

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAN FRAKSI
Archidendron clypearia TERHADAP *Staphylococcus aureus*
dan *Salmonella typhi***

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF ETANOL EXTRACT AND FRACTIONS OF
Archidendron clypearia OF *Staphylococcus aureus* and *Salmonella typhi***

Bella Micha Thesya Octaviani, Supomo*, Eka Siswanto Syamsul

Program Studi Sarjana Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Samarinda

*Email : fahmipomo@gmail.com

Abstract

Infection is one of the most common causes of disease in society. One type of infection caused by *Staphylococcus aureus* is a bacterium that causes skin infections in humans characterized by purulent abscesses. In addition, *Salmonella typhi* is also a pathogenic bacterium that can cause typhoid fever. Infections caused by microorganisms can be overcome by administering antimicrobials. One of the natural ingredients that has the potential as an antimicrobial is the petai belalang plant (*Archidendron clypearia*). This study aims to test the antibacterial activity of ethanol extracts and fractions of petai belalang leaves against *Staphylococcus aureus* and *Salmonella typhi* bacteria. This experimental research includes plants determination, sampling, making simplisia, fractionation, phytochemical screening, and antibacterial activity tests. Extracts and fractions were prepared in concentrations of 1%, 5%, 10%, and 15%, with positive control of amoxicillin 0.1% and negative control of DMSO 1%. The antibacterial activity test was performed using disc diffusion and pitting diffusion methods to measure the zone of inhibition. Data were statistically analyzed using the Kruskal-Wallis test. The results showed that in the disc diffusion method, the inhibition zone against *Staphylococcus aureus* was 7.3-10.8 mm, and against *Salmonella typhi* was 7.6-10.1 mm. In the well diffusion method, the zone of inhibition against *Staphylococcus aureus* ranged from 12.1-16.8 mm, and against *Salmonella typhi* it ranged from 12.5-16.8 mm. The ethyl acetate fraction obtained the largest inhibition zone with a diameter of 16.8 mm in the well diffusion method. Statistical analysis showed a significant difference in antibacterial activity on positive and negative bacteria with a substantial value of 0.005 in the disc method and 0.006 in the well method.

Keywords: Antibacterial, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, petai belalang

Abstrak

Infeksi merupakan salah satu penyebab penyakit yang sering terjadi di masyarakat. Salah satu jenis infeksi disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri penyebab infeksi kulit pada manusia yang ditandai dengan abses bernanah. Selain itu, *Salmonella typhi* juga merupakan bakteri patogen yang dapat menyebabkan demam tifoid. Infeksi akibat mikroorganisme dapat diatasi dengan pemberian antimikroba. Salah satu bahan alam yang berpotensi sebagai antimikroba adalah tumbuhan petai belalang (*Archidendron clypearia*). Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan fraksi daun

petai belalang terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*. Penelitian ini bersifat eksperimental dengan tahapan meliputi determinasi tumbuhan, pengambilan sampel, pembuatan simplisia, ekstraksi dan fraksinasi, skrining fitokimia, serta uji aktivitas antibakteri. Ekstrak dan fraksi dibuat dalam konsentrasi 1%, 5%, 10%, dan 15%, dengan kontrol positif amoksisilin 0,1% dan kontrol negatif DMSO 1%. Uji aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode difusi cakram dan difusi sumuran untuk mengukur zona hambat. Data dianalisis secara statistik menggunakan uji Kruskal-Wallis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada metode difusi cakram, zona hambat terhadap *Staphylococcus aureus* berada pada kisaran 7,3–10,8 mm, dan terhadap *Salmonella typhi* sebesar 7,6–10,1 mm. Pada metode difusi sumuran, zona hambat terhadap *Staphylococcus aureus* berkisar antara 12,1–16,8 mm, dan terhadap *Salmonella typhi* sebesar 12,5–16,8 mm. Zona hambat terbesar diperoleh dari fraksi etil asetat dengan diameter 16,8 mm pada metode difusi sumuran. Analisis statistik menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan terhadap aktivitas antibakteri pada bakteri positif dan negatif dengan nilai signifikan 0,005 pada metode cakram dan 0,006 pada metode sumuran.

Kata kunci: Antibakteri, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, petai belalang

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki kekayaan alam berupa sumber daya hutan yang sangat luas dengan segala potensi yang terkandung di dalamnya. Potensi ini antara lain berupa sumber daya alam hayati sebagai bahan pangan dan obat-obatan. Tumbuhan di Indonesia terdapat sekitar 30.000 jenis dan 7.000 diantaranya memiliki khasiat obat [1]. Masyarakat di Indonesia masih memanfaatkan tumbuhan berkhasiat obat sebagai obat tradisional, yang didukung dengan kekayaan keanekaragaman hayatinya dan potensi pengetahuan tradisional yang dimiliki [2].

Obat tradisional merupakan bahan ataupun ramuan bahan yang berupa bahan tumbuhan, bahan hewan, bahan mineral, sediaan sarian atau campuran dari bahan tersebut yang secara turun-temurun sudah dimanfaatkan sebagai pengobatan, dan dapat diterapkan sesuai dengan norma yang berlaku di masyarakat [3]. Salah satu pengobatan dari obat tradisional yaitu mengobati penyakit infeksi.

Infeksi merupakan suatu keadaan yang disebabkan oleh mikroorganisme patogen dengan atau tanpa disertai gejala klinik [4]. Infeksi dapat tersebar melalui media perantara, udara, makanan, droplet, darah, vektor dan lainnya [5]. Sementara itu, penyakit infeksi merupakan suatu keadaan ditemukan adanya agen penginfeksi yang disertai dengan adanya respon dan gejala klinik. Umumnya agen penginfeksi merupakan mikroorganisme patogen, seperti bakteri, virus, parasit atau jamur [6]. Salah satu penyebab umum infeksi yaitu disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*.

Bakteri *Staphylococcus aureus* adalah bakteri positif yang merupakan bakteri flora normal pada kulit dan selaput mukosa manusia [7]. *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan penyakit pada manusia karena memiliki kemampuan berkembang biak dan menyebar luas dalam jaringan tubuh, sehingga menghasilkan beberapa zat ekstraseluler penyebab penyakit. Penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus*, yaitu mulai dari infeksi minor di kulit

(furunkulosis dan impetigo), infeksi traktus urinarius, infeksi traktus respiratorius, hingga infeksi pada mata, dan *Central Nervous System* (CNS) [8]. Infeksi ini ditandai dengan kerusakan jaringan yang disertai dengan abses bernanah [9].

Infeksi bakteri lainnya yang juga menjadi masalah kesehatan masyarakat adalah akibat bakteri *Salmonella typhi*. Bakteri ini merupakan bakteri negatif yang menyebabkan demam tifoid. Demam tifoid atau tifus abdominalis banyak ditemukan dalam kehidupan masyarakat, baik di perkotaan maupun di pedesaan, penyakit ini sangat erat kaitannya dengan kualitas yang mendalam dari *higiene* pribadi dan sanitasi lingkungan seperti, *higiene* perorangan dan *higiene* penjamah makanan yang rendah, lingkungan yang kumuh, kebersihan tempat-tempat umum (rumah makan dan restoran) serta perilaku masyarakat yang tidak mendukung untuk hidup sehat [10]. Untuk mengatasi masalah penyebab infeksi ini biasanya menggunakan antibiotik.

Pemberian antibiotik merupakan salah satu alternatif dalam pengobatan infeksi, akan tetapi jika penggunaan antibiotik yang tidak rasional akan menjadi sebab utama penyebaran resistensi secara global, sehingga terjadi bakteri yang multiresisten terhadap sekelompok antibiotik [11]. Studi di Negara Eropa menunjukkan bahwa resistensi terhadap obat antibiotik meningkat berbanding lurus dengan jumlah peningkatan konsumsinya, ini terjadi dikarenakan penggunaan antibiotik yang tidak rasional dan pendidikan masyarakat yang tidak memadai [12]. Oleh sebab itu, untuk menghindari resistensi antibiotik yang terbuat dari bahan kimia dibutuhkan pengembangan lebih lanjut mengenai antibiotik yang berasal dari bahan alam

yang hanya memiliki efek samping yang lebih rendah dari dari pemakaian antibiotik sintetis.

Salah satu tumbuhan yang digunakan untuk pengobatan yang ditemui di alam adalah tumbuhan petai belalang (*Archidendron clypearia*). Tumbuhan ini secara empiris telah digunakan sebagai detoksifikasi, dan pengurangan edema. Selain itu, tumbuhan petai belalang dilaporkan memiliki efek antiinflamasi, antioksidan, antidiabetes, dan antibakteri [13]. Penggunaan tumbuhan petai belalang dalam penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi tumbuhan sebagai antibakteri, karena penelitian terkait petai belalang tidak banyak dilaporkan. Salah satu senyawa yang terkandung dalam tumbuhan ini adalah polifenol yang telah terbukti secara umum memiliki efek antibakteri. Mekanisme antibakteri polifenol mencakup gangguan dinding sel, perubahan permeabilitas membran sel, perubahan metabolisme sel, dan gangguan sintesis DNA [14].

Penelitian Ji *et al.* (2023) menyebutkan bahwa petai belalang (*Archidendron clypearia*) kaya akan kandungan senyawa polifenol. Hasil penelitian menyatakan bahwa senyawa flavonoid dan asam organik mempengaruhi bakteri dengan cara mengganggu dinding sel bakteri, menghambat sintesis protein utama bakteri, dan mengganggu replikasi DNA bakteri [15]. Dalam penelitian sebelumnya, molekul flavonon merupakan molekul yang paling besar mempengaruhi aktivitas bakteri, lebih kuat dari molekul asam organik, yang mungkin mengindikasikan bahwa molekul flavonon yang besar memiliki kecocokan yang lebih tinggi dengan enzim yang berhubungan dengan bakteri.

Pada penelitian Ji *et al.* (2023) melaporkan bahwa ekstrak etanol dan ekstrak etilasetat daun petai belalang memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dengan penghambatan tinggi, dengan nilai MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) 0,2 mg/mL. Oleh karena itu, petai belalang sebagai tanaman obat untuk berbagai penyakit memiliki potensi untuk menjadi obat modern. Saat ini penggunaan tanaman petai belalang sebagai tanaman obat masih sangat minim laporannya terutama di Kalimantan.

Efektivitas ekstraksi suatu senyawa oleh pelarut tergantung pada kelarutan senyawa tersebut dalam pelarut, sesuai dengan prinsip *like dissolve like* yaitu suatu senyawa akan terlarut pada pelarut dengan sifat yang sama [16]. Tujuan ekstraksi pada penelitian ini adalah untuk menarik komponen kimia yang terdapat pada bahan alam. Bahan-bahan aktif seperti senyawa antibakteri dan antioksidan yang terdapat pada tumbuhan yang pada umumnya diekstrak dengan pelarut. Pemilihan metode yang digunakan ini adalah untuk memperhatikan senyawa serta pelarut yang digunakan.

Berdasarkan uraian tersebut maka dilakukannya penelitian terhadap ekstrak etanol daun petai belalang menggunakan metode ekstraksi dan fraksinasi berdasarkan tingkat kepolaran yang berbeda menggunakan pelarut organik. Pemilihan pelarut organik ini dimaksudkan agar senyawa-senyawa yang memiliki kepolaran yang berbeda dapat terekstrak ke dalam pelarut yang sesuai, dalam proses ini terdapat dua lapisan yang tidak saling bercampur. Lapisan yang bersifat polar (fase air) mengekstrak komponen gula (glikon) sedangkan pelarut semi polar

maupun non polar (fase organik) mengekstrak metabolit sekunder (aglikon) [17]. Oleh karena itu, perlu dilakukan fraksinasi untuk mendapatkan hasil senyawa yang lebih spesifik berdasarkan tingkat kepolarannya.

METODE PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan meliputi autoklaf, ayakan mesh 60, beaker glass, blender, cawan petri, cawan porselen, cotton bud, cork borer, corong pisah, erlenmeyer, gelas ukur, jarum ose, kertas saring, Laminar Air Flow (LAF), tabung eppendorf, lampu spiritus, magnetic stirrer, mikropipet, penggaris, pipet tetes, rak tabung reaksi, tabung reaksi, tiang statif dan klem, vortex, hot plate, sendok tanduk, batang pengaduk, pinset, rotary evaporator, spatel, inkubator, timbangan analitik, waterbath, dan yellow tip.

Bahan

Bahan yang digunakan terdiri dari daun petai belalang (*Archidendron clypearia*), biakan *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*, kertas cakram, etanol 70%, n-heksan, etil asetat, DMSO 1%, serbuk amoksisilin, media nutrient agar, aquadest, serta berbagai pereaksi untuk skrining fitokimia seperti Mayer, Bouchardat, FeCl_3 , HCl, Mg, amil alkohol, BaCl_2 , H_2SO_4 , dan kloroform.

Prosedur

Pengumpulan Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini ialah daun petai belalang (*Archidendron clypearia*) yang diperoleh dari Kawasan Hutan Dengan Tujuan Khusus (KDKT), Kecamatan Samboja Barat, Kabupaten Kutai Kartanegara, Kalimantan Timur.

Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan untuk mengetahui kebenaran dari sampel. Determinasi dilakukan di Herbarium Wanariset (WAN), Balai Penerapan Standar Instrumen Lingkungan Hidup dan Kehutanan Samboja.

Pembuatan Simplisia

Sampel daun petai belalang disortasi basah dengan dipisahkan batang dan daun yang rusak, kemudian dicuci dengan air mengalir. Sampel dikeringkan dengan cara kering angin, daun yang sudah kering kemudian disortasi kering untuk menghilangkan partikel atau kotoran yang menempel pada saat pengeringan. Simplisia kering diblender sampai menjadi serbuk, selanjutnya dilakukan pengayakan dengan mesh 60 untuk menghasilkan serbuk kasar.

Pembuatan Ekstrak

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan metode maserasi. Serbuk simplisia daun petai belalang sebanyak 200 g dimasukkan kedalam maserator, lalu ditambahkan etanol sebanyak 2 liter dan direndam selama 22 jam hingga tersari lalu disaring. Kemudian lakukan remaserasi dengan pelarut yang sama dan disaring kembali, lalu diuapkan dengan *rotary evaporator* sampai mendapat ekstrak kental dan dihitung persentase rendemen [18].

Fraksinasi

Sebanyak 5 gram ekstrak etanol tumbuhan petai belalang dipartisi menggunakan aquades dan n-heksan dengan perbandingan 1:1 v/v. Sampel dikocok berulang kali dalam corong pisah hingga homogen dan dibiarkan hingga terbentuk lapisan air dan lapisan n-heksan. Lapisan n-heksan ditampung

dalam wadah yang berbeda. Lapisan n-heksan selanjutnya ditangas di atas *waterbath* hingga kental dan diperoleh fraksi n-heksan. Lapisan air dipartisi kembali menggunakan etilasetat dengan perbandingan 1:1 v/v, setelah itu dikocok dalam corong pisah hingga homogen, didiamkan hingga terbentuk dua lapisan yaitu lapisan air dan lapisan etilasetat. Masing-masing lapisan ditampung ke dalam wadah yang berbeda, ditangas sampai kental dan diperoleh fraksi etilasetat dan sisa [19].

Skrining Fitokimia

1. Uji Senyawa Alkaloid

Serbuk simplisia ditimbang sebanyak 0,5 gram ditambahkan 1 ml asam klorida 2 N dan 9 mL air suling, dipanaskan di atas tangas air selama 2 menit, didinginkan lalu disaring. Filtrat yang diperoleh digunakan untuk uji dengan pereaksi Mayer, Dragendorff dan Bouchardat. Apabila 2 dari 3 uji tersebut positif, maka sampel dinyatakan mengandung alkaloid [20].

2. Uji Senyawa Fenolik

Larutan ekstrak sebanyak 10 tetes dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 3 tetes pereaksi FeCl_3 5 %. Apabila terbentuk warna ungu kehitaman menunjukkan adanya senyawa fenol [21].

3. Uji Senyawa Flavonoid

Larutan ekstrak sebanyak 5 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 0,1 gram serbuk magnesium, 1 ml asam klorida pekat, dan 2 mL amil alkohol, dikocok dan dibiarkan hingga memisah. Apabila terbentuk endapan warna merah, kuning, jingga pada lapisan amil alkohol, menunjukkan adanya senyawa flavonoid [20].

4. Uji Senyawa Saponin

Ekstrak sebanyak 0,5 g dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 10 ml air panas, kocok selama ± 1 menit. Apabila terbentuk busa yang stabil tidak kurang dari 10 menit setinggi 1-10 cm, dan pada saat penambahan 1 tetes HCl 2N buih tidak hilang, maka menunjukkan adanya senyawa saponin [22].

5. Uji Senyawa Steroid-Terpenoid

Larutan ekstrak sebanyak 2 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian dilarutkan dengan 2 ml kloroform, lalu ditambahkan 10 tetes asetat anhidrida dan 3 tetes H₂SO₄ pekat. Apabila terbentuk larutan berwarna merah menunjukkan hasil uji reaksi positif terpenoid, namun apabila terbentuk warna hijau menunjukkan hasil uji reaksi positif steroid [23].

Pengujian Antibakteri

1. Pembuatan Kontrol Positif dan Kontrol Negatif

a. Kontrol Positif (Amoxicillin 0,1%)

Timbang serbuk Amoxicillin 0,01 gram. Berat serbuk hasil yang didapat kemudian dilarutkan dalam DMSO 1% hingga 10 ml kocok sampai homogen.

b. Kontrol Negatif (DMSO 1%)

DMSO yang dibuat dengan konsentrasi 1%, yaitu dengan cara diambil 1 mL DMSO murni, kemudian diencerkan dengan air suling 99 mL lalu diaduk hingga homogen. Larutan DMSO 1% dalam pengenceran ini adalah sebanyak 100 mL.

2. Pembuatan Seri Konsentrasi Ekstrak dan Fraksi

a. Konsentrasi 1% : Ditimbang 0,01 gram fraksi di dalam tabung

effendorf, kemudian dilarutkan dengan DMSO 1% ad 1 ml.

b. Konsentrasi 5% : Ditimbang 0,05 gram fraksi di dalam tabung *effendorf*, kemudian dilarutkan dengan DMSO 1% ad 1 ml.

c. Konsentrasi 10% : Ditimbang 0,1 gram fraksi didalam tabung *effendorf*, kemudian dilarutkan dengan DMSO 1% ad 1 ml.

d. Konsentrasi 15% : Ditimbang 0,15 gram fraksi didalam tabung *effendorf*, kemudian dilarutkan dengan DMSO 1% ad 1 ml.

3. Sterilisasi Alat

Alat-alat gelas dan cawan petri yang digunakan dalam penelitian aktivitas mikroba ini disterilkan terlebih dahulu dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, pinset dan jarum ose dibakar dengan pembakaran di atas api langsung [19].

4. Pembuatan Media

a. Pembuatan Media NA

Media Nutrient Agar (NA) ditimbang sebanyak 28 gram. Selanjutnya dilarutkan dengan aquades sebanyak 1000 mL dalam labu erlenmeyer. Media disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

b. Pembuatan Media Agar Miring

Media NA dituang sebanyak 5 mL ke dalam tabung reaksi, didiamkan pada suhu kamar sampai sediaan memadat pada posisi miring 45° selama 10 menit [19].

5. Peremajaan Bakteri

Biakan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* diswabkan ke dalam media agar miring menggunakan jarum ose steril. Diinkubasi bakteri dalam inkubator

dengan suhu 37°C selama 1x24 jam [19].

6. Pembuatan Larutan Standar *Mc Farland*

a. Pembuatan Larutan BaCl₂ 1%

BaCl₂ ditimbang sebanyak 1 g. Kemudian dilarutkan ke dalam labu ukur 100 mL dengan air suling sampai tanda batas lalu homogenkan. Setelah itu pindahkan larutan ke dalam botol reagen yang tertutup rapat dan gelap.

b. Pembuatan Larutan H₂SO₄ 1%

Disiapkan labu ukur 100 mL yang sudah diisi air suling sebanyak 50 mL. Dipipet dengan hati-hati H₂SO₄ sebanyak 1,02 mL, dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL melalui dinding secara mengalir. Setelah itu ditambahkan air suling ke dalam labu ukur sampai tanda batas kemudian dihomogenkan. Setelah itu dipindahkan larutan ke dalam botol reagen yang tertutup rapat dan gelap.

c. Pembuatan Larutan *Mac. Farland*

Dipipet larutan BaCl₂ 1% sebanyak 0,05 mL, dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian dipipet juga larutan H₂SO₄ 1% sebanyak 9,95 mL. Alat yang digunakan adalah pipet volume. Dicampurkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi larutan BaCl₂ 1%, larutan ini dikocok sampai terbentuk larutan keruh. Kekeruhan ini akan dipakai sebagai standar kekeruhan suspensi bakteri uji.

7. Pembuatan Suspensi Mikroba Uji

Mikroba uji pada penelitian ini yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* yang telah di inokulasi diambil $\pm$ 1 ose kemudian disuspensikan ke dalam tabung yang berisi larutan NaCl 0,9% hingga diperoleh kekeruhan yang setara dengan standar kekeruhan larutan *Mac farland*.

8. Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksi n-heksan, etil asetat, dan fraksi air daun petai belalang dilakukan terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* menggunakan metode difusi cakram dan difusi sumuran. Media Nutrient Agar (NA) sebanyak 10 mL dituangkan ke dalam cawan petri dan dibiarkan memadat. Suspensi bakteri sebanyak 30 μ L dioleskan merata pada permukaan media menggunakan cotton bud steril, kemudian didiamkan selama 5–15 menit untuk memungkinkan absorpsi bakteri ke dalam media. Pada metode difusi cakram, kertas cakram berdiameter 6 mm dan daya serap 7 μ L ditetesi sampel pada konsentrasi 1%, 5%, 10%, dan 15%, lalu diletakkan pada permukaan media (Warsa, 2010). Sementara itu, metode sumuran dilakukan dengan membuat lubang berdiameter 6 mm menggunakan cork borer, kemudian sampel sebanyak 6 μ L dimasukkan ke dalam sumuran. Zona bening yang terbentuk di sekitar cakram atau sumuran menunjukkan aktivitas antibakteri dan diukur sebagai zona hambat [19].

9. Penentuan Zona Hambat

Pengamatan yang dilakukan setelah 24 jam masa inkubasi. Daerah pada sekitar cakram menunjukkan kepekaan mikroba terhadap antibiotik atau bahan mikroba yang digunakan sebagai bahan uji yang dinyatakan dengan diameter zona bening. Diameter zona bening diukur dalam satuan milimeter (mm) menggunakan jangka sorong (Mujipradhana *et al.*, 2018).

Berikut perhitungan zona hambat bakteri:

$$\text{Rata-rata zona hambat} = \frac{d1+d2}{2}$$

Keterangan:

d1 = Diameter zona bening horizontal

d2 = Diameter zona bening vertikal

10. Destruksi

Proses sterilisasi alat yang digunakan selama penelitian, dengan menghancurkan atau mendegradasi bahan organik dalam sampel dengan bantuan tekanan, suhu tinggi, dan uap air. Pada proses ini menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C (250°F) dibawah tekanan 15 psi selama durasi minimal 15-30 menit, meskipun ada variasi tergantung pada instrumen yang disterilkan dan jenis kontaminan yang dapat di tamponnya [19].

Analisa Data

Analisis data dalam penelitian ini menggunakan metode deskriptif yaitu berupa data kualitatif dan data kuantitatif berdasarkan ada atau tidaknya zona hambat yang terbentuk pada metode difusi, tingkat kekeruhan pada metode dilusi cair dan ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri pada metode dilusi padat. Data yang diperoleh akan disajikan dalam bentuk tabel dan ukuran zona hambat akan dianalisis menggunakan uji statistik *Kruskal Wallis Test* dengan tujuan untuk menentukan apakah terdapat perbedaan signifikan secara statistik antara rata-rata zona hambat pada masing-masing kelompok variasi konsentrasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rendemen Ekstrak

Rendemen merupakan perbandingan antara berat ekstrak yang diperoleh dengan berat bahan baku berupa sampel. Persentase rendemen yang tinggi

menunjukkan bahwa senyawa seperti flavonoid, alkaloid, tanin dan saponin yang dihasilkan juga semakin besar dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil % Rendemen Ekstrak dan Fraksi

Bobot Simplisia (g)	Bobot Ekstrak (g)	Rendemen (%)
200	36,33	18,16
10	0,42	4,22
10	7,33	73,30
10	2,27	22,70

Persentase rendemen ekstrak yang diperoleh menunjukkan hasil rendemen yang diperoleh telah memenuhi syarat, yaitu tidak <10% [4].

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia merupakan suatu tahapan penentuan atau identifikasi kandungan senyawa metabolit sekunder pada tumbuhan. Hasil skrining fitokimia dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia

No	Golongan	Hasil
1	Alkaloid	Positif (+)
2	Fenolik	Positif (+)
3	Flavonoid	Positif (+)
4	Saponin	Positif (+)
5	Steroid-Terpenoid	Positif (+)

Berdasarkan hasil tabel 3 Ekstrak etanol serta fraksi n-heksan, dan etil asetat, daun petai belalang menunjukkan aktivitas antibakteri dengan terbentuknya zona hambat pada masing-masing konsentrasi. Menurut Panaungi dan Sakka (2022), zona hambat berdiameter 5–10 mm dikategorikan sebagai daya hambat sedang, sedangkan 11–20 mm termasuk dalam kategori kuat. Zona hambat

Tabel 3. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol dan Fraksi

Bakteri Uji	Sampel	Rata-rata zona hambat (mm) metode difusi cakram				Keterangan	Rata-rata zona hambat (mm) metode difusi sumuran				keterangan
		1%	5%	10%	15%		1%	5%	10%	15%	
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ekstrak	7,3	8	8	9,8	Sedang	12,1	13,8	14,1	15,1	Kuat
	Fraksi n-heksan	0	0	0	0	-	11	11,6	12	12,3	Kuat
	Fraksi etilasetat	7,5	8,1	9	10,8	Sedang	11	13,6	14,5	16,8	Kuat
	Fraksi air	0	0	0	0	-	0	0	0	0	-
	Amoxicillin	25,1				Sangat Kuat	25,1				Sangat Kuat
	DMSO	0				-	0				-
<i>Salmonella typhi</i>	Ekstrak	7,6	8	8,6	9	Sedang	12,5	12,6	13,8	14,3	Kuat
	Fraksi n-heksan	0	0	0	0	-	0	0	0	0	-
	Fraksi etilasetat	6,5	7,6	8,3	10,1	Sedang	13,8	14,5	15	16,8	Kuat
	Fraksi air	0	0	0	0	-	0	0	0	0	-
	Amoxicillin	25,1				Sangat Kuat	25,1				Sangat Kuat
	DMSO	0				-	0				-

terhadap *Staphylococcus aureus* (bakteri positif) cenderung lebih besar dibandingkan *Salmonella typhi* (bakteri negatif), karena struktur dinding sel bakteri gram positif yang lebih sederhana dan mudah ditembus senyawa aktif, sedangkan gram negatif memiliki dinding sel yang lebih kompleks.

Pengujian menggunakan metode difusi cakram dan sumuran menunjukkan bahwa fraksi etil asetat memiliki aktivitas paling tinggi. Pada metode cakram, ekstrak etanol menghasilkan zona hambat 7,3–9,8 mm (kategori sedang), sedangkan pada metode sumuran meningkat menjadi 15,1 mm (kategori kuat). Fraksi etil asetat menunjukkan peningkatan signifikan dari 7,5 mm (cakram) menjadi 16,8 mm (sumuran) seiring peningkatan konsentrasi. Fraksi n-heksan dan air umumnya tidak menunjukkan aktivitas, kecuali fraksi air 15% yang menghasilkan zona hambat sedang terhadap *S. aureus* (10 mm) dan *S. typhi* (9,8 mm).

Aktivitas tinggi fraksi etil asetat menunjukkan keberadaan senyawa aktif dengan polaritas menengah, mengingat etil asetat merupakan pelarut semi-polar yang efektif dalam mengekstraksi senyawa flavonoid, fenolik, dan terpenoid yang bersifat antibakteri. Secara keseluruhan, metode sumuran menghasilkan zona hambat lebih besar dibandingkan metode cakram. Hal ini disebabkan karena sampel yang dimasukkan ke dalam lubang sumuran itu dapat berdifusi secara baik dan menghasilkan zona hambat yang nyata. Keunggulan metode sumuran juga didukung oleh Balouiri *et al.* (2016) [23] yang menyatakan bahwa metode ini lebih cocok untuk senyawa polar atau ekstrak kental, karena memungkinkan penetrasi senyawa lebih optimal ke dalam agar.

Oleh karena itu, metode sumuran dinilai lebih efektif dalam mengukur aktivitas antibakteri ekstrak tanaman.

Hasil Analisis Data

Berdasarkan Tabel 4 hasil analisis data aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan fraksi daun petai belalang menunjukkan nilai signifikansi $P < 0,05$.

Tabel 4. Hasil Analisis Data Uji Kruskal-Wallis

Sampel	Nilai Signifikansi
Metode Cakram	0,005
Metode Sumuran	0,006

Hasil uji Kruskal-Wallis menunjukkan nilai signifikansi 0,005 pada metode difusi cakram dan 0,006 pada metode sumuran ($P < 0,05$), yang mengindikasikan adanya perbedaan signifikan antar enam kelompok perlakuan. Perbedaan bermakna ($P < 0,05$) ditemukan antara kelompok ekstrak etanol, fraksi etil asetat, dan kontrol positif dibandingkan kontrol negatif (DMSO), yang menunjukkan adanya potensi antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*. Selain itu, perbedaan signifikan juga ditemukan antara kontrol positif (amoksisilin) dan ekstrak etanol serta fraksi etil asetat, yang menandakan bahwa kedua sampel memiliki efektivitas antibakteri yang berbeda dibandingkan amoxicillin.

KESIMPULAN DAN SARAN

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak etanol daun petai belalang menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* dengan kekuatan sedang hingga kuat, tergantung metode yang digunakan.

Pada metode cakram, zona hambat berada dalam kategori sedang (7–9,8 mm), sedangkan pada metode sumuran, zona hambat meningkat dan masuk dalam kategori kuat (12,1–15,1 mm untuk *S. aureus* dan 12,5–14,3 mm untuk *S. typhi*).

2. Fraksi etil asetat dari daun petai belalang menunjukkan aktivitas antibakteri yang lebih kuat dibandingkan ekstrak etanol. Zona hambat meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi, dengan diameter tertinggi 16,8 mm pada konsentrasi 15% terhadap kedua bakteri uji, termasuk dalam kategori kuat.

SARAN

Perlu dilakukannya penelitian lebih lanjut terkait isolasi senyawa aktif tumbuhan petai belalang yang berkhasiat sebagai antibakteri.

UCAPAN TERIMAKASIH

Kami mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Direktorat Riset dan Pengabdian kepada Masyarakat, Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset dan Teknologi yang telah memberikan dana hibah penelitian fundamental dengan nomor kontrak 113/E5/PG.02.00.PL/2024 tertanggal 11 Juni 2024.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Jumiarni, W. O., & Komalasari, O., 2017, Eksplorasi Jenis dan Pemanfaatan Tumbuhan Obat Pada Masyarakat Suku Muna di Permukiman Kota Wuna, *Traditional Medicine Journal*, 22 (1), 45-56.
- [2] Elfrida, E., Nursamsu, N., Marfina, M., 2017, Etnobotani Tumbuhan Berkhasiat Obat Berdasarkan Pengetahuan Lokal Pada Suku Jawa Di Desa Sukarejo Kecamatan Langsa Timur Tahun 2016, *Jurnal Jeumpa*, 4 (1), 21-29.
- [3] Kumontoy, G. D., 2023, Pemanfaatan Tanaman Herbal Sebagai Obat Tradisional Untuk Kesehatan Masyarakat di Desa Guaan Kecamatan Mooat Kabupaten Bolaang Mongondow Timur, *Journal of Social and Culture*, 16 (3), 5-6. <https://ejournal.unsrat.ac.id>.
- [4] Croke, L., 2018, Guideline for transmission-based precautions, *AORN Journal*, 108 (6), 7-9.
- [5] World Health Organization, 2014, *Infection*, Terdapat di: <https://www.who.int/teams/integrated-health-services/infection-prevention-control/surgical-site-infection> [Diakses pada 16 Oktober 2024]
- [6] Ramadhani, A., Budiono, & Suhartono., 2017, Gambaran Keberadaan Bakteri *Staphylococcus Aureus*, Kondisi Lingkungan Fisik, Dan Angka Lempeng Total Di Udara Ruang Rawat Inap RSUD Prof. Dr. M.a Hanafiah Sm Batusangkar, *Jurnal Kesehatan Masyarakat*, 5 (5), 492– 501.
- [7] Sulastri, E., Mappiratu, M., & Sari, A. K., 2016, Uji Aktivitas Antibakteri Krim Asam Laurat Terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Jurnal Farmasi Galenika*, 2 (2), 59–67.
- [8] Imara, F., 2020, *Salmonella typhi* Bakteri Penyebab Demam Tifoid, *Journal UIN Allaudin*, 6 (1), 1-5. <https://journal.uin->

- alauddin.ac.id/index.php/psb/article/view/14264/9525
- [9] Niasono, A. B., Latif, H., & Purnawarman, T., 2019, Resistensi Antibiotik Terhadap Bakteri *Escherichia Coli* Yang Diisolasi Dari Peternakan Ayam Pedaging Di Kabupaten Subang, Jawa Barat, *Jurnal Veteriner*, 20 (2), 187–195. <https://doi.org/10.19087/jveteriner.2019.20.2.187>.
- [10] Ferri, M., Ranucci, E., Romagnoli, P., & Giaccone, V., 2017, Antimicrobial resistance: A global emerging threat to public health systems, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57 (13), 2857–2876. <https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1077192>.
- [11] Ji, W., Gu, L., Zou, X., Li, Z., Xu, X., Wu, J., Zhang, S., & Deng, H., 2023, Antibakteri dan Antidiabetes dari *Archidendron clypearia* Berdasarkan Kombinasi Beberapa Metode Analisis, *Molecules*, 0–21. <https://doi.org/10.3390/molecules28031329>.
- [12] Bae, J. Y., Seo, Y. H., dan Oh, S. W., 2022, Aktivitas Antibakteri Polifenol Terhadap Patogen Bawaan Makanan dan Aplikasinya Sebagai Agen Antibakteri, *Food Science and Biotechnology*, 31, 985-997. <https://doi.org/10.1007/s10068022-01058-3>.
- [13] Deng, X., Lei, H. -Y., Ren, Y. -S., Ai, J., Li, Y. -Q., Liang, S., Chen, L. -L., dan Liao, M. -C., 2022, Strategi Baru Untuk Identifikasi Status Kemanjuran Senyawa Aktif Dalam Jamu Cina Multi-tropisme (*Scutellaria baicalensis* Georgi) Berdasarkan Analisis Korelasi Abu-abu Efek Spektrum Multi-indeks, *Journal of Ethnopharmacol*, 300, 115677. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2022.115677>.
- [14] Kemit, N., Rai Widarta, W., & Nocianitri, K. A., 2016, Pengaruh Jenis Pelarut Dan Waktu Maserasi terhadap Kandungan Senyawa Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Alpukat (*Persea Americana Mill*), *Junal ITEPA*, 5 (2), 130-141.
- [15] Sukandar, T. K., Sukmiwati, M., & Diharmi, A., 2021, Active Fraction Of Brown Seaweed *Sargassum cinereum*, *Berk Perikan terubuk*, 49 (3), 1363-1369.
- [16] Riadi, A., 2020, Pedoman Pencegahan dan Pengendalian Coronavirus Disease (COVID-19), *Kementrian Kesehatan Republik Indonesia*, 5.
- [17] Ekawati, A. R., Supriningrum, R., & Handayani, F., 2023, Karakterisasi Ekstrak Etanol Daun Selutui Puka. *Jurnal Ilmu Farmasi Dan Farmasi Klinik*, 20 (1), 43–52.
- [18] Qomaliyah, E. N., Indriani, N., Rohma, A., & Islamiyati, R., 2023, Skrining Fitokimia, Kadar Total Flavonoid dan Antioksidan Daun Cocor Bebek, *Current Biochemistry*, 10 (1), 1–10. <https://doi.org/10.29244/cb.10.1.1>.
- [19] Mujipradhana, V. N., 2018, Aktivitas Antimikroba Dari Ekstrak Ascidian *Herdmania Momus* Pada Mikroba Patogen Manusia, *Pharmakon*, 7 (3).
- [20] Aviany, H. B., & Pujiyanto, S., 2020, Analisis Efektivitas Probiotik di Dalam Produk Kecantikan Sebagai Antibakteri Terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*, *Berkala Bioteknologi*, 3 (2), 24-30.
- [21] Qur'an, S. C. N., Huda, C., & Martha, R. D., 2021, Uji Aktivitas

- Antibakteri Fraksi Daun Eceng Gondok (*Eichhornia crassipes*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 3 (2), 194-202.
- [22] Panaungi, A. N., dan Sakka, L. 2022, Perbandingan Aktivitas Ekstrak Etanol Kulit Pisang Kepok Kuning Dengan Ekstrak Etanol Kulit Pisang Kepok Mentah Terhadap Bakteri *Salmonella typhi* Penyebab Tifus, *Journal Syifa Sciences and Clinical Research (JSSCR)*, 4 (1), 101-107.
- [23] Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibnsouda, S. K., 2016, Methods for In Vitro Evaluating Antimicrobial Activity, *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6 (2), 71-79. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>.