). Sedangkan penggunaan obat tradisional dinilai lebih aman karena obat tradisional memiliki efek

samping yang relatif lebih sedikit dibandingkan dengan obat kimia (Tandah, 2016).

Kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO 2%. Pada penelitian ini, DMSO 2% digunakan untuk mengencerkan ekstrak daun kecombrang dan diuji aktivitas antibakterinya untuk mengetahui apakah DMSO 2% dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Hasil penelitian menunjukkan bahwa DMSO 2% tidak memiliki aktivitas antibakteri yang dibuktikan tidak terbentuknya zona hambat.

Pengujian statistika menggunakan uji Anova satu arah (One Way Anova). Sebelumnya dilakukan pengujian Kolmogorov-Smirnov untuk menguji normalitas data dan mensyaratkan data penelitian normal untuk uji Anova. Data dari tabel didapatkan hasil Asymp. Sig. sebesar 0,252. Nilai ini $>0,05$ sehingga disimpulkan bahwa data dari penelitian terdistribusi normal.

Pengujian selanjutnya adalah uji Levene Statistic yang berfungsi untuk mengetahui homogenitas data dengan syarat $p > 0,05$. Data dari tabel didapatkan hasil Sig 0,061. Nilai ini lebih besar dari 0,05 sehingga disimpulkan jika data tersebut homogen. Kemudian dilakukan uji Anova satu arah untuk mengetahui perbedaan antara ekstrak etanolik daun kecombrang pada setiap konsentrasi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella sp.* Kriteria pengujiannya yaitu diameter zona hambat setiap konsentrasi dinyatakan ada perbedaan yang nyata (signifikan) dengan tingkat kemaknaan $\alpha = 0,05$ jika hasil signifikan (Sig.) $< 0,05$ akan tetapi jika tidak ada perbedaan yang nyata (signifikan) bila (Sig.) $> 0,05$. Dalam tabel didapatkan hasil sig sebesar 0,000 nilai ini $< 0,05$ yang berarti

H_0 ditolak sehingga dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan diameter zona hambat.

Selanjutnya dilakukan uji post hoc Student Neuman Keuls untuk mengetahui kelompok yang berbeda dan konsentrasi yang memiliki aktivitas antibakteri paling baik. Berdasarkan hasil yang diperoleh dapat diketahui bahwa ekstrak daun kecombrang memiliki aktivitas antibakteri paling aktif pada konsentrasi 75%.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Hasil penelitian aktivitas antibakteri ekstrak daun kecombrang terhadap pertumbuhan bakteri *Shigella sp.* dapat disimpulkan sebagai berikut :

- a. Ekstrak daun kecombrang mempunyai aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *Shigella sp.*
- b. Pada konsentrasi 75% ekstrak etanolik daun kecombrang (*Nicolaia speciosa*) paling aktif menghambat pertumbuhan *Shigella sp.*

5.2 Saran

- a. Diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari ekstrak daun kecombrang terhadap pertumbuhan bakteri *Shigella sp.* dengan metode dilusi.
- b. Diperlukan pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun kecombrang dengan metode ekstraksi lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Amin, Z.L. 2014. Pemilihan Antibiotik yang Rasional. *Medical Review*. XXVII(3).
- Anonital dan Lelly A. 2011. Kajian Epidemiologi Penyakit Infeksi Saluran Pencernaan yang Disebabkan Oleh Amuba di Indonesia. *Media Litbang Kesehatan*, 21(1).
- Ansel, H.C. 2011. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Ayuningtyas, A.K. 2008. "Efektivitas Campuran Meniran *Phyllanthus niruri* dan Bawang Putih *Allium sativum* untuk Pengendalian Infeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Lele Dumbo *Clarias gariepinus*". Skripsi. Bogor: Prodi Teknologi dan Manajemen Akuakultur Institut Pertanian Bogor.
- Endarini, L.H. 2016. *Farmakognosi dan Fitokimia*. Jakarta: Pusdik SDM Kesehatan.
- Gunawan, D. dan Mulyani, S. 2004. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi)*. Jilid 1. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Hariana, Arif. 2013. *262 Tumbuhan Obat & Khasiatnya*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Hidayat R.S dan Rodame M N. 2015. *Kitab Tumbuhan Obat*. AGRIFLO.
- Indraswari, A. 2008. "Optimasi Pembuatan Ekstrak Daun Dewandaru (*Eugenia uniflora* L.) Menggunakan Metode Maserasi dengan Parameter Kadar Total Senyawa Fenolik dan Flavonoid". Skripsi. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Istiqomah. 2013. "Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokletasi Terhadap Kadar Piperin Buah Cabe Jawa (*Piperis retrofracti fructus*)". Skripsi. Jakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, UIN Syarif Hidayatullah.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2007. *Kekurangan Akses Terhadap Air Minum dan Sanitasi Dasar*. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2011. *Situasi Diare di Indonesia*. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Kusumawati, E. 2015. "Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kecombrang *Etilingera elatior* (Jack) R.M.Sm Terhadap *Salmonella typhi*". *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 1(1), 1-7.

- Lisayani, Anggun. 2011. "Penetapan Kadar Kalium Pada Bunga Kecombrang (*Nicolaia Speciosa* Horan) Segar Dan Rebus ". KTI. Semarang: Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang.
- Moeljanto, R.D. 2006. *Khasiat dan Manfaat Daun Sirih : Obat Mujarab dari Masa ke Masa*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Munfaati, P.N., Evie, R., dan Guntur, T. 2015. Aktivitas Senyawa Antibakteri Ekstrak Herba Meniran (*Phyllanthus niruri*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Shigella dysenteriae* Secara *in Vitro*. *Jurnal Lentera Bio*, IV(1), 64-71.
- Ngajow, M., Abidjuju, J dan Kamu, V.S., 2013. "Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara *In Vitro*. *Jurnal MIPA UNSRAT Online*, 2(2), 128-132.
- Ningtyas, R. 2010. "Uji Antioksidan dan Antibakteril Ekstrak Air Daun Kecombrang (*Etilingera elatior* (Jack) R.M. Smith) sebagai Pengawet Alami Terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*". Skripsi. Jakarta: Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Syarif Hidayatullah.
- Niyogi, S.K. 2005. "Shigellosis". *Jurnal Mikrobiologi*, 42(2): 133-143.
- Prasetyowati, F.E. 2014. "Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853". KTI. Surakarta: Universitas Setia Budi Surakarta.
- Pratiwi, A.P. 2016. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Singkong (*Manihot esculenta* Crantz) Terhadap *Shigella sp*. *Jurnal Kesehatan*, 7(1), 161-164.
- Pratiwi, L.S., 2015. "Deteksi Bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella sp* dalam Telur Balado serta Resistensinya Terhadap Beberapa Antibiotik". Skripsi. Jakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, UIN Syarif Hidayatullah.
- Pratiwi, S.T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Erlangga.
- Radji, M. 2010. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Farmasi dan Kedokteran*. Jakarta : EGC.
- Sa'adah, H. dan Henny, N. 2015. Perbandingan Pelarut Etanol dan Air Pada Pembuatan Ekstrak Umbi Bawang Tiwai (*Eleutherine americana* Merr) Menggunakan Metode Maserasi. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 1(2), 149-153.
- Sahputra, A., 2014. "Uji Efektivitas Ekstra Madu Karet dalam Menghambat Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*". Skripsi. Jakarta: Program Pendidikan Kedokteran, UIN Syarif Hidayatullah.
- Santoso, R.M., Praharani, D., dan Purwanto. 2012. "Daya Antibakteri Ekstrak Daun Pare (*Momordica charantia*) dalam Menghambat Pertumbuhan *Streptococcus viridians*". *Artikel Ilmiah*. Fakultas Kedokteran Gigi: Universitas Jember.

- Sari, M. 2015. "Uji Bakteriologis dan Resistensi Antibiotik Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella sp* pada Makanan Gado-Gado di Kantin UIN Syarif Hidayatullah. Skripsi. Jakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, UIN Syarif Hidayatullah.
- Siswoyo, R. 2009. *Kimia Organik*. Jakarta: Erlangga.
- Supandi, Tatang dan Wardah. 2014. *Mikrobiologi Pangan – Teori dan Praktik*. Yogyakarta: ANDI.
- Suparmi, Ibunda dan Ari Wulandari. 2012. *Herbal Nusantara: 1001 Ramuan Tradisional Asli Indonesia*. Yogyakarta: ANDI Yogyakarta.
- Tandah, M.R. 2016. "Daya Hambat Dekokta Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Kesehatan Tadulako*, 2(1), 1-75.
- Ulama, B.N.T., 2016."Identifikasi Bakteri *Escherichia coli*, *Shigella sp*, dan *Salmonella sp* pada Air Sumur di Wilayah Pembuangan Tahu dan Limbah Ikan Kota Bandar Lampung". Skripsi. Bandar Lampung: Universitas Lampung.
- Wulandari, F. 2013. "Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sendok (*Plantago major*, L) Terhadap Bakteri *Shigella dysenteriae*". Skripsi. Surakarta: Universitas Setia Budi Surakarta.
- Yenrina, R. 2015. *Metode Analisis Bahan Pangan dan Komponen Bioaktif*. Padang: Universitas Andalas Press.

L

A

M

P

I

R

A

N

Lampiran 1. Hasil Determinasi Tanaman Kecombrang



No : 283/DET/UPT-LAB/09/V/2018

Hal : Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan

Menerangkan bahwa :

Nama : Desy Kartika Dewi

NIM : 33152903 J

Fakultas : Ilmu Kesehatan Universitas Setia Budi

Telah mendeterminasikan tumbuhan : **Kecombrang / *Nicolaia speciosa* (Bl.)**

Determinasi berdasarkan **Backer : Flora of Java**

1b – 2b – 3b – 4b – 12b – 13b – 14b – 17b – 18b – 19b – 20b – 21b – 22b – 23b – 24a – 25a – 26b – 27a – 28b – 29b – 30a – 31a – 32a – 33a – 34b – 333b – 334b – 335a – 336a – 337a – 338a – 339b – 340a. familia 207. Zingiberaceae. 1a – 2a – 6c – 11a – 12a. Nicolaia. 1a – 2b.

***Nicolaia speciosa* (Bl.)** Horan. Sinonim: *Phaeomeria speciosa* (Bl.) Kds.

Deskripsi :

Habitus : Herba.

Akar : Rhizoma, bercabang-cabang.

Batang : Percabangan simpodial, hijau tua, bagian pangkal merah.

Daun : Tunggal, bangun lanset, ujung meruncing, pangkal membulat, tepi rata, tulang daun menyirip, permukaan licin, panjang 29 – 31 cm, lebar 7,2 – 8,1 cm, tangkai daun tidak berambut, putih kekuningan atau ungu, panjang 0,75 – 2 cm.

Bunga : Majemuk, tumbuh dari rhizoma, bractea tegak, herbaceous sampai coriaceous, bulat telur sampai bulat memanjang, kelopak bentuk tabung, daun mahkota merah jambu, benangsari kuning, putik kecil.

Pustaka : Backer C.A. & Brink R.C.B. (1965): *Flora of Java* (Spermatophytes only). N.V.P. Noordhoff – Groningen – The Netherlands.

09 Mei 2018
Tempo Determinasi

Prof. Sunnah Wijfosendojo, SU.

Lampiran 2. Komposisi Media Reagen

1. *Muller Hinton Agar (MHA)*

a. Meat infusion	1,0 gram
b. Casein hydrolysate	1,0 gram
c. Starch	5,0 gram
d. Agar	12,0 gram
e. pH	7,4±0,2

2. *Brain Heart Infusion (BHI)*

a. Infus dari otak sapi	200,0 gram
b. Infus dari hati sapi	250 gram
c. Protease pepton	10,0 gram
d. Dekstrosa	2,0 gram
e. NaCl	5,0 gram
f. Dinatrium fosfat	5,0 gram
g. Aquadest	ad 1000 ml
h. pH	7,4±0,2

3. *Salmonella Shigella Agar (SSA)*

a. Beef extract	5,0 gram
b. Peptic digest of animal tissue	5,0 gram
c. Lactose	10,0 gram
d. Bile salt mixture	8,5 gram
e. Sodium citrate	10,0 gram
f. Sodium thiosulphate	8,5 gram
g. Ferric citrate	1,0 gram
h. Brilliant green	0,00033 gram

- | | | |
|----|-------------|------------|
| i. | Neutral red | 0,025 gram |
| j. | Agar | 15,0 gram |
| k. | pH | 7,0±0,2 |
4. *Kliger Iron Agar (KIA)*
- | | | |
|----|-----------------------------|------------|
| a. | Peptone from casein | 15,0 gram |
| b. | Pepton from meat | 5,0 gram |
| c. | Meat extract | 3,0 gram |
| d. | Yeats extract | 3,0 gram |
| e. | Lactose | 10,0 gram |
| f. | Glucose | 1,0 gram |
| g. | Ammonium iron (III) citrate | 0,5 gram |
| h. | Sodium thiosulfate | 0,5 gram |
| i. | Phenol red | 0,024 gram |
| j. | Agar | 12,0 gram |
| k. | pH | 7,4±0,2 |
5. *Sulfida Indol Motility (SIM)*
- | | | |
|----|-----------------------------|-----------|
| a. | Peptone from casein | 20,0 gram |
| b. | Pepton from meat | 6,0 gram |
| c. | Ammonium iron (III) citrate | 0,2 gram |
| d. | Sodium thiosulfate | 0,2 gram |
| e. | Agar | 3,0 gram |
| f. | pH | 7,3±0,2 |
6. *Lysine Iron Agar (LIA)*
- | | | |
|----|------------------|----------|
| a. | Pepton from meat | 5,0 gram |
| b. | Yeats extract | 3,0 gram |

- c. Glucose 1,0 gram
- d. Lysine monohydrochloride 10,0 gram
- e. Sodium thiosulfate 0,04 gram
- f. Ammonium iron (III) citrate 0,5 gram
- g. Bromo cresol purple 0,02 gram
- h. Agar 12,5 gram

7. Citrate

- a. Magnesium sulfat 0,2 gram
- b. Ammonium dihydrogen fosfat 0,2 gram
- c. Sodium ammonium phosphate 0,8 gram
- d. Sodium citrate, tribasic 2,0 gram
- e. Sodium chloride 5,0 gram
- f. Bromothymol blue 0,08 gram
- g. Agar 15,0 gram

Lampiran 3. Alat dan Bahan Penelitian



Gambar 7. Daun Kecombrang



Gambar 9. Timbangan Analitik



Gambar 8. Serbuk Daun
Kecombrang



Gambar 10. Penggiling



Gambar 11. Bidwell sterling



Gambar 12. Penyaringan



Gambar 13. Incubator



Gambar 14. Evaporator



Gambar 15. Oven

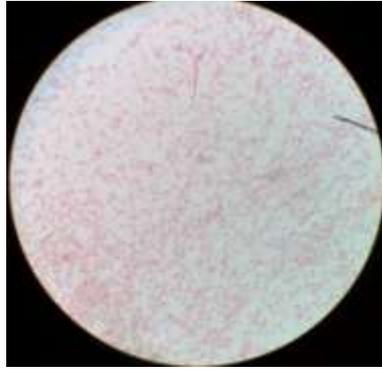


Gambar 16. Autoclave

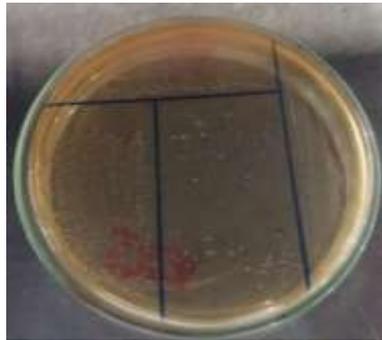


Gambar 17. Konsentrasi Ekstrak Etanolik Daun Kecombrang

Lampiran 4. Identifikasi Bakteri



Gambar 18. Hasil Pengecatan Gram *Shigella sp*



Gambar 19. Hasil Identifikasi Pada Media SSA



Gambar 20. Hasil Uji Biokimia *Shigella sp*

Lampiran 5. Hasil Penelitian



Gambar 21. Hasil Uji Bebas Etanol



Gambar 22. Hasil Uji Fitokimia Polifenol



Gambar 23. Hasil Uji Fitokimia Flavonoid



Gambar 24. Hasil Uji Fitokimia Saponin



Gambar 25. Hasil Uji Antibakteri

Lampiran 6. Uji Statistika

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Diameter Zona Hambat
N		15
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	15,40
	Std. Deviation	5,448
	Absolute	,263
Most Extreme Differences	Positive	,263
	Negative	-,161
Kolmogorov-Smirnov Z		1,017
Asymp. Sig. (2-tailed)		,252

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Oneway

Descriptives

Diameter Zona Hambat

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum
					Lower Bound	Upper Bound	
1	3	25,00	,000	,000	25,00	25,00	25
25	3	10,33	2,082	1,202	5,16	15,50	8
50	3	12,00	1,000	,577	9,52	14,48	11
75	3	14,00	1,000	,577	11,52	16,48	13
100	3	15,67	2,082	1,202	10,50	20,84	14
Total	15	15,40	5,448	1,407	12,38	18,42	8

Test of Homogeneity of Variances

Diameter Zona Hambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3,214	4	10	,061

ANOVA

Diameter Zona Hambat

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	394,267	4	98,567	46,203	,000
Within Groups	21,333	10	2,133		
Total	415,600	14			

Post Hoc Tests

Diameter Zona Hambat

Student-Newman-Keuls^a

Konsentrasi Ekstrak	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
25	3	10,33			
50	3	12,00	12,00		
75	3		14,00	14,00	
100	3			15,67	
1	3				25,00
Sig.		,192	,124	,192	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Lampiran 7. Perhitungan Konsentrasi Ekstrak

$$\text{Konsentrasi 100\%} = \frac{100}{100} \times 2 = 2 \text{ gram ekstrak} + 2 \text{ ml DMSO 2\%}$$

$$\text{Konsentrasi 75\%} = \frac{75}{100} \times 2 = 1,5 \text{ ml larutan ekstrak 100\%}$$

$$= \text{dilarutkan pada } 0,5 \text{ ml DMSO 2\%}$$

$$\text{Konsentrasi 50\%} = \frac{50}{100} \times 2 = 1 \text{ ml larutan ekstrak 100\%}$$

$$= \text{dilarutkan pada } 1 \text{ ml DMSO 2\%}$$

$$\text{Konsentrasi 25\%} = \frac{25}{100} \times 2 = 0,5 \text{ ml larutan ekstrak 100\%}$$

$$= \text{dilarutkan pada } 1,5 \text{ ml DMSO 2\%}$$