



## Uji aktivitas antibakteri fraksi n-heksana dan etil asetat daun kecombrang (*Etlingera elatior*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

### *Antibacterial activity test of the n-hexane and ethyl acetate fraction of kecombrang leaf(Etlingera elatior) against Staphylococcus aureus and Escherichia coli*

**Alfi Wahyudi Nasution<sup>1</sup>, Haris Munandar Nasution<sup>1\*</sup>, Minda Sari Lubis, Yayuk Putri Rahayu<sup>1</sup>**

1Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Nusantara Al-Washliyah, Medan, Sumatera Utara, Indonesia.

\*e-mail author: [harismunandar@umnaw.ac.id](mailto:harismunandar@umnaw.ac.id)

#### ABSTRACT

Infectious diseases caused by microorganisms are diseases that are commonly found in society. The therapy used to treat infections today by administering antibiotics. However, many cases of bacterial resistance to antibiotics are caused by the irrational use of antibiotics, so is necessary to develop alternatives to antibiotics derived from plants. glycosides that can function as antimicrobials. This study aims to determine the activity of the n-hexane and ethyl acetate fractions from kecombrang leaves against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. This research was conducted experimentally, the independent variables consisted of the ethanol extract of kecombrang leaves, n hexane and ethyl acetate fractions. The dependent variable consisted of simplicia characteristic test, kecombrang leaf phytochemical screening, antibacterial activity test of kecombrang leaf fraction against *S.aureus* and *E.coli*. Antibacterial test using n-hexane and ethyl acetate fractions made with concentrations of 10%, 30%, 50% and 70%. the positive control used the antibiotic chloramphenicol and the negative control used DMSO, and the method used was agar diffusion using paper discs. The results of the antibacterial test showed that kecombrang leaves had an inhibitory effect on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria. The inhibition power of the ethyl acetate fraction was stronger than n hexane. The strongest inhibition was found in the ethyl acetate fraction with a concentration of 30.50 and 70% against *Staphylococcus aureus*, namely 10.9 mm, 12.6 mm and 14.15 mm. whereas in *Escherichia coli* bacteria, namely 10.5 mm, 12.3 mm. and 13.9mm. and based on the CLSI inhibition zone category, 2020, the concentration fraction of 70% is in the intermediate category, concentrations of 50, 30, and 10% are in the resistant category. While the positive control is categorized as sensitive to both bacteria.

**Keywords:** Kecombrang leaves (*Etlingera elatior*), n hexane and ethyl acetate fractions, antibacterial, *Staphylococcus Aureus*, *Escherichia coli*.

#### ABSTRAK

Penyakit infeksi yang disebabkan oleh mikroorganisme merupakan penyakit yang banyak ditemukan di masyarakat. Terapi yang digunakan untuk pengobatan infeksi saat ini yaitu dengan pemberian antibiotik. Namun banyak kasus resistensi bakteri terhadap antibiotik diakibatkan penggunaan antibiotik yang tidak rasional, sehingga perlu dikembangkannya alternatif pengganti antibiotik yang bersumber dari tumbuhan.

Salah satu tumbuhan yang berpotensi sebagai antibakteri adalah Daun Kecombrang (*Etilingera elatior*) karena mengandung saponin, flavonoid, steroid/triterpenoid, dan glikosida yang dapat berfungsi sebagai antimikroba. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas fraksi n-heksan dan etil asetat dari daun kecombrang terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Penelitian ini dilakukan secara eksperimental, variabel bebas terdiri dari ekstrak etanol daun kecombrang, fraksi n heksan dan etil asetat. Variabel terikat terdiri dari uji karakteristik simplisia, skrining fitokimia, uji aktivitas antibakteri fraksi daun kecombrang terhadap *S.aureus* dan *E.coli*. uji antibakteri menggunakan fraksi n-heksan dan etil asetat yang dibuat dengan konsentrasi 10%, 30%, 50% dan 70%. kontrol positif menggunakan antibiotik kloramfenikol dan kontrol negatif menggunakan DMSO, dan metode yang digunakan adalah difusi agar dengan kertas cakram. Hasil penelitian uji antibakteri menunjukkan bahwa daun kecombrang memiliki daya hambat pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Daya hambat fraksi etil asetat lebih kuat dibandingkan n heksan. Daya hambat terkuat terdapat pada fraksi etil asetat dengan konsentrasi 30, 50, dan 70%, terhadap *Staphylococcus aureus* yaitu 10,9 mm, 12,6 mm, dan 14,15 mm. sedangkan pada bakteri *Escherichia coli* yaitu 10,5 mm, 12,3 mm. dan 13,9 mm. dan berdasarkan kategori zona hambat CLSI, 2020, fraksi konsentrasi 70% termasuk kategori intermediet, konsentrasi 50, 30, dan 10% termasuk kategori resisten. Sedangkan kontrol positif dikategorikan sensitif terhadap kedua bakteri.

**Kata Kunci:** Daun Kecombrang (*Etilingera elatior*), fraksi n heksan dan etil asetat Aktivitas antibakteri, *Staphylococcus Aureus*, *Escherichia coli*.

## PENDAHULUAN

Kecombrang (*Etilingera elatior*), tumbuhan yang berasal dari Indonesia, tergolong dalam keluarga Zingiberaceae. Tumbuhan ini memiliki berbagai nama seperti "kencong" atau "kincung" di Sumatera Utara, "kecombrang" di Jawa, dan "honje" di Malaysia. Di kalangan orang Barat, tumbuhan ini dikenal sebagai torch ginger atau torch lily karena bentuk bunga merupakan obor yang memukau, berwarna merah. Penggunaan tradisional tumbuhan Kecombrang sudah lama dikenal oleh masyarakat, termasuk sebagai obat untuk penyakit kanker dan tumor. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa bunga dan daun Kecombrang memiliki sifat antibakteri terhadap bakteri gram positif dan gram negatif.

*Staphylococcus aureus* adalah salah satu jenis bakteri gram positif dengan bentuk kokus, yang merupakan agen patogen bagi manusia. Bakteri ini bertanggung jawab atas 70% kasus infeksi yang terjadi di lingkungan rumah sakit (infeksi nosokomial). *Staphylococcus aureus* mampu menginduksi infeksi secara invasif pada kulit dan jaringan lunak, seperti pneumonia, osteomielitis, meningitis, dan endokarditis. Bakteri ini juga telah menunjukkan resistensi yang signifikan terhadap sejumlah antibiotik, termasuk kelompok  $\beta$  laktamase, metisilin, nafsilin, oksasilin, dan vankomisin.

*Escherichia coli* adalah jenis bakteri Gram negatif yang juga merupakan bagian dari flora normal usus manusia dan dapat menetap di usus besar manusia selama 40 jam. Penularan bakteri *E. coli* terjadi melalui konsumsi makanan, air, atau cairan tubuh yang terkontaminasi oleh bakteri ini. Praktisnya, bakteri *E. coli* bisa menyebabkan berbagai infeksi, termasuk infeksi saluran kemih, saluran empedu, serta penyakit serius lainnya dalam rongga perut. Selain itu, bakteri ini juga bisa menjadi penyebab keracunan makanan yang ditandai dengan gejala diare (Suryati, 2017).

Saat ini, pengobatan infeksi umumnya dilakukan melalui pemberian antibiotik. Namun, banyak kasus di mana bakteri telah mengembangkan resistensi terhadap antibiotik, yang sebagian besar disebabkan oleh penggunaan antibiotik yang tidak bijaksana. Resistensi bakteri terhadap antibiotik menjadi isu global yang signifikan, sehingga perlunya upaya untuk mengembangkan alternatif pengganti antibiotik. Salah satu alternatif yang sedang dieksplorasi adalah penggunaan bahan alami dari tumbuhan, seperti daun kecombrang. Pendekatan pengobatan berbasis tumbuhan memiliki beberapa keunggulan, termasuk biaya yang lebih terjangkau, efek samping yang lebih minimal, dan tingkat penerimaan yang baik oleh pasien (Maulana, 2021).

Menurut (Kusumawati, 2015) Beberapa zat yang terdapat dalam daun kecombrang, seperti flavonoid, saponin, dan tanin, memiliki potensi sebagai agen antibakteri. Dengan dasar informasi tersebut, para peneliti tertarik untuk menjalankan studi tentang uji aktivitas antibakteri dari Fraksi N-Heksan dan Etil Asetat yang ada dalam daun kecombrang (*Etlintera elatior*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Alasan di balik minat ini adalah karena penggunaan luas antibiotik kimia sebagai terapi untuk membunuh bakteri telah mengakibatkan peningkatan resistensi bakteri terhadap antibiotik tersebut. Oleh karena itu, penelitian terhadap senyawa alami yang memiliki potensi antibakteri menjadi penting untuk mengatasi masalah resistensi antibiotik. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk membuktikan apakah fraksi yang diekstrak dari Daun Kecombrang (*Etlintera elatior*) memiliki efek antibakteri dan mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

## METODE PENELITIAN

### Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmasi Terpadu dan Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Universitas Muslim Nusantara Al Wasliyah Medan Pada Bulan Januari 2023.

### Alat dan Bahan

Instrumen yang digunakan melibatkan berbagai peralatan laboratorium seperti wadah kimia berupa gelas-gelas, autoklaf, inkubator, oven, rotary evaporator, aliran udara laminar (LAF), serta mikroskop. Selain itu, juga terlibat peralatan khusus seperti azeotrop dan tanur.

Bahan-bahan yang diperlukan dalam penyelidikan ini termasuk Ekstrak daun Kecombrang (*Etlintera elatior*), Aquadest, Etanol, Asam Klorida Pejal, Asam Sulfat Pejal, Besi (III) Klorida, Timbal (II) Asetat 0,4M, Raksa Klorida ( $HgCl_2$ ), Kalium Iodida, Nitrat Bismut (II), Asam Asetat Glasial, Iodium, Asam Asetat Anhidrida, Kloroform, Toluene, Kloral Hidrat, Solusi Standar Mc.Farland 0,5, Larutan Natrium Hidroksida 2N, Serbuk Magnesium, Larutan NaCl 0,9%, Solusi DMSO 1%, Agar Mueller Hinton (MHA), Agar Nutrien (NA), Cakram Kertas, Kultur Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan Antibiotik Kloramfenikol.

### Sampel

Sampel penelitian dilakukan secara Purposif yaitu dengan tidak membandingkan tumbuhan yang sama dengan daerah lain. Sampel daun Kecombrang diperoleh dari Kecamatan Delitua, Kabupaten Deli Serdang.

### Pembuatan Simplisia Daun Kecombrang

Pembuatan bahan simplisia dilakukan dengan langkah-langkah sebagai berikut: Daun Kecombrang (*Etlintera elatior*) (Jack) S.M R.m yang baru dipanen dan masih segar, diambil dan dipisahkan dari bahan asing yang melekat, kemudian dicuci dengan air mengalir sampai bersih. Setelah itu, daun Kecombrang dikeringkan dalam kondisi bersih dan ditimbang. Setelah diukur, daun Kecombrang dipotong menjadi bagian-bagian kecil dan kemudian dikeringkan dengan menggunakan lemari pengering pada suhu 40-50° C selama 5 hari hingga menjadi simplisia yang kering. Keadaan kekeringan ini dapat dikenali ketika simplisia menjadi rapuh dan mudah hancur saat dipegang. Setelah itu, bahan simplisia yang telah kering dihaluskan menggunakan blender hingga berubah menjadi serbuk. Serbuk ini kemudian diayak untuk mendapatkan simplisia yang lebih halus dan seragam, dan beratnya diukur. Akhirnya, serbuk simplisia yang dihasilkan disimpan dalam wadah plastik yang kedap udara untuk menjaga kualitasnya (Depkes RI, 1985).

### Uji Karakteristik Simplisia

Pengujian karakteristik bahan simplisia meliputi sejumlah langkah, termasuk pemeriksaan makroskopis, analisis mikroskopis, penentuan kadar air, pengukuran kadar senyawa larut dalam air, perhitungan kadar komponen larut dalam etanol, penentuan kadar abu secara keseluruhan, dan penentuan kadar abu yang tidak larut dalam asam.

### Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Kecombrang

Sebanyak 500 gram serbuk bahan simplisia diawali dengan proses maserasi dengan menggunakan 3750 ml etanol 96%. Serbuk tersebut dimasukkan ke dalam wadah yang tertutup dan dibiarkan selama 5 hari pada suhu ruangan, dijauhkan dari paparan sinar matahari langsung, dan sesekali diaduk. Setelah itu, bahan tersebut diserak, diperas, dan disaring untuk mendapatkan cairan hasil maserasi (maserat1). Maserat ini dipisahkan dari ampasnya. Ampas kemudian dicuci dengan 1250 ml etanol 96%, kemudian disaring dan

ditempatkan dalam wadah tertutup (maserat<sup>2</sup>). Maserat<sup>2</sup> ini juga digabungkan dengan maserat<sup>1</sup>. Campuran ini dibiarkan selama 2 hari, lalu proses pemekatan ekstrak dilakukan menggunakan rotary evaporator pada suhu 50°C. Hasil dari pemekatan ini adalah ekstrak etanol yang kemudian diuapkan kembali dengan menggunakan waterbath hingga mendapatkan ekstrak kental (Depkes RI, 1979).

### Pembuatan Fraksi Daun Kecombrang

Sejumlah 40 gram ekstrak pekat di larutkan dalam 80 ml etanol 96% hingga larut. Setelah itu, ditambahkan 80 ml aquades, dan campuran ini dimasukkan ke dalam corong pisah. Dilanjutkan dengan menambahkan 200 ml n-heksana, dan campuran ini dikocok sebelum didiamkan hingga terbentuk dua lapisan terpisah. Lapisan n-heksana, yang merupakan lapisan bagian atas, dan mengandung senyawa yang diinginkan, diambil. Proses fraksinasi dilakukan berulang hingga lapisan n-heksana memberikan hasil yang netral atau tidak berwarna. Lapisan n-heksana ini dikumpulkan untuk mendapatkan fraksi n-heksana. Kemudian, lapisan bawah (residu) diberi tambahan 200 ml etil asetat, dikocok, dan dibiarkan sampai terbentuk dua lapisan terpisah. Lapisan etil asetat, yang berada di lapisan atas, yang mengandung senyawa yang diinginkan, diambil. Seperti sebelumnya, proses fraksinasi dilakukan berulang hingga lapisan etil asetat memberikan hasil yang negatif atau tidak berwarna. Lapisan n-heksana dan lapisan etil asetat yang telah dikumpulkan kemudian dipekatkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 50°C, dan selanjutnya diuapkan di atas waterbath pada suhu yang sama hingga diperoleh fraksi yang pekat (Bassett, dkk., 1994).

### Uji Skrining Fitokimia

#### 1. Uji Alkaloid

Serbuk bahan simplisia serta ekstrak daun kecombrang diukur sejumlah 0,5 gram dan kemudian dicampur dengan 1 ml asam klorida 2N dan 9 ml air yang telah dihasilkan dari proses penyulingan. Campuran ini dipanaskan di atas penangas air selama 5 menit, kemudian didinginkan dan disaring. Larutan hasil penyaringan ini akan digunakan untuk pengujian berikut:

- A. Sejumlah 1 ml larutan ini dicampur dengan 2 tetes pereaksi Mayer. Jika reaksi menghasilkan endapan yang berwarna putih atau bening yang membentuk gumpalan, maka hasil reaksi ini dianggap positif.

- B. Sebanyak 1 ml larutan dicampur dengan 2 tetes pereaksi Bouchardat. Reaksi dianggap positif jika larutan menghasilkan endapan yang berwarna coklat hingga hitam.
- C. Larutan sebanyak 1 ml dicampur dengan 2 tetes pereaksi Dragendorff. Jika hasil reaksi menunjukkan terbentuknya warna jingga, maka hasil reaksi ini dianggap positif..

#### 2. Uji Flavonoid

Sebanyak 0,5 gram serbuk dan ekstrak daun kecombrang diukur dan kemudian dicampur dengan 10 ml air panas. Campuran ini dipanaskan hingga mendidih selama 5 menit, setelah itu disaring dalam keadaan masih panas. Dalam 5 ml larutan hasil penyaringan ini, ditambahkan 0,1 gram serbuk magnesium, 1 ml asam klorida pekat, dan 2 ml amil alkohol. Larutan ini kemudian dikocok dan dibiarkan untuk memisah. Keberadaan flavonoid dapat diketahui dengan melihat perubahan warna pada amil alkohol setelah ditambahkan larutan. Jika flavonoid hadir, maka amil alkohol akan berubah menjadi warna merah, kuning, atau jingga (Depkes RI, 1989).

#### 3. Uji Saponin

Sejumlah 0,5 gram serbuk bahan simplisia dan ekstrak daun kecombrang diukur dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya, ditambahkan 10 mL air suling yang telah dipanaskan sebelumnya. Setelah proses pemberian air, campuran ini didinginkan dan kemudian dikocok secara energik selama 10 detik. Akibat pengocokan ini, akan terbentuk busa yang kental dan bertahan selama minimal 10 menit, dengan tinggi busa mencapai 1-10 cm. Kemudian, diteteskan 1 tetes larutan asam klorida 2N ke dalam campuran ini. Jika buih tidak menghilang setelah penambahan asam klorida, hal ini menunjukkan adanya saponin (Depkes RI, 1989).

#### 4. Uji Tanin

Sejumlah 0,5 gram serbuk bahan simplisia dan ekstrak daun kecombrang diukur dan kemudian dicampur dengan 10 ml air suling. Campuran ini kemudian disaring. Filtrat hasil penyaringan ini diencerkan dengan penambahan air hingga tidak memiliki warna yang khas. Dari larutan ini, diambil 2 ml dan ditambahkan 1-2 tetes pereaksi FeCl<sub>3</sub> 1%. Jika terjadi perubahan warna menjadi biru atau hijau kehitaman, ini menunjukkan adanya kandungan tanin (Depkes RI, 1989).

#### 5. Uji Glikosida



Tepat 3 gram serbuk bahan simplisia dan ekstrak daun kecombrang diukur dan kemudian direndam dengan campuran 30 ml etanol 96% dan aquades (7:3), serta ditambahkan 10 ml HCl 2N. Campuran ini kemudian dipanaskan dengan metode refluks selama 10 menit, lalu didinginkan dan disaring. Dari hasil penyaringan, diambil sebanyak 20 ml filtrat dan dicampur dengan 25 ml aquades serta 25 ml larutan timbal (II) asetat 0,4 M. Setelah dikocok dan dibiarkan selama 5 menit, campuran ini kemudian disaring. Filtrat kemudian dimasukkan ke dalam corong pisah dan diekstraksi dengan campuran 20 ml kloroform dan isopropanol (3:2) selama 3 kali. Sari air yang dihasilkan diuapkan pada suhu yang tidak melebihi 50°C. Sisa bahan dilarutkan dalam 2 ml metanol. Dari larutan tersebut, diambil 0,1 ml yang kemudian ditempatkan dalam tabung reaksi dan diuapkan di atas penangas air. Selanjutnya, ditambahkan 2 ml air dan 5 tetes pereaksi Molish. Proses ini diikuti dengan penambahan perlahan 2 ml asam sulfat pekat melalui dinding tabung. Terbentuknya cincin ungu pada batas antara dua cairan menunjukkan adanya komponen gula (glikon) (Depkes RI, 1989).

#### 6. Uji Steroid/Triterpenoid

Serbuk dan ekstrak daun kecombrang sebanyak 1 gram diukur dan kemudian dimaserasi menggunakan n-heksan selama periode 2 jam, setelah itu dilakukan penyaringan. Filtrat hasil dari proses ini diuapkan di dalam cawan penguap hingga benar-benar kering. Pada residu yang dihasilkan, ditambahkan 2-3 tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes asam sulfat pekat untuk mengaplikasikan reaksi Lieberman-Bourchat. Hasil reaksi ditandai dengan perubahan warna menjadi ungu, merah, atau bahkan berubah menjadi hijau biru, yang mengindikasikan adanya keberadaan senyawa steroid atau triterpenoid (Depkes RI, 1995).

#### Sumber isolat bakteri

Isolat bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi yang terletak di Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara.

#### Pembuatan stok kultur bakteri *Staphylococcus aureus*

Satu koloni bakteri *Staphylococcus aureus* diambil dari kultur murni. Bakteri tersebut kemudian dioleskan dengan hati-hati di atas permukaan media Nutrient Agar yang telah mengeras. Setelah tahap

tersebut, media dibiarkan di dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37°C (Siregar,2009).

#### Pembuatan stok kultur bakteri *Escherichia coli*

Satu koloni bakteri *Escherichia coli* diambil dari kultur murni. Kemudian, bakteri ini dengan hati-hati diletakkan di atas permukaan media Nutrient Agar yang telah mengeras. Setelahnya, media tersebut diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C (Siregar,2009).

#### Pembuatan Suspensi Bakteri

Membuat suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dilakukan dengan mengambil beberapa kelompok bakteri. Kelompok-kelompok ini dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang mengandung larutan fisiologis NaCl 0,9%. Setelah itu, kekeruhan suspensi disesuaikan dengan standar McFarland yang telah ditetapkan (Nasution,2022).

#### Uji Aktivitas Antibakteri

Uji sifat antibakteri dilakukan dengan metode difusi menggunakan kertas cakram yang melibatkan sejumlah kondisi eksperimen. Ini melibatkan fraksi n-heksan dan etil asetat dengan variasi konsentrasi (70%, 50%, 30%, 10%), serta kontrol positif dan negatif. Alat-alat yang digunakan telah di sterilkan terlebih dahulu dalam oven. Langkah selanjutnya melibatkan menuangkan 20 ml media MHA steril ke dalam cawan petri dan menunggu hingga mengeras. Setelah itu, suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* diambil menggunakan cotton swab steril dan ditebarkan pada permukaan media MHA. Fraksi n-heksan dan etil asetat dari daun kecombrang dengan berbagai konsentrasi (70%, 50%, 30%, 10%) kemudian dijatuhkan di atas kertas cakram. Sebagai kontrol, DMSO digunakan sebagai kontrol negatif dan antibiotik kloramfenikol sebagai kontrol positif. Kertas cakram tersebut dengan hati-hati ditempelkan pada permukaan media MHA yang sudah diinokulasi dengan bakteri, menggunakan pinset. Percobaan ini diulang tiga kali untuk memastikan konsistensi hasil. Setelah itu, media yang telah disiapkan dimasukkan ke dalam inkubator pada suhu 37°C dan dibiarkan menginkubasi selama 18-24 jam. Setelah periode inkubasi selesai, zona hambat yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong, yang diindikasikan oleh area tanpa pertumbuhan bakteri di sekitar kertas cakram (Nasution,2022).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil Uji Karakteristik Simplisia Daun Kecombrang.

Tabel 1. Hasil Pemeriksaan karakteristik Serbuk Simplisia Daun kecombrang

N0	Parameter	Hasil Pemeriksaan	Syarat FHI Edisi II	Keterangan
1	Kadar Air	6%	$\leq 10\%$	Memenuhi syarat
2	Kadar Sari Larut Air	25,56%	$\geq 11,6\%$	Memenuhi syarat
3	Kadar Sari Larut Etanol	19,9%	$\geq 16,5\%$	Memenuhi syarat
4	Kadar Abu Total	9,8%	$\leq 10,6\%$	Memenuhi syarat
5	Kadar Abu Tidak Larut Asam	0,6%	$\leq 4,7\%$	Memenuhi syarat

Keterangan :  $\geq$  (Tidak Kurang dari)  
 $\leq$  (Tidak Lebih dari)

Dari data yang terdapat dalam Tabel 1 di atas, dapat diobservasi bahwa serbuk simplisia dari daun kecombrang memenuhi kriteria yang ditetapkan dalam farmakope herbal Indonesia edisi II sebagai simplisia.

### Hasil Pembuatan Ekstrak Etanol Daun kecombrang

Pembuatan ekstrak etanol dilaksanakan dengan metode maserasi yang berlangsung selama 7 hari dalam sebuah wadah yang ditutup rapat. Hasil dari proses ini menghasilkan ekstrak dengan berat total 59,8 gram, dan nilai rendemen ekstrak yang berhasil diambil sebesar 11,96%.

### Hasil Pembuatan Fraksi Daun kecombrang

Proses pembuatan Fraksi dilakukan melalui metode ekstraksi cair-cair dengan menggunakan corong pisah. Pada tahap fraksi n-heksan, berhasil diperoleh sejumlah 4,2 gram dengan hasil rendemen sebesar 10,5%. Sementara pada tahap fraksi etil asetat, berhasil diperoleh sejumlah 7,5 gram dengan rendemen sebesar 18,75%.

### Hasil Uji Skrining Fitokimia

Tabel 2. Hasil Uji Skrining Fitokimia

N0	Pemeriksaan	Hasil Serbuk	Hasil Ekstrak
1	Alkaloid	(-)	(-)
2	Flavonoid	(+)	(+)
3	Saponin	(+)	(+)
4	Tanin	(+)	(+)
5	Steroid/Triterpenoid	(+)	(+)
6	Glikosida	(+)	(+)

Dari data yang tercantum dalam Tabel 2 di atas, dapat disimpulkan bahwa serbuk simplisia dan ekstrak daun kecombrang mengandung senyawa metabolit sekunder yang mencakup flavonoid, saponin, tanin, steroid, dan glikosida. Namun, tidak terdeteksi keberadaan alkaloid pada serbuk dan ekstrak. Pengujian senyawa alkaloid menunjukkan hasil negatif, yaitu tidak terdapat endapan yang terbentuk dari setidaknya 2 dari 3 pereaksi yang digunakan, yaitu Mayer, Dragendorf, dan Bouchardat (Farnsworth, 1996).

Dalam pengujian senyawa flavonoid, hasil positif akan terlihat pada serbuk dan ekstrak yang mengandung flavonoid, yang ditandai dengan perubahan warna menjadi jingga pada lapisan amil alkohol. Ketika serbuk magnesium dan asam klorida ditambahkan dalam pengujian flavonoid, inti benzopiron yang ada akan mengalami reduksi, menghasilkan perubahan warna menjadi merah. Perubahan warna ini menjadi ciri adanya senyawa flavonoid (Robinson, 1995).

Dalam pengujian senyawa saponin, serbuk dan ekstrak yang mengandung saponin akan menunjukkan hasil positif dengan adanya pembentukan busa. Pada serbuk, pembentukan busa mencapai tinggi 2 cm, sedangkan pada ekstrak, busa mencapai tinggi 3 cm dan tetap ada setelah pemberian asam klorida. Keberadaan saponin dianggap positif jika sampel yang diuji menghasilkan busa dengan tinggi antara 1 hingga 10 cm, dengan waktu pembentukan busa sekitar  $\pm 10$  menit (Harborne, 1987).

Dalam pengujian senyawa tanin, hasil reaksi positif dapat diamati melalui perubahan warna menjadi biru tua, biru kehitaman, dan hijau kehitaman. Pada saat melakukan pengujian dengan

serbuk, perubahan warna menjadi hijau muda dapat diamati, sementara pada ekstrak, terjadi perubahan warna menjadi biru muda. Hal ini terjadi karena terjadinya reaksi antara senyawa tanin dan FeCl<sub>3</sub> (Jones,2006).

Pada pengujian steroid dan triterpenoid, serbuk dan ekstrak menghasilkan reaksi positif yang menunjukkan adanya steroid dengan timbulnya warna biru. Pengujian ini dilakukan menggunakan

reaksi Liebermann Buchard. Pengujian steroid dan triterpenoid dalam larutan CH<sub>3</sub>COOH glasial dengan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat dilakukan berdasarkan kemampuan senyawa steroid dan triterpenoid dalam membentuk warna tertentu. Senyawa steroid cenderung menghasilkan warna biru atau hijau, sementara senyawa triterpenoid cenderung menghasilkan warna merah atau ungu (Harborne,1987).

### Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Kecombrang

**Tabel 3.** Hasil Uji Antibakteri Fraksi n heksan dan Etil asetat Terhadap *Staphylococcus aureus*

Sampel Uji	Konsentrasi	Zona Hambat (mm) Replikasi			Rata rata	Kategori (CLSI,2020)
		1	2	3		
Kontrol (-) DMSO	10%	0	0	0	0	Lemah
Kontrol Positif (kloramfenikol)	30 µL	23	23	23	23	sensitif
Fraksi Etil asetat	70%	14,2	14,1	14,1	14,1	Intermediat
	50%	12,9	11,9	13,0	12,6	Resisten
	30%	11,0	10,8	10,8	10,9	Resisten
	10%	10,3	9,8	9,9	10,0	Resisten
Fraksi n heksan	70%	13,9	13,7	13,9	13,8	Intermediat
	50%	12,4	12,3	10,5	11,7	Resisten
	30%	10,0	10,0	9,5	9,8	Resisten
	10%	8,6	8,9	8,7	8,7	Resisten

**Tabel 4.** Hasil Uji Antibakteri Fraksi n heksan dan Etil asetat Terhadap *Escherichia coli*

Sampel Uji	Konsentrasi	Zona Hambat (mm) Replikasi			Rata rata	Kategori (CLSI,2020)
		1	2	3		
Kontrol (-) DMSO	10%	0	0	0	0	Lemah
Kontrol Positif (kloramfenikol)	30 µL	21,9	21,9	21,9	21,9	sensitif
Fraksi Etil asetat	70%	14,1	13,9	13,7	13,912,3	Intermediat
	50%	12,1	12,2	12,5	10,6	Resisten
	30%	11,3	10,0	10,6	9,4	Resisten
	10%	9,7	9,6	9,4		Resisten
Fraksi n heksan	70%	13,2	13,2	13,6	13,3	Intermediat
	50%	11,5	11,7	11,4	11,5	Resisten
	30%	10,0	8,4	8,3	8,9	Resisten
	10%	8,1	7,6	7,3	7,7	Resisten

Hasil pengujian yang tercantum dalam tabel 3 dan 4 menunjukkan bahwa fraksi n-heksan dan etil asetat dari daun kecombrang memiliki aktivitas antibakteri terhadap dua jenis bakteri, yaitu bakteri gram positif (*Staphylococcus aureus*) dan bakteri gram negatif (*Escherichia coli*). Dalam penelitian ini, digunakan fraksi n-heksan dan etil asetat, kedua larutan ini memiliki tingkat polaritas yang berbeda. Sebagai kontrol negatif, digunakan DMSO karena DMSO tidak memiliki efek antibakteri. DMSO memiliki kemampuan larut baik untuk senyawa polar maupun nonpolar, serta dapat melarutkan dalam berbagai jenis pelarut organik. Kontrol positif yang digunakan adalah kloramfenikol, antibiotik spektrum luas yang bersifat bakteriostatik. Kloramfenikol bekerja dengan cara menghambat sintesis protein melalui peningkatan subunit 50S pada ribosom.

Berdasarkan temuan penelitian di atas, terlihat bahwa fraksi etil asetat memiliki efek penghambatan yang lebih kuat dibandingkan fraksi n-heksan, meskipun perbedaan dalam efek penghambatan ini tidak terlalu signifikan. Faktor ini mungkin disebabkan oleh kandungan senyawa yang lebih melimpah dalam fraksi etil asetat. Munculnya zona hambat pada fraksi n-heksan kemungkinan diakibatkan oleh kehadiran senyawa steroid yang berhasil diekstraksi selama proses fraksinasi. Sedangkan pada fraksi etil asetat, dugaan munculnya efek ini mungkin karena adanya senyawa flavonoid, saponin, dan tanin yang berhasil ditarik selama proses fraksinasi.

Zona hambat yang muncul disebabkan oleh adanya senyawa metabolit sekunder dalam fraksi daun kecombrang yang memiliki sifat antibakteri, seperti Saponin, flavonoid, tanin, dan steroid. Variasi dalam ukuran zona hambat pada berbagai konsentrasi mungkin disebabkan oleh beberapa faktor, termasuk perbedaan dalam konsentrasi senyawa aktif antimikroba di dalam fraksi, laju difusi senyawa antimikroba ke dalam medium, sensitivitas pertumbuhan bakteri, suhu dan waktu inkubasi, serta aktivitas metabolik mikroorganisme (Salni,2011).

Efek penghambatan paling kuat diamati pada konsentrasi 70%, sementara efek penghambatan paling lemah terlihat pada konsentrasi 10%. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi fraksi, semakin kuat efek penghambatan terhadap kedua jenis bakteri, karena jumlah zat aktif dalam fraksi menjadi lebih banyak. Konsentrasi yang tinggi berbanding lurus dengan kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri, yang tercermin dalam zona hambat yang

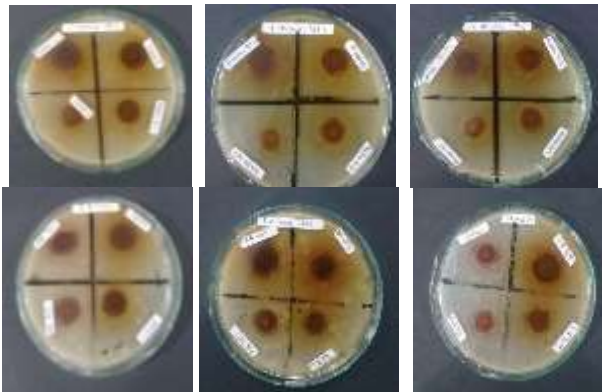
lebih besar. Berdasarkan pedoman CLSI 2020, terdapat tiga kategori zona hambat, yaitu sensitif, intermediat, dan resisten. Zona hambat dikatakan sensitif jika lebih dari 18mm, zona hambat dikategorikan intermediat jika memiliki lebar 13-17mm, dan zona hambat dikategorikan resisten jika memiliki lebar di bawah 12mm. Dengan mempertimbangkan kategori dari CLSI 2020, fraksi dengan konsentrasi 70% tergolong dalam kategori intermediat, sementara fraksi dengan konsentrasi 50%, 30%, dan 10% tergolong dalam kategori resisten (Rahmawati,2014).

Pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* yang mengalami penghambatan mungkin disebabkan oleh penghambatan pada sintesis dinding sel. Efek penghambatan ini lebih kuat pada bakteri *Staphylococcus aureus* jika dibandingkan dengan *Escherichia coli*. Faktor ini mungkin terkait dengan perbedaan dalam komposisi dinding sel antara bakteri gram positif (seperti *Staphylococcus aureus*) dan gram negatif (seperti *Escherichia coli*). Bakteri gram negatif memiliki dinding sel yang lebih kompleks, dengan struktur lapisan ganda yang memberikan ketahanan lebih terhadap bahan kimia asing. Di sisi lain, bakteri gram positif memiliki dinding sel yang lebih sederhana. Perbedaan ini mungkin menyebabkan dinding sel bakteri gram positif lebih mudah terpengaruh oleh senyawa antibakteri dibandingkan dengan dinding sel bakteri gram negatif (Fardiaz,1989).

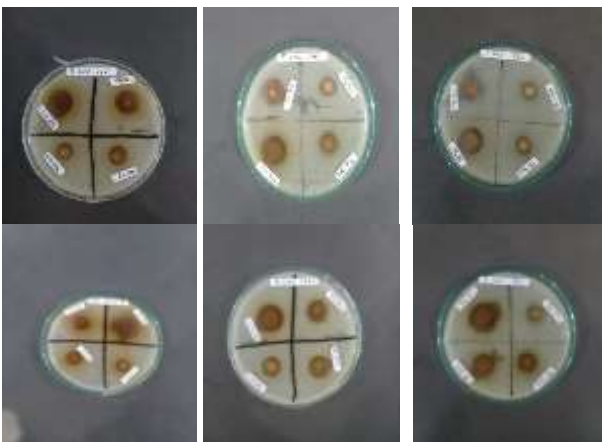
Flavonoid bekerja sebagai agen antibakteri dengan cara menghentikan aktivitas protein di dalam sel bakteri, serta menginduksi ketidakstabilan pada dinding sel dan membran sel bakteri. Saponin, sebagai agen antibakteri, berinteraksi dengan lipid dalam membran sel, menghasilkan modifikasi lipid pada membran tersebut yang mengganggu kemampuan bakteri dalam berinteraksi dengan struktur membran yang telah diubah. Mekanisme antibakteri tanin berhubungan dengan inaktivasi enzim, interaksi dengan membran sel, serta gangguan atau inaktivasi fungsi materi genetik yang terdapat dalam sel bakteri. Dalam hal steroid sebagai antibakteri, mekanismenya berhubungan erat dengan membran lipid serta reseptivitas terhadap komponen steroid. Hal ini mengakibatkan terjadinya kebocoran pada lisosom, mempengaruhi integritas membran, dan akhirnya menghasilkan efek antibakteri.



**Gambar 1.** Hasil Diameter Zona Hambat Fraksi n heksan dan Etil asetat Daun Kecombrang terhadap *S. aureus*.



**Gambar 2.** Hasil Diameter Zona Hambat Fraksi n heksan dan Etil asetat Daun Kecombrang terhadap *E.coli*



## KESIMPULAN

Hasil akhir dari penelitian ini menyimpulkan bahwa daun kecombrang (*Etingera elatior*) (Jack) R.M. Sm yang diperoleh dari kecamatan delitua mengandung senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, saponin, tanin, steroid, dan glikosida. Fraksi n-heksan dan etil asetat dari ekstrak tersebut menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Konsentrasi dengan daya hambat paling kuat adalah konsentrasi 70%.

## SARAN

Disarankan kepada peneliti selanjutnya untuk membuat pengujian antibakteri dari sediaan ekstrak

daun kecombrang. Dan juga selanjutnya untuk menguji menggunakan bakteri yang lainnya.

## REFERENSI

- Bassett, J., Denney, R. C., Jeffrey, G.H., dan Mendham, J. (1994). *Buku Ajar Vogel: Kimia Analisis Kuantitatif Anorganik*. Edisi 4. Jakarta: EGC: Hal.165.
- Depkes RI. (1979). *Farmakope Indonesia Edisi III*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Depkes RI. (1989). *Materia Medika Indonesia*. Jilid V. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Ditjen POM. (1985). *Cara Pembuatan Simplisia*. Cetakan Pertama. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Eko,S.,Risa.,dan Reza.R. (2015). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kecombrang (*Etingera elatior*) Terhadap Bakteri *Salmonella Thypi*. *Jurnal Ilmiah Manuntung*.Vol 1.
- Fardiaz, S. (1989). *Mikrobiologi Pangan*.PAU Pangan dan Gizi Institut Pertanian. Bogor.
- Farnsworth, N.R. (1996). *Biological and Phytochemical Screening of Plant*.*Journal of Pharmaceutical Sciences*. 55-59
- Harborne, J.B. (1987). *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung: ITB Press.
- Jones.,W.P., Kinghom,A.D.(2006).*Extraction Of Plant Secondary Metabolites in Sharker Natural Product Isolation*.Humana Press.New Jersey..
- Kusumawati,Eko.,Risa.S.,dan Reza.R.(2015).Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kecombrang *Etingera elatior* (Jack) R.M Sm Terhadap *Salmonella thypi*.*Jurnal Ilmiah Manuntung*.vol1.Halaman 1-7.
- Maulana,A.R.,Bawon,T.,Hidayat.(2021).UjiAktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Waru Gunung (*Hibiscus macrophyllus*) dan Fraksinya terhadap *Staphylococcus aureus*.*Jember: e-Journal Pustaka Kesehatan*,vol.9 (no.1).Halaman 49.
- Nasution, H. M. (2020). *Skrining Fitokimia dan Isolasi Senyawa Steroid/Triterpenoid dari Ekstrak N-Heksana Rumput Laut*. *Jurnal Dunia Farmasi*.
- Nasution,H.M,dkk.(2022).*Phytochemical Screening and Antibacterial Activity Test Of Ethanol Extract Of Jengkol leaves (Archidendron Pauciforum Benth) I.C Nielsen Against Staphylococcus epidermidis and*

- Propionibacterium acnes. International Journal Of Science. Halaman 650.
- Rahmawati, (2014). Interaksi Ekstrak Daun Lidah Buaya (*Aloe vera L*) dan Daun Sirih (Piper betle) Terhadap Daya Hambat Staphylococcus aureus secara in vitro. Jurnal Edubio Tropika Vol 2. Halaman 121.
- Robinson, T. 1995, Kandungan Organik Tumbuhan tinggi. ITB Press, Bandung. hal 191.
- Salni, dkk. (2011). Isolasi Senyawa Antibakteri dari Daun Jengkol (*Pithecolobium lobatum*) dan Penentuan Nilai KHM nya. Sumatera Selatan: Universitas Sriwijaya.
- Suryati, N., Bahar, E., and Ilmiawati, (2017). Uji efektifitas antibakteri ekstrak Aloe vera terhadap pertumbuhan Escherichia coli secara in vitro. Jurnal Kesehatan Andalas. Vol. 6, No.3: 518-522.
- Syalsabila, Putri., Nasution. H.M., Daulay. A.S. (2023). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff) Boerl) Terhadap *Propionibacterium acnes*. Jurnal Farmasainkes. Vol2 No.2. Halaman 204.