


Pengaruh Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Beluntas (*Pluchea indica* Less.) dan Daun Sukun (*Artocarpus altilis* (Park.) Fosberg) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Rini Setyowati^{a,*}, Ana Indrayati^a, Ghani Nurfiiana Fadma Sari^a

^a Program Studi SI Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi, Jl. Let. Jend. Sutoyo, Mojosongo, Surakarta, Jawa Tengah, 57127, Indonesia

¹rinisetyowati25042@gmail.com *; ²anaindrayati@setiabudi.ac.id ; ³ghaninurfiana@setiabudi.ac.id

*korespondensi penulis

| INFO ARTIKEL | ABSTRAK |
|--|---|
| <p>Sejarah artikel: Diterima : 17-08-2023 Revisi : 06-12-2023 Disetujui : 08-12-2023</p> <p>Kata kunci: Antibakteri Daun beluntas Daun sukun Pita kertas <i>S. aureus</i></p> <p>Key word: Antibacterial Beluntas leaves Breadfruit leaves Paper tape <i>S. aureus</i></p> | <p>Masyarakat Indonesia sering menderita penyakit infeksi karena bakteri <i>S. aureus</i>. Daun beluntas dan daun sukun mengandung beberapa senyawa yang berpotensi sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh kombinasi ekstrak etanol daun beluntas dan daun sukun terhadap <i>S. aureus</i> ATCC 25923. Serbuk dimaserasi menggunakan etanol 96% dilanjutkan identifikasi golongan senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, steroid, dan terpenoid. Ekstrak tunggal diuji dilusi untuk mendapatkan konsentrasi efektif selanjutnya dibuat kombinasi dengan perbandingan konsentrasi 1:1, 1:2, dan 2:1. Pengujian antibakteri terhadap kombinasi ekstrak menggunakan metode difusi cakram dan pengujian pengaruh kombinasi dengan metode pita kertas. Hasil menunjukkan ekstrak daun beluntas dan daun sukun memiliki nilai Konsentrasi Bunuh Minimum sebesar 12,5% dan 6,25%. Ketiga kombinasi ekstrak menghasilkan diameter zona hambat kategori kuat dengan diameter tertinggi yaitu perbandingan 2:1 sebesar 20,72 mm, sedangkan perbandingan 1:1 dan 1:2 hanya sebesar 17,78 mm dan 18,15 mm. Pengaruh kombinasi ekstrak bersifat sinergis.</p> <p>ABSTRACT</p> <p>Indonesians are frequently afflicted with infectious diseases caused by the <i>S. aureus</i> bacteria. Beluntas and breadfruit leaves contain several compounds which have potential as antibacterials. This research seeks to the impact of mixing ethanol extracts of breadfruit and beluntas leaves on <i>S. aureus</i> ATCC 25923. Powder were macerated using 96% ethanol followed by identification of the flavonoid, alkaloid, tannin, saponin, steroid, dan terpenoid compound class. Single extracts were examined for dilution to acquire effective concentrations before being mixed with ratios of 1:1, 1:2, and 2:1. Antibacterial testing of the combination of extracts was tested using the disc diffusion method, and the combination effect was tested using the paper tape method. The results demonstrated that the beluntas and breadfruit leaf extracts had Minimum Bactericidal Concentration value of 12.5% and 6.25%. The three combinations of extracts produced a strong category inhibitory zone diameter with the highest diameter at a concentration ratio of 2:1, with an average diameter of the inhibition zone of 20.72 mm, while the ratios of 1:1 and 1:2 were only 17.78 and 18.15 mm, respectively. The combination effect of extracts is synergistic.</p>  <p>This is an open access article under the CC-BY-SA license.</p> |

Pendahuluan

Indonesia merupakan negara kepulauan dengan iklim tropis dan udara yang lembab. Salah satu penyakit yang sering diderita masyarakat Indonesia adalah penyakit infeksi. Berdasarkan Survei Kesehatan Rumah Tangga tahun 2007, penyebab utama kematian di Indonesia antara lain 28,1% karena penyakit infeksi dan parasit; 18,9%

karena penyakit vaskuler; dan 15,7% karena penyakit pernapasan [1]. Salah satu bakteri penyebab infeksi terbanyak di dunia adalah *S. aureus* yang merupakan flora normal tubuh manusia pada bagian kulit, mukosa, hidung, saluran pencernaan manusia, dll. Bakteri tersebut dapat ditemukan di tanah, air, udara, makanan, serta di lingkungan sekitar [2]. Bakteri *S. aureus* berperan dalam terjadinya banyak penyakit infeksi

seperti dermatitis, mastitis, infeksi saluran pernafasan, abses, sindrom syok toksik, infeksi nosokomial, serta keracunan makanan dengan gejala seperti muntah, mual, dan diare [3]. Penggunaan antibiotik yang irasional dapat menyebabkan efek samping serta resistensi jangka panjang, pengobatan tidak efektif, memperpanjang durasi penyakit, serta meningkatkan kematian [4]. Berdasarkan uraian di atas, diperlukan alternatif pengobatan dengan memanfaatkan bahan yang berasal dari alam. Indonesia merupakan salah satu negara dengan kekayaan alam yang melimpah. Kesadaran masyarakat dalam penggunaan bahan herbal semakin meningkat karena anggapan bahwa penggunaan bahan herbal dalam kesehatan lebih aman dibandingkan obat-obatan dari bahan kimia yang memiliki efek samping lebih tinggi. Tanaman obat di Indonesia berpotensi sebagai bahan baku obat karena mengandung berbagai jenis senyawa kimia alami dengan efek farmakologis dan bioaktivitas yang beragam. Tanaman beluntas (*P. indica*) dan tanaman sukun (*A. altilis*) memiliki senyawa yang berpotensi sebagai antibakteri antara lain saponin, flavonoid, tanin, dan alkaloid [5], [6]. Berdasarkan beberapa penelitian, ekstrak etanol daun beluntas telah terbukti memiliki aktivitas terhadap bakteri *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis* [7], *S. pyogenes* [5], *P. acne* [8], dll. Ekstrak daun sukun mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli*, *S. aureus*, *S. epidermidis* [9], dll. Antibakteri yang digunakan bersamaan akan saling mempengaruhi kerja dari masing-masing antibakteri. Beberapa ekstrak tanaman yang disatukan akan memiliki aktivitas antibakteri yang lebih besar dibandingkan dengan ekstrak tanaman tunggal. Meskipun kajian antibakteri ekstrak daun beluntas dan daun sukun telah banyak dilakukan, namun kombinasi keduanya belum dibuktikan secara ilmiah. Berdasarkan uraian di atas, peneliti tertarik untuk mengkombinasikan kedua ekstrak etanol dari daun beluntas dan daun sukun lalu dilakukan pengujian pengaruh kombinasi terhadap bakteri *S. aureus* ATCC 25923.

Metode

1. Alat dan bahan

Alat yang digunakan antara lain oven simplisia (*Getra*), Erlenmeyer (*Pyrex*), beaker glass (*Pyrex*), gelas ukur (*Pyrex*), tabung reaksi (*Pyrex*), water bath (*Memmert*), rotary evaporator (*Biobase*), moisture balance (Ohaus), sterling bidwell, inkubator (*Memmert*), vortex (*Vortex Mixer*), cawan petri (*Pyrex*), jarum ose, pinset.

Bahan yang digunakan antara lain daun beluntas, daun sukun, etanol 96%, *Dimetilsulfoksida* (DMSO) 10%, media *Brain Heart Infusion* (BHI), media *Muller Hinton Agar* (MHA), media *Nutrient Agar* (NA), media *Vogel Johnson Agar* (VJA), cakram disk, *tellurite* 1%, H_2O_2 3%, *StaphaurexTM Latex Agglutination Test*, kertas *whatman* no. 1, *vankomisin disk* 30 µg.

2. Jalannya Penelitian

2.1 Pembuatan serbuk simplisia

Daun beluntas dan sukun diambil dari Kabupaten Ngawi, Jawa timur. Sebanyak 4 kg masing-masing daun dikeringkan menggunakan oven simplisia pada suhu 50 °C, lalu diserbukkan menggunakan blender simplisia dan diayak dengan ayakan no. 60 sampai diperoleh derajat kehalusan yang homogen.

2.2 Penetapan kadar air simplisia

Sebanyak 20 gram masing-masing serbuk dimasukkan ke dalam labu alas bulat dan ditambahkan 200 ml toluen jenuh air, lalu dipanaskan hingga air tidak menetes lagi pada tabung berskala.

2.3 Pembuatan ekstrak

Sebanyak 500 gram serbuk dimasukkan wadah kaca tertutup lalu ditambahkan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1:10. Serbuk direndam selama 6 jam pertama sambil sesekali diaduk, lalu diamkan selama 18 jam. Hasil maserasi disaring dan dilakukan remaserasi pada residu menggunakan setengah kali jumlah pelarut pada maserasi pertama selama 24 jam. Semua filtrat dikumpulkan dan diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50 °C dengan kecepatan 60 rpm hingga diperoleh ekstrak kental.

2.4 Identifikasi golongan senyawa

Uji Flavonoid. Sebanyak 2 ml ekstrak ditambahkan 2 ml etanol 95% sampai terlarut, kemudian ditambahkan 0,5 g serbuk Mg, 2 ml HCl 2N, dan 1 ml amil alkohol. Larutan dikocok kuat-kuat dan didiamkan selama 1 menit, kemudian ditambahkan 2 ml HCl pekat. Hasil positif terbentuk warna merah jingga atau kuning pada lapisan amil alkohol.

Uji Alkaloid. Sebanyak 6 ml ekstrak ditambahkan 5 ml kloroform dan 5 ml larutan ammonia, lalu dipanaskan dan disaring. Ditambahkan 5 tetes H_2SO_4 2N, lalu dibagi menjadi 3 tabung reaksi dimana masing-masing ditambahkan 2 tetes reagen Dragendroff, Mayer, dan Bouchardat. Hasil positif yaitu terbentuk endapan jingga pada penambahan reagen Dragendroff, endapan putih atau kuning pada

penambahan reagen Mayer, dan endapan coklat sampai hitam pada penambahan reagen Bouchardat.

Uji Saponin. Sebanyak 2 ml ekstrak ditambahkan 10 ml aquadest panas lalu dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Hasil positif yaitu terbentuknya busa stabil setinggi 1-10 cm selama 10 menit atau lebih.

Uji Tanin. Sebanyak 2 ml ekstrak ditambah 2 ml aquadest panas, kemudian ditambahkan FeCl_3 1%. Hasil positif ditunjukkan dengan perubahan warna menjadi biru kehitaman.

Uji Steroid dan Triterpenoid. Sebanyak 0,5 g ekstrak dilarutkan dalam 0,5 ml kloroform dan 0,5 ml asam asetat anhidrat, lalu ditambahkan H_2SO_4 pekat melalui dinding tabung. Hasil positif triterpenoid yaitu terbentuk warna kecoklatan pada perbatasan larutan, sedangkan steroid terbentuk warna dari ungu ke biru atau hijau.

2.5 Identifikasi bakteri *S. aureus* ATCC 25923

Identifikasi bakteri pada media Vogel Johnson Agar (VJA) dengan menginokulasikan bakteri pada media VJA yang telah ditambahkan 3 tetes tellurite 1%. Hasil positif yaitu adanya koloni berwarna hitam dan media di sekitar koloni berwarna kuning. Pengamatan Gram menggunakan Gram A (Kristal Violet), Gram B (iodin), Gram C (etanol 96%), dan Gram D (Safranin). Uji katalase dilakukan dengan meneteskan 2-3 tetes H_2O_2 3% pada biakan bakteri. Hasil positif ditandai dengan timbulnya gelembung udara. Uji koagulase dilakukan dengan meneteskan 2-3 tetes reagen *Staphaurex* Latex Agglutination Test kit* pada 1 ose koloni bakteri lalu dihomogenkan.

2.6 Peremajaan dan pembuatan suspensi bakteri

Bakteri *S. aureus* ATCC 25923 diinokulasikan pada media NA miring untuk memperbanyak dan meremajakan bakteri. Suspensi bakteri dibuat dengan menginokulasikan 2-3 ose biakan bakteri pada media BHI lalu diencerkan dengan NaCl fisiologis steril 0,9% hingga kekeruhannya setara dengan standar McFarland No. 0,5 yaitu $1,5 \times 10^8$ CFU/ml.

2.7 Uji Dilusi

Disiapkan 10 tabung reaksi steril. Tabung pertama adalah kontrol negatif berisi ekstrak konsentrasi 100%. Tabung kesepuluh adalah kontrol positif berisi suspensi bakteri. Tabung ketiga sampai kesembilan ditambahkan 1 ml media BHI untuk pengenceran seri konsentrasi 100; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,12; 1,56; dan 0,78%. Ekstrak dari tabung kedua diambil 1 ml dan dimasukkan tabung ketiga, lalu dari tabung ketiga diambil 1 ml dimasukkan tabung keempat dan begitu seterusnya

sampai tabung kesembilan, lalu dari tabung kesembilan dibuang 1 ml. Sebanyak 1 ml suspensi bakteri dimasukkan tabung reaksi kedua sampai kesembilan, lalu dihomogenkan. Konsentrasi terkecil dari masing-masing ekstrak yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan bakteri ditetapkan sebagai KHM. Konsentrasi ekstrak yang berwarna jernih dikultur ulang pada media MSA tanpa penambahan mikroba uji maupun zat antibakteri. Konsentrasi terendah yang memperlihatkan tidak adanya pertumbuhan bakteri ditetapkan sebagai nilai KBM [10].

2.8 Uji difusi

Konsentrasi bunuh minimum dari kedua ekstrak dibuat kombinasi 1:1, 1:2, dan 2:1. Cakram disk ditetesi 20 μl sampel lalu ditempelkan pada permukaan media MHA yang telah digoreskan suspensi bakteri. Kontrol positifnya adalah vankomisin disk 30 μg dan kontrol negatifnya adalah DMSO 10%. Zona bening yang terbentuk di sekeliling cakram disk diukur diameternya menggunakan jangka sorong sebanyak tiga kali dari arah yang berbeda lalu dihitung rata-ratanya.

2.9 Uji pengaruh kombinasi metode pita kertas

Pita kertas dibuat dari kertas *whatman* no. 1 yang dipotong 0,5x4 cm. Larutan masing-masing ekstrak dimasukkan cawan petri steril sebanyak 50 μl , kemudian pita kertas direndam sampai semua permukaan terbasahi. Pita kertas ditempel ke media MHA dengan posisi tegak lurus (membentuk huruf L) dengan salah satu bagian ujung pita saling bersentuhan membentuk sudut 90°. Sifat interaksi diamati secara visual dengan melihat pola bening di sekeliling pita kertas. Efek sinergis ditunjukkan adanya penghubung antara dua zona hambatan. Efek aditif/indifferent ditunjukkan pola dua zona hambat masing-masing ekstrak yang berdiri sendiri. Efek antagonis ditunjukkan adanya pengecilan dua zona hambat [11].

Hasil dan Pembahasan

Pengeringan simplisia bertujuan mengurangi kandungan air dan menghentikan reaksi enzimatis, sehingga dapat menghambat pertumbuhan mikroba dan pembusukan [12]. Ciri daun yang telah kering ialah berwarna hijau kecoklatan, mudah diremas, dan mudah dipatahkan. Penyerbukan bertujuan untuk memperbesar luas permukaan simplisia, sehingga dapat meningkatkan kontak antara pelarut dan serbuk. Pengecilan ukuran partikel menyebabkan terjadinya

pemecahan dinding sel dan membran sel sehingga menyebabkan kerusakan dan mempermudah pelarut untuk menariknya [13].

Uji kadar air simplisia daun beluntas didapatkan hasil sebesar 8,16%, sedangkan daun sukun adalah 7,5%. Hasil tersebut masih memenuhi syarat yaitu tidak lebih dari 10% [14]. Penetapan kadar air bertujuan memberikan batasan maksimal besarnya kandungan air di dalam serbuk simplisia karena air merupakan media yang cocok untuk pertumbuhan jamur, kapang, dan mikroorganisme yang dapat memicu reaksi enzimatik, kontaminan, serta mempengaruhi kemurnian serbuk simplisia yang berdampak pada mutu, kualitas, dan khasiat [15].

Maserasi dilakukan menggunakan pelarut etanol 96%. Rendemen ekstrak daun beluntas dan daun sukun yang didapatkan sebesar 20,14% dan 9,92%. Kelebihan maserasi dapat mencegah kerusakan komponen kimia yang tidak tahan panas, sedangkan kelemahannya yaitu waktu ekstraksi yang lama, efisiensi ekstraksi yang rendah, dan membutuhkan pelarut yang banyak [16]. Proses perendaman menyebabkan kondisi hipertonic dimana konsentrasi larutan di luar sel lebih tinggi daripada konsentrasi di dalam sel. Keadaan tersebut menyebabkan cairan sel keluar dengan beremosmosis menembus membran sel [17].

Hasil identifikasi golongan senyawa masing-masing ekstrak disajikan pada tabel I.

Tabel I. Identifikasi golongan senyawa

| Golongan Senyawa | Hasil Identifikasi | |
|------------------|--------------------|---------------|
| | Ekstrak Beluntas | Ekstrak Sukun |
| Flavonoid | + | + |
| Alkaloid | + | + |
| Tanin | + | + |
| Saponin | + | + |
| Triterpenoid | + | - |
| Steroid | - | - |

Keterangan : (+) Mengandung senyawa kimia; (-) Tidak mengandung senyawa kimia

Uji flavonoid positif yaitu terbentuknya warna jingga kemerahan pada ekstrak daun beluntas dan warna kuning pada ekstrak daun sukun. Pemanasan dilakukan karena sebagian besar golongan flavonoid dapat terlarut dalam air panas. Penambahan HCl pekat menghidrolisis flavonoid menjadi aglikon yaitu dengan menghidrolisis O-glikosil. Serbuk logam Mg dan HCl pekat dapat mereduksi flavonoid menghasilkan senyawa kompleks berwarna merah, kuning, atau jingga [18]. Uji alkaloid dilakukan dengan menambahkan asam sulfat untuk melarutkan alkaloid dengan membentuk garam alkaloid.

Kloroform berfungsi melarutkan garam alkaloid dan ammonia akan mengendapkan alkaloid [19]. Pereaksi Dragendorff mengandung bismut nitrat dan kalium iodida dalam larutan asam asetat glasial (kalium tetraiodobismutat (III)). Hasil positif memberikan endapan coklat orange atau jingga karena adanya interaksi antara senyawa alkaloid dengan ion tetraiodobismutat (III) [20]. Pereaksi Mayer memiliki mekanisme interaksi antara nitrogen pada alkaloid dengan ion logam K⁺ dari kalium tetraiodomerkurat (II) membentuk kompleks yang mengendap. Ion merkuri mampu mengendapkan senyawa alkaloid yang bersifat basa karena merupakan ion logam berat [21]. Pereaksi Bouchardat mengandung kalium iodide dan iod yang memberikan hasil positif berupa endapan warna coklat karena adanya ikatan kovalen koordinasi antara ion logam K⁺ dengan alkaloid sehingga dapat terbentuk endapan kompleks kalium-alkaloid [20].

Uji saponin menghasilkan busa karena adanya senyawa glikosida yang mampu membentuk busa di dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya [22]. Uji tanin positif dengan terbentuknya warna biru kehitaman karena pembentukan senyawa kompleks antara gugus hidroksil pada senyawa tanin dengan FeCl₃ [23]. Uji steroid dan triterpenoid dengan pereaksi *Liebermann-Burchard*. Hasil positif steroid yaitu terbentuknya cincin berwarna biru kehijauan dan hasil positif triterpenoid yaitu cincin berwarna kecoklatan. Penambahan asam asetat anhidrat bertujuan membentuk turunan asetil, dan tujuan penambahan H₂SO₄ menghidrolisis air yang bereaksi dengan turunan asetil membentuk larutan warna [22].

Hasil identifikasi bakteri pada media VJA menghasilkan warna kekuningan pada media di sekitar koloni karena kemampuan *S. aureus* dalam memfermentasikan manitol menjadi asam laktat dan adanya *phenol red* sebagai indikator pH asam, sedangkan warna hitam pada koloni disebabkan oleh bakteri *S. aureus* yang dapat mereduksi kalium *tellurite* menjadi *metallic tellurium* [24].

Pewarnaan Gram bertujuan membedakan bakteri berdasarkan sifat Gram [25]. Larutan kristal violet berfungsi memberikan warna ungu pada sel bakteri, larutan iodin berfungsi memperkuat pengikatan warna oleh bakteri, larutan alkohol berfungsi membilas larutan zat warna primer, larutan safranin berfungsi memberikan warna merah pada sel bakteri, serta larutan akuades berfungsi membilas atau mencuci kristal violet, iodin, dan safranin. Hasil pewarnaan

Gram menunjukkan jenis bakteri Gram positif dengan ciri morfologi sel berwarna ungu, berbentuk bulat/*coccus*, dan susunannya bergerombol seperti anggur. Bakteri Gram positif memiliki lapisan peptidoglikan lebih tebal dengan susunan kompak sehingga mampu mengikat dan mempertahankan Kristal violet, sedangkan bakteri Gram negatif tersusun atas lipid dengan pori-pori yang mudah membesar sehingga kristal violet mudah larut saat pencucian alkohol dan akan menyerap zat pewarna safranin sehingga warna sel menjadi merah [25].

Uji katalase bertujuan membedakan spesies *Staphylococcus sp.* dengan *Streptococcus sp.* Hasil positif yaitu terbentuk gelembung udara atau buih setelah penetasan H₂O₂ 3% karena bakteri *S. aureus* menghasilkan enzim katalase yang dapat menguraikan hidrogen peroksida menjadi H₂O dan O₂. Hidrogen peroksida terbentuk saat metabolisme aerob dan akan bersifat toksik terhadap sel karena dapat menginaktifkan enzim dalam sel sehingga harus diuraikan [26]. Uji koagulase bertujuan membedakan spesies bakteri *S. aureus* dengan spesies *Staphylococcus* yang lain. Hasilnya positif ditandai dengan terbentuknya gumpalan putih setelah penetasan reagen karena reaksi antara enzim koagulase bakteri dengan fibrinogen dan atau protein A dengan IgG. Protein A pada permukaan *S. aureus* dapat berikatan dengan Fc IgG membentuk antiopsonin atau gumpalan yang berefek antifagosit kuat. Enzim koagulase akan mengubah fibrinogen menjadi fibrin lalu gumpalan fibrin akan terakumulasi di sekitar permukaan bakteri untuk menghambat fagositosis [27].

Pengujian dilusi bertujuan mengetahui potensi antibakteri dari ekstrak daun beluntas dan daun sukun terhadap bakteri *S. aureus* ATCC 25923. Penetapan KHM dilakukan dengan membuat delapan seri konsentrasi yaitu 100; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,12; 1,56; dan 0,78% menggunakan pengenceran bertingkat perbandingan 1:2 (w/v). Larutan konsentrasi yang masih setara atau lebih keruh dari kontrol positif berarti masih terdapat pertumbuhan bakteri di dalamnya, sedangkan larutan konsentrasi yang sudah lebih jernih dari kontrol positif berarti pertumbuhan bakteri sudah mulai terhambat [28]. Nilai KHM tidak dapat ditentukan karena kedua ekstrak berwarna gelap yaitu kuning hingga hijau kehitaman. Konsentrasi ekstrak berbanding lurus dengan daya hambat terhadap bakteri dimana semakin tinggi konsentrasi maka semakin tinggi pula kandungan senyawa antibakterinya, sehingga menghasilkan aktivitas antibakteri yang besar pula

[29]. Penetapan KBM dilakukan pada semua konsentrasi ekstrak. Hasil penentuan KBM ekstrak daun beluntas dan daun sukun berturut-turut adalah 12,5% dan 6,25%, dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil Penentuan KBM

| Parameter | Hasil KBM | |
|-------------|-----------------------|--------------------|
| | Ekstrak Daun Beluntas | Ekstrak Daun Sukun |
| Kontrol (-) | - | - |
| 100% | - | - |
| 50% | - | - |
| 25% | - | - |
| 12,5% | - | - |
| 6,25% | + | - |
| 3,12% | + | + |
| 1,56% | + | + |
| 0,78% | + | + |
| Kontrol (+) | + | + |

Keterangan : (-) Tidak terdapat pertumbuhan bakteri; (+) Terdapat pertumbuhan bakteri

Prinsip metode difusi cakram yaitu kertas cakram yang telah diisi sampel uji ditempelkan pada media agar yang telah diinokulasikan bakteri uji lalu diinkubasi. Ekstrak etanol daun beluntas dan daun sukun dikombinasikan dengan perbandingan konsentrasi yaitu 1:1 (EDB 12,5% dan EDS 6,25%), 1:2 (EDB 12,5% dan EDS 12,5%), serta 2:1 (EDB 25% dan EDS 6,25%). Kombinasi tersebut dianalogikan berdasarkan pengobatan yang memerlukan kombinasi obat dimana potensi setiap obat bisa berbeda-beda dalam dosis satu kali pemakaian. Kombinasi 1:1 adalah perbandingan konsentrasi efektif ekstrak daun beluntas dan daun sukun. Kombinasi 1:2 adalah perbandingan satu kali konsentrasi efektif ekstrak daun beluntas dan dua kali konsentrasi efektif ekstrak daun sukun. Kombinasi 2:1 adalah perbandingan dua kali konsentrasi efektif ekstrak daun beluntas dan satu kali konsentrasi efektif ekstrak daun sukun. Berdasarkan hasil, kombinasi 2:1 merupakan kombinasi paling efektif karena memiliki diameter zona hambat terbesar dan berbeda signifikan dengan kombinasi lainnya. Hasil penelitian disajikan pada Tabel 3. Uji pengaruh kombinasi bertujuan mengetahui sifat interaksi antara kedua ekstrak apabila dikombinasikan dengan konsentrasi tertentu. Prinsip metode difusi agar dengan pita kertas yaitu zat antibakteri akan berdifusi dari pita kertas (konsentrasi tinggi) menuju medium padat (konsentrasi rendah), sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri yang ditunjukkan dengan terbentuknya daerah bening di sekitar pita [12].

Tabel 2. Hasil Penentuan KBM

| | Diameter (mm) | | | Rata-rata ± SD |
|-----------------------|---------------|-------|-------|----------------|
| | I | II | III | |
| Kontrol (-) | 0 | 0 | 0 | 0 ± 0,00 |
| Kontrol (+) | 20,77 | 20,56 | 20,60 | 20,64 ± 0,11 |
| Ekstrak daun beluntas | 18,25 | 17,26 | 17,01 | 17,50 ± 0,65 |
| Ekstrak daun sukun | 13,52 | 12,80 | 13,88 | 13,40 ± 0,54 |
| EDB:EDS (1:1) | 18,04 | 18,17 | 17,15 | 17,78 ± 0,68 |
| EDB:EDS (1:2) | 17,92 | 18,49 | 18,04 | 18,15 ± 0,30 |
| EDB:EDS (2:1) | 20,69 | 20,84 | 20,63 | 20,72 ± 0,06 |

Keterangan :

Kontrol (-) : DMSO 10%

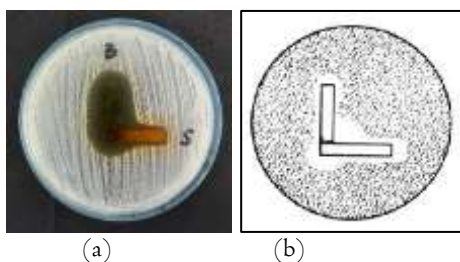
Kontrol (+): Vankomisin 30 µg

EDB:EDS (1:1) : Ekstrak Daun Beluntas 12,5% : Ekstrak Daun Sukun 6,25%

EDB:EDS (1:2) : Ekstrak Daun Beluntas 12,5% : Ekstrak Daun Sukun 12,5%

EDB:EDS (2:1) : Ekstrak Daun Beluntas 25% : Ekstrak Daun Sukun 6,25%

Konsentrasi yang digunakan adalah 2:1 (EDB 25%:EDS 6,25%), karena merupakan kombinasi paling efektif. Hasil menunjukkan efek sinergis ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening yang melebar di pertemuan kedua pita kertas yang bertemu dan terdapat perubahan diameter hambat apabila dibandingkan dengan diameter hambat pada sisi pita kertas yang tidak bertemu. Hasil disajikan pada gambar 1.



Gambar 1. Hasil uji pengaruh kombinasi (Sumber : (b) Pillai *et al.*, 2005).

Flavonoid sebagai antibakteri memiliki mekanisme menghambat sintesis dinding sel dan menghambat fungsi membran sel. Flavonoid dan tanin dapat mengganggu pembentukan dinding sel pada sintesis peptidoglikan sehingga dinding sel yang terbentuk tidak sempurna. Saponin dapat mempengaruhi permeabilitas membran sel sehingga menurunkan tegangan permukaan yang mengakibatkan kebocoran sel sehingga cairan intraseluler keluar. Triterpenoid dan steroid dapat

menimbulkan kerusakan pada membran sel dengan meningkatkan permeabilitasnya [30]. Alkaloid dapat menghambat bakteri dengan mengganggu proses sintesis dinding sel pada komponen penyusun peptidoglikan sehingga lapisan sel yang terbentuk tidak utuh dan sel bakteri akan mati [31].

Simpulan dan Saran

Ekstrak etanol daun beluntas (*P. indica*) dan daun sukun (*A. altilis*) masing-masing memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* ATCC 25923 dengan nilai KBM sebesar 12,5% dan 6,25%. Kombinasi kedua ekstrak yang paling efektif adalah perbandingan 2:1 (EDB 25%:EDS 6,25%) dengan diameter zona hambat sebesar 20,72 mm dan memiliki pengaruh/efek kombinasi yang sinergis.

Daftar Pustaka

- [1] Mutsaqof, N., Aniq, A., Suryani, E., dan Kom, S. S. M. (2015). Sistem Pakar untuk Mendiagnosis Penyakit Infeksi Menggunakan Forward Chaining, *Jurnal Itsmart*, 4(1), 43-47.
- [2] Agustin, B. A., Puspawaty, N., dan Rukmana, R. M. (2018). Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Etanolik Daun Beluntas (*P. indica* Less.) dan Meniran (*P. niruri* L.) terhadap Bakteri *S.aureus*, *Biomedika*, 11(2), 79-87.
- [3] Wikananda (2019). Efek Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Batang Tanaman Cempaka Kuning (*M. champaca* L.) terhadap Pertumbuhan *S. aureus*, *Jurnal Medika*, 8(5), 2597-8012.
- [4] Wahid, H. (2020). Identifikasi Extended Spectrum Beta Laktamase (ESBL) Antibiotika Golongan Sefalosporin pada Bakteri *A. baumannii*, *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 2(4), 379–384.
- [5] Gayatri, D. A. A. M., Ernawati, D. K., dan Widhiartini, I. A. A. (2021). Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Beluntas (*P. Indica*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *S. pyogenes* ATCC 19615 Secara In Vitro, *E-Jurnal Medika Udayana*, 10(1), 7-12.
- [6] Fiana, F. M., Kiromah, N. Z. W., dan Purwanti, E. (2020). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sukun (*A. altilis*) terhadap Bakteri *S. aureus* dan *E. coli*, *Pharmacon: Jurnal Farmasi Indonesia*, 10-

- 20.
- [7] Manu, R. R. S. (2013). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Beluntas (*P. indica* L.) terhadap *S. aureus*, *B. subtilis* dan *P. aeruginosa*, *Calyptra*, 2(1), 1-10.
- [8] Hafsari, A. R., Cahyanto, T., Sujarwo, T., dan Lestari, R. I. (2015). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Beluntas (*P. indica* (L.) less.) terhadap *P. acnes* Penyebab Jerawat, *Jurnal Istek*, 9(1), 141-161.
- [9] Sitiatava, R. (2017). Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Sukun (*A. altilis*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *S. Epidermidis*, *War. Farm*, 6, 90–99.
- [10] Rodríguez-Melcón, C., Alonso-Calleja C., García-Fernández C., Carballo J., dan Capita R. (2021). Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) for Twelve Antimicrobials (Biocides and Antibiotics) in Eight Strains of *Listeria monocytogenes*, *Biology (Basel)*, 11(1), 46.
- [11] Pillai, S. K., R. C. Moellering, dan G. M. Eliopoulos. (2005). *Antibiotics in laboratory medicine*. 5th edition. Williams & Willrins: Baltimore.
- [12] Taurina, W. dan Andrie, M. (2022). Standardization of *Simplicia Golden Sea Cucumber (S. hermannii)* from Pelapis Island, West Kalimantan, *Majalah Obat Tradisional*, 27(2), 146-152.
- [13] Nwabanne, J. T. (2012). Kinetics and Thermodynamics Study of Oil Extraction from Fluted Pumpkin Seed, *International Journal of Mutridisciplinarty Sciences and Engginering*, 3(6), 11-15.
- [14] Depkes RI. 2017. *Farmakope Herba Indonesia*. Depkes RI: Jakarta.
- [15] Fadel, M. N., Setyowati, E., Trinovitawati, Y., dan Sabaan, W. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Obat Kumur Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*A. bilimbi* L.) terhadap Bakteri *S. mutans* Penyebab Karies Gigi, *CERATA Jurnal Ilmu Farmasi*, 12(1), 10-19.
- [16] Zhang, Q. W., Lin, L. G., dan Ye, W. C. (2018). Techniques For Extraction and Isolation of Natural Products: A Comprehensive Review, *Chinese medicine*, 13, 1-26.
- [17] Al-Alawy, A.F., Omran II, dan Makki, H. F. (2015). Forward Osmosis Process as an Alternative Method for the Biological Treatment of Wastewater from the Al-Za'afaraniya Tanning Factory, *The International Journal Of Science & Technoledge*, 3(1), 159.
- [18] Ikalinus, R., Widayastuti, S. K., dan Setiasih, N. L. E. (2015). Skrining fitokimia ekstrak etanol kulit batang kelor (*M. oleifera*), *Indonesia Medicus Veterinus*, 4(1), 71-79.
- [19] Harbourne, J. (1996). *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Penerbit ITB: Bandung.
- [20] Svehla, G. (1990). *Analisis Anorganik Kualitatif Makro dan Semimikro, Edisi kelima*. Media Pusaka: Jakarta.
- [21] Altemimi, A., Lakhssassi, N., Baharlouei, A., Watson, D. G., dan Lightfoot, D. A. (2017). Phytochemicals: Extraction, Isolation, and Identification of Bioactive Compounds From Plant Extracts, *Plants*, 6(4), 42-46.
- [22] Meigaria, K. M., Mudianta, I. W., dan Martiningsih, N. W. (2016). Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Aseton Daun Kelor (*M. oleifera*), *Wahana Matematika dan Sains: Jurnal Matematika, Sains, dan Pembelajarannya*, 10(2), 1-11.
- [23] Sangi, M., M.R.J. Runtuwene., H.E.I. Simbala., V.M.A. Makang. (2008). Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat di kabupaten Minahasa Utara, *Chem. Prog*, 1(1), 47-53.
- [24] Moraes, G. F. Q., Cordeiro, L. V., dan de Andrade Junior, F. P. (2021). Main laboratory methods used for the isolation and identification of *S. spp*, *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*, 50(1), 5-28.
- [25] Purwaningsih, D. dan Wulandari, D. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Hasil Fermentasi Bakteri Endofit Umbi Talas (*C. esculenta* L) terhadap Bakteri *P. aeruginosa*, *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 3(5), 750–759.
- [26] Jawetz, E., Melnick, J. L., dan Adelberg E. A. (2005). *Mikrobiologi Kedokteran*. Salemba Medika: Surabaya.
- [27] Madigan, M. T., Martinko J. M., Dunlap P. V., dan Clark D. P. (2008). *Biology of Microorganisms 12th edition*. Pearson: San Francisco.

- [28] Soelama, H. J., Kepel, B. J., dan Siagian, K. V. (2015). Minimum inhibitory concentration (MIC) test of seaweed extract (*E. cottonii*) as an antibacterial against *S. mutans*, *e-GiGi*, 3(2), 374-379.
- [29] Warokka, K. E., Wuisan, J., dan Juliatri. (2016). Uji konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak daun binahong (*A. cordifolia* Steenis) sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan *S. mutans*, *Jurnal e-GiGi*, 4(2), 155-159.
- [30] Wahyuni, W. dan Karim, S. F. (2020). Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kacapiring (*G. jasminoides* Ellis) terhadap bakteri *S. mutans*, *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 2(4), 399-404.
- [31] Maftuhah, A., Bintari, S. H., dan Mustikaningtyas, D. (2016). Pengaruh Infusa Daun Beluntas (*P. indica*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *S. epidermidis*, *Unnes Journal of Life Science*, 4(1), 60–65.