UJI POTENSI ANTI BAKTERI EKSTRAK ETANOL 70% BUAH LONTAR (Borassus flabellifer) TERHADAP PERTUMBUHAN Staphylococcus aureus

Soeharty Megawaty Konay, Prisca Deviani Pakan, Dyah Gita Rambu Kareri

ABSTRAK

Flora di Indonesia memiliki banyak manfaat, salah satunya digunakan sebagai alternatif pengobatan. Salah satu tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai tanaman obat adalah lontar (Borassus flabellifer). Di India, buah lontar digunakan sebagai obat kulit. Infeksi kulit tersering disebabkan oleh bakteri Staphylococcus aureus. Tujuan penelitian ini menganalisis potensi antibakteri ekstrak etanol 70% buah lontar (Borassus flabellifer) terhadap pertumbuhan Staphylococcus aureus. Metode yang digunakan pada penelitian ini merupakan true experimental dengan rancangan Post-test Only Control Group Design. Uji potensi antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram dan metode dilusi broth. Ekstrak buah lontar diperoleh dari proses maserasi dengan pelarut etanol 70%. Konsentrasi ekstrak kental yang digunakan adalah 100%, 75%, 50%, 25%, 5%, dan 1%. Sefalosporin sebagai kontrol positif dan akuades sebagai kontrol negatif. Hasil metode difusi cakram menunjukkan ratarata diameter daya hambat (DDH) pada konsentrasi 100% sebesar 15,44 mm; konsentrasi 75% sebesar 8,39 mm; konsentrasi 50% sebesar 7,28 mm; konsentrasi 25% sebesar 5,94 mm; konsentrasi 5% sebesar 6,4 mm; dan kontrol positif sebesar 52,28 mm; sedangkan konsentrasi 1% dan kontrol negatif memiliki rata-rata DDH 0 mm. Metode dilusi broth menunjukkan tidak terlihatnya kekeruhan pada konsentrasi 100% sampai 5% dan kontrol positif, sedangkan pada konsentrasi 1% dan kontrol negatif menunjukkan terlihatnya kekeruhan. Berdasarkan hasil penelitian tersebut, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol 70% buah lontar konsentrasi 100% dapat menghambat pertumbuhan bakteri Staphylococcus aureus dengan rata-rata diameter daya hambat (DDH) sebesar 15,44 mm; sedangkan konsentrasi minimum yang mampu menghambat pertumbuhan Staphylococcus aureus adalah konsentrasi 5%.

Kata Kunci: buah lontar (Borassus flabellifer), antibakteri, Staphylococcus aureus.

Negara Indonesia merupakan satu di keanekaragaman pusat terkaya di dunia, sehingga Indonesia disebut sebagai negara mega biodiversitas yang berarti mempunyai banyak keunikan keragaman genetiknya, tinggi spesiesnya, ekosistem dan endemisnya (1, 2). Flora di Indonesia diperkirakan memiliki 25% dari spesies tumbuhan berbunga yang ada di dunia atau merupakan urutan negara terbesar ketujuh dengan jumlah spesies mencapai 20.000 spesies, 40% merupakan tumbuhan endemik atau asli Indonesia (3).

Flora di Indonesia memiliki banyak manfaat, salah satunya digunakan sebagai alternatif pengobatan. Jenis tanaman obat di dunia berkisar 40.000 jenis dan disinyalir 30.000 dari total tersebut berada di

Indonesia. Jumlah tersebut mewakili 90% dari tanaman obat yang terdapat di wilayah Asia, 25% di antaranya atau sekitar 7.500 jenis sudah diketahui khasiat herbal, namun hanya 1.200 jenis tanaman yang sudah dimanfaatkan untuk bahan baku obatobatan herbal atau jamu ⁽⁴⁾.

Salah satu tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai tanaman obat adalah lontar (Borassus flabellifer). Lontar merupakan tanaman yang banyak dijumpai di Nusa Tenggara Timur (NTT). Pohon lontar tumbuh tersebar di pulau-pulau di NTT, termasuk Kota Kupang. Pohon lontar (Borassus flabellifer) merupakan salah satu jenis palma unggulan lokal yang hanya cocok tumbuh di daerah tropis, beriklim kering, di ketinggian 0 sampai 800 meter

(m) di atas permukaan laut (mdpl), bercurah hujan rendah (rata-rata 63 sampai 117 hari per tahun), bersuhu optimum 30°C, dan hidup di tanah yang mengandung pasir (5, 6, 7).

Tanaman lontar merupakan pohon serbaguna yang memiliki manfaat hampir semua bagian pohonnya. Tanaman ini sudah dibudidayakan menjadi tanaman obat di India. Salah satu aktivitas farmakologi yang terdapat dalam tanaman lontar adalah sebagai antibakteri dan bagian dari tanaman lontar yang dapat digunakan adalah buahnya ⁽⁷⁾. Buah lontar digunakan sebagai obat kulit (dermatitis) di India ⁽⁸⁾.

Penyakit kulit bisa disebabkan oleh bakteri, virus, dan jamur, namun penyebab tersering adalah bakteri. Bakteri yang menjadi patogen utama bagi manusia adalah Staphylococcus aureus. Beberapa jenis infeksi Staphylococcus aureus akan dialami hampir setiap orang sepanjang (9, 10, 11). Staphylococcus aureus merupakan bakteri komensal yang ada di kulit dan tidak menimbulkan penyakit, tetapi ketika kulit mengalami luka, maka bakteri ini akan masuk dan menyebabkan infeksi kulit yang lebih luas sehingga menimbulkan kematian (12, 13, 14, 15). Infeksi ringan yang disebabkan oleh bakteri Staphylococcus aureus adalah karbunkel, abses, dermatitis, bisul, jerawat, infeksi luka, pioderma; sedangkan infeksi berat di antaranya pneumonia, bakteremia, mastitis, septik arthritis, septikemia, meningitis dan infeksi saluran kemih (15, 16, 17, 18). Infeksi Staphylococcus aureus dapat menular jika terjadi kontak langsung dengan kulit yang terinfeksi; pemakaian handuk, pakaian, dan seprai yang belum dicuci setelah digunakan orang yang menderita infeksi kulit; pemakaian alat dandan bersama; serta tidak mencuci tangan dengan bersih (9, 13, 15, 19).

Penanganan infeksi oleh *Staphylococcus aureus* dapat dilakukan dengan pemberian antibiotik, namun pemberian obat yang tidak tepat dapat menimbulkan resistensi bakteri ⁽²⁰⁾.

Beberapa jenis antibiotik seperti penisilin, ampisilin, oksasilin, metisilin, sefoksitin, eritromisin, vankomisin, klindamisin, fucidic acid, gentamisin, dan norfloksasin sudah resisten di beberapa negara seperti negara-negara Eropa, Amerika Serikat, Jepang, Swedia, Inggris, Prancis, Belgia, dan Austria (9, 20).

Resistensi antibiotik dapat menvebabkan penvakit serius dan merupakan masalah kesehatan masyarakat yang penting karena penyakit menjadi sulit untuk diobati ⁽²⁰⁾. Berbagai penelitian telah dilakukan dan dibuktikan bahwa tanaman memang berkhasiat untuk menyembuhkan beberapa penyakit. Hal ini karena tanaman tertentu memiliki kandungan senyawasenyawa tertentu yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen manusia. Penelitian Nita Rachmawati dan Nursyamsi tahun 2015 di Palu, Sulawesi Tengah menunjukkan bahwa buah pare dava terhadap memiliki hambat pertumbuhan Staphylococcus aureus (19) Namun, belum ada penelitian di Indonesia yang meneliti tentang potensi antibakteri dari buah lontar (Borassus flabellifer) terhadap pertumbuhan bakteri Staphylococcus aureus, padahal di India dikatakan bahwa buah lontar berkhasiat untuk mengobati penyakit kulit. Oleh peneliti tertarik itu. melakukan penelitian dengan judul "Uji Potensi Antibakteri Ekstrak Etanol 70% Buah Lontar (Borassus *flabellifer*) Terhadap Pertumbuhan Staphylococcus aureus" mengetahui untuk potensi antibakteri ekstrak etanol 70% buah lontar (Borassus flabellifer) terhadap pertumbuhan Staphylococcus aureus.

METODE PENELITIAN

Penelitian eksperimental ini dilakukan di Laboratorium Riset Terpadu Biosains Universitas Nusa Cendana, Laboratorium Kimia Fakultas Sains dan Teknik, dan Laboratorium Fakultas Kedokteran Universitas Nusa Cendana. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli sampai Agustus 2018.

ALAT DAN BAHAN

Alat-alat yang akan digunakan adalah cawan petri, autoklaf, toples kaca, baskom, pipet tetes, rak dan tabung reaksi, jangka sorong, timbangan atau neraca, timbangan analitik, jarum ose, kertas saring, lampu bunsen, inkubator, *laminar air flow (LAF)*, gelas ukur, mikropipet, tabung erlenmeyer, jangka sorong, oven, *rotary evaporator, aluminium foil*, dan pisau *stainless steel*.

Bahan-bahan yang digunakan adalah media *Nutrient Broth (NB)*, *Mueller Hinton Agar (MHA)*, bakteri *Staphylococcus aureus*, buah lontar 2.000 gram, aquades, aquades steril, etanol 70%, HCl pekat, serbuk Mg, pereaksi Wagner, asam sulfat pekat, asam asetat glasial, metanol panas 50%, NaOH 1M, FeCl₃ 1%, kloroform, natrium nitrat, aluminium klorida 10%.

CARA KERJA

Pembuatan simplisia

Buah lontar dibersihkan dan diambil bagian mesocarp kemudian ditimbang seberat 2.000 gram. Buah ini dicuci dan dipotong secara melintang menggunakan pisau stainless steel dengan ketebalan \pm 3 mm dan dikeringkan dengan cara dianginanginkan selama 24 jam. Buah lontar yang sudah diangin-anginkan kemudian dioven dengan suhu 60° C selama 6-8 jam sehingga diperoleh simplisia.

Pembuatan ekstrak etanol 70% buah lontar (*Borassus flabellifer*)

Ekstrak etanol 70% buah lontar diperoleh dengan metode maserasi. Simplisia yang diperoleh ditimbang dan dimaserasi dengan etanol 70%. Kemudian, hasil maserasi diuapkan menggunakan rotary evaporator dengan suhu 40°C

hingga didapatkan ekstrak konsistensi kental.

Uji bebas etanol

Tujuan uji bebas etanol adalah untuk menghindari pengaruh etanol dimana etanol bersifat desinfektan sehingga dikhawatirkan akan mempengaruhi aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol 70% buah lontar. Uji bebas etanol dapat dilakukan dengan metode esterifikasi yaitu dengan cara ekstrak ditambahkan dengan 1 ml asam asetat glasial dan 1 ml asam sulfat pekat, lalu dipanaskan. Jika dipanaskan tidak tercium bau ester (seperti bau buah-buahan), maka ekstrak dapat dikatakan bebas etanol (21, 22).

Pengenceran ekstrak etanol 70% buah lontar (Borassus flabellifer)

Pengenceran bertujuan untuk menghasilkan beberapa konsentrasi yang akan digunakan dari ekstrak etanol 70% buah lontar yang dapat menghambat pertumbuhan Staphylococcus aureus dan zona penghambatannya. Pengenceran dibuat 100%, 75%, 50%, 25%, 5%, dan 1% dengan pengenceran bertingkat. Rumus pengenceran ekstrak adalah sebagai berikut: $V_1M_1=V_2M_2$.

Keterangan:

V₁ = Volume larutan yang akan diencerkan (ml)

M₁ = Konsentrasi ekstrak etanol 70% buah lontar yang tersedia (%)

V₂ = Volume larutan yang diinginkan (ml)

M₂ = Konsentrasi buah lontar yang akan dibuat (%)

Skrining Fitokimia

Identifikasi Alkaloid (pereaksi Wagner)

Identifikasi alkaloid dilakukan dengan memasukkan 1 ml ekstrak etanol 70% buah lontar ke dalam tabung reaksi dan tambahkan 1 tetes pereaksi *Wagner*.

Hasil positif apabila terbentuknya endapan coklat yang menandakan adanya alkaloid (21, 22, 23)

Identifikasi Flavonoid

Identifikasi flavonoid dilakukan dengan cara memasukkan 1 ml ekstrak etanol 70% buah lontar ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 1–2 ml metanol panas 50%, lalu dihomogenkan. Kemudian, ditambahkan 0,1 gram serbuk Mg dan 5 tetes larutan HCl pekat. Hasil positif bila terbentuk larutan berwarna merah atau coklat (22, 23, 24).

Identifikasi Tanin

Identifikasi tanin dilakukan dengan cara memasukkan 1 ml ekstrak etanol 70% buah lontar ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 2-3 tetes larutan FeCl₃ 1%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau kehitaman atau biru tua (22, 23).

Identifikasi Saponin

Identifikasi saponin dilakukan dengan cara memasukkan 1 ml ekstrak etanol 70% buah lontar ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 2 ml aquades steril dan dihomogenkan. Setelah itu dipanaskan selama 2-3 menit dan dinginkan. Kemudian, dikocok dengan kuat. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang stabil selama 30 detik (22, 23).

Identifikasi Triterpenoid (Uji Lieberman-Burchard)

Identifikasi Ekstrak etanol 70% buah lontar dilarutkan dalam 0,5 ml kloroform, lalu + 0,5 ml asam asetat pekat + 2 ml asam sulfat pekat. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna coklat kemerahan di permukaan larutan (23).

Sterilisasi alat

Alat yang terbuat dari kaca disterilkan dengan menggunakan autoklaf dengan tekanan 2 atm pada suhu 121°C selama 15 menit. Alat yang terbuat dari plastik disterilkan menggunakan alkohol 70%.

Pembuatan media

Pembuatan media nutrient broth (NB)

Nutrient broth (NB) dibuat dengan cara melarutkan 9,6 gram NB ke dalam 1.200 ml aquades steril dalam erlenmeyer. Larutan ini selanjutnya dipanaskan di atas kompor listrik sambil diaduk-aduk selama 10-15 menit. Kemudian, disterilkan di dalam autoklaf dengan tekanan 2 atm pada suhu 121°C selama 15 menit (25).

Pembuatan media *mueller hinton agar* (MHA)

Mueller hinton agar (MHA) ditimbang sebanyak 38 gram dan dilarutkan menggunakan 1 liter aquades. Media disterilkan dalam autoklaf dengan tekanan 2 atm pada suhu 121°C selama 15 menit, selanjutnya dimasukkan ke dalam cawan petri (patri disk) sebanyak 10 ml dan dibiarkan hingga mengeras.

Persiapan inokulum

Peremajaan dan penanaman bakteri pada lapisan pembenihan

Bakteri Staphylococcus aureus yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari BPOM Kota Kupang. Peremajaan bakteri dilakukan dengan mengambil 1 koloni bakteri dari kultur, kemudian dimasukkan ke dalam media agar miring dengan cara menggores. Selanjutnya, diinkubasi 37°C selama 24 jam. Suspensi bakteri yang telah diinkubasi diambil koloninya dari media agar miring menggunakan jarum ose steril. Koloni yang diambil, dimasukkan ke dalam *nutrient*

broth lalu disesuaikan dengan standar larutan McFarland 0,5.

Pembuatan larutan McFarland

Larutan standar McFarland dibuat dengan cara mencampur 9,95 ml asam sulfur 1% dengan 0,05 ml barium klorida 1%. Segel tabung larutan McFarland dengan wax, parafilm, atau bahan lain yang seienis untuk mencegah penguapan. Perbandingan dengan larutan standar ini dimaksudkan untuk menggantikan perhitungan bakteri satu per satu dan untuk memperkirakan kepadatan sel yang akan digunakan pada prosedur pengujian antimikroba.

Pembuatan suspensi bakteri Staphylococcus aureus

Pembuatan suspensi bakteri dilakukan dengan cara mencampurkan NaCl 0,9% dengan beberapa koloni bakteri sampai didapatkan kekeruhan yang sama dengan kekeruhan larutan standar McFarland 0,5. Jika kekeruhannya telah sama. maka menunjukkan bahwa konsentrasi suspensi bakteri adalah 1,5x10⁸ CFU/ml.

Persiapan kontrol

Pembuatan kontrol pada uji KHM

Untuk kontrol positif, ditambahkan 1 gram sefaleksin dilarutkan dalam 1 ml aquades. Sebanyak 0,5 ml larutan sefaleksin ditambahkan 0,1 ml suspensi bakteri dan ditambahkan 0,9 ml NB. Untuk kontrol negatif, sebanyak 0,9 ml NB dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 0,5 ml larutan aquades dan 0,1 ml suspensi bakteri.

Pembuatan kontrol pada uji DDH

Pembuatan kontrol positif yaitu 1 gram sefaleksin dilarutkan dalam 1ml aquades, kemudian masukkan 1 cakram kosong ke dalam larutan. Untuk kontrol negatif, hanya menggunakan aquades yang diteteskan di atas cakram kosong.

Tahap perlakuan dan pengamatan

Tahap ini dilakukan uji mikrobiologi untuk mengetahui konsentrasi hambat minimum (KHM) dan diameter daya hambat (DDH). Langkah-langkah pengerjaan masing-masing uji tersebut adalah sebagai berikut:

Uji KHM

Masing-masing tabung reaksi dimasukkan suspensi bakteri sebanyak 0,1 ml dengan menggunakan mikropipet (sesuai standar larutan *McFarland* 0,5) lalu ditambahkan 0,9 ml NB.

Inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

Amati tabung yang jernih atau tidak adanya presipitasi, bandingkan juga dengan kontrol negatif, konsentrasi terendah dinyatakan sebagai nilai KHM.

Uji DDH

Setelah biakan cair bakteri sesuai dengan larutan standar *McFarland* 0,5, jarum ose steril dicelupkan ke dalam biakan cair bakteri.

Jarum ose tersebut digoreskan pada seluruh permukaan media MHA. Prosedur dilakukan tiga kali dan putar cawan petri dengan sudut 60° setiap satu prosedur selesai untuk memastikan persebaran pertumbuhan biakan merata.

Kemudian, cawan petri didiamkan 3–5 menit pada suhu kamar tetapi tidak lebih dari 15 menit supaya media benar-benar kering. Setelah media dalam cawan petri kering, masukkan kertas cakram yang telah ditetesi ekstrak etanol 70% buah lontar dengan berbagai konsentrasi yang berbeda, kontrol positif, dan kontrol negatif, pada masing-masing media.

Media yang telah dimasukkan kertas cakram diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

Dilakukan pengamatan pada cawan petri yaitu mengamati zona hambat yang ditandai dengan adanya zona bening di sekitar kertas cakram pada media MHA. Kemudian, dilakukan pengukuran diameter zona hambat secara horizontal dan vertikal pada masing-masing media menggunakan jangka sorong.

HASIL PENELITIAN

Dalam penelitian ini sebanyak 1.150 gram simplisia buah lontar dimaserasi dalam dua liter etanol 70% selama tiga hari sambil diaduk 1–2 kali setiap hari untuk mempercepat kontak antara pelarut dan simplisia. Hasil maserasi dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* agar terjadi pemisahan antara zat aktif dan pelarut. Hasil evaporasi berupa ekstrak kental berwarna coklat sebanyak 149,07 gram.

Hasil Uji Bebas Etanol

Tabel 1. Hasil Uji Bebas Etanol Ekstrak Etanol 70% Buah Lontar

Jenis Uji	Reaksi	Interpretasi	Hasil
Uji bebas etanol	Ekstrak etanol 70% buah lontar + 1 ml asam asetat glasial + 1 ml asam sulfat pekat, lalu dipanaskan.	Dikatakan bebas etanol jika tidak tercium bau ester.	Tidak tercium bau ester.

Berdasarkan Tabel 1 di atas, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol 70% buah lontar dapat digunakan untuk pengujian potensi antibakteri karena ekstrak telah dibuktikan bebas etanol di mana etanol tidak mempengaruhi aktivitas antibakteri dari ekstrak tersebut.

Skrining Fitokimia

Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 70% Buah Lontar

No.	Golongan Senyawa	Reaksi	Interpretasi		Hasil
1.	Alkaloid (pereaksi Wagner)	Ekstrak etanol 70% buah lontar + reagen <i>Wagner</i> .	Hasil positif: terbentuk endapan coklat.	Terbentuk endapan coklat (+).	ALKALOS VANADEL
2.	Flavonoid	Ekstrak etanol 70% buah lontar + 1 ml metanol panas + serbuk Mg + HCl pekat.	Hasil positif: terbentuk warna merah atau coklat.	Terbentuk warna coklat (+).	PLAUDHOI

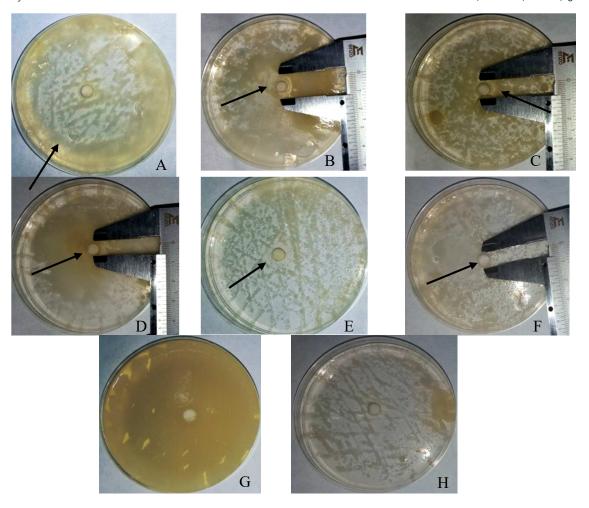
3.	Tanin	Ekstrak etanol 70% buah lontar + 3 tetes FeCl ₃ 1%.	Hasil positif: terbentuk warna hijau kehitaman atau biru tua.	Terbentuk warna hijau kehitaman (+).	1/ATMPEL
4.	Saponin	Ekstrak etanol 70% buah lontar + aquades, lalu dipanaskan → didinginkan → dikocok dengan kuat.	Hasil positif: terbentuk buih yang stabil.	Buih yang terbentuk tidak stabil.	SAPONIN SATUREL
5.	Triterpen oid (uji <i>Lieberma</i> n- <i>Burchard</i>)	Ekstrak etanol 70% buah lontar dilarutkan dalam 0,5 ml kloroform, lalu + 0,5 ml asam asetat pekat + 2 ml asam sulfat pekat.	Hasil positif: terbentuk cincin kecoklatan atau violet.	Terbentuk cincin kecoklatan.	TERPENDIA

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui adanya senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak uji. Berdasarkan Tabel 2 di atas, diketahui bahwa ekstrak etanol 70% buah lontar mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, dan triterpenoid; sedangkan senyawa saponin menunjukkan hasil negatif.

Uji Potensi Antibakteri

Hasil Pengukuran Diameter Daya Hambat (DDH)

Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol 70% buah lontar dengan menggunakan konsentrasi 100%, 75%, 50%, 25%, 5%, dan 1%, aquades sebagai kontrol negatif, dan sefaleksin sebagai kontrol positif dapat dilihat pada Gambar 1 dan Tabel 3.



Gambar 1. Diameter Daya Hambat yang ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening (anak panah) di sekitar kertas cakram pada (A) kontrol positif, (B) konsentrasi 100%, (C) konsentrasi 75%, (D) konsentrasi 50%, (E) konsentrasi 25%, dan (F) konsentrasi 5%; sedangkan pada (G) konsentrasi 1% dan (H) kontrol negatif tidak terbentuk zona bening

Tabel 3. Hasil Pengukuran Diameter Daya Hambat (DDH) Berbagai Konsentrasi Ekstrak Etanol 70% Buah Lontar Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*

Replikasi -	Diameter Daya Hambat (mm)							
	K (+)	100%	75%	50%	25%	5%	1%	K (-)
I	50,60	14,45	10	0	0	9,15	0	0*
II	53,50	13,48	0	10,25	17,83	10,05	0	0*
III	52,75	18,40	15,18	11,60	0	0	0	0*
Rata-rata	52,28	15,44	8,39	7,28	5,94	6,4	0	0*

K(+) = sefaleksin

K(-) = aquades steril

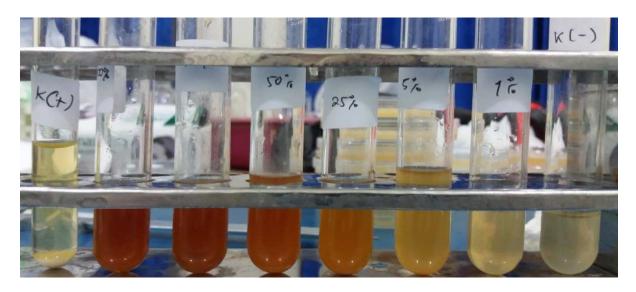
* = hanya dilakukan 1x replikasi

Berdasarkan Tabel 3 di atas, diketahui bahwa daya hambat ditemukan pada konsentrasi 5% sampai konsentrasi 100%. Zona bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram merupakan gambaran penghambatan pertumbuhan bakteri (lihat Gambar 4.2). Zona bening ini kemudian diukur diameternya. Hasil pengukuran menunjukkan bahwa tiap konsentrasi ekstrak memberikan daya hambat yang

berbeda-beda pada bakteri *Staphylococcus* aureus dalam media MHA.

Hasil Pengamatan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Hasil pengamatan konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak etanol 70% buah lontar dapat dilihat pada Gambar 2 dan Tabel 4.



Gambar 2. Hasil pengamatan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) pada A. Kontrol positif, B. Konsentrasi 100%, C. Konsentrasi 75%, D. Konsentrasi 50%, E. Konsentrasi 25%, F. Konsentrasi 5%, G. Konsentrasi 1%, dan H. Kontrol negatif

Tabel 4. Hasil Pengamatan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Berbagai Konsentrasi Ekstrak Etanol 70% Buah Lontar Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*

Replikasi	Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)							
	K (+)	100%	75%	50%	25%	5%	1%	K (-)
I	_	_	_	_	_	_	+	+
II	_	_	_	_	_	_	+	+
III	_	_	_	_	_	_	+	+

Keterangan: K (+) = sefaleksin K (-) = aquades steril

+ = ada pertumbuhan bakteri

= tidak ada pertumbuhan bakteri

Berdasarkan data di atas, diketahui bahwa pertumbuhan bakteri ditemukan pada kontrol negatif dan konsentrasi 1%; sedangkan pada kontrol positif konsentrasi 100%, 75%, 50%, 25%, dan 5% tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri.

PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan ekstrak etanol 70% buah lontar (Borassus flabellifer). Skrining fitokimia yang dilakukan terhadap ekstrak etanol 70% buah lontar bertujuan untuk mengetahui

adanya senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, tanin, saponin,dan triterpenoid dalam ekstrak uji. Skrining fitokimia yang dilakukan bersifat kualitatif dimana hanya melihat ada tidaknya senyawa metabolit sekunder dari perubahan warna vang terbentuk. Hasil skrining fitokimia pada ekstrak etanol 70% buah lontar menunjukkan bahwa ekstrak uji mengandung alkaloid, flavonoid, tanin, dan triterpenoid; sedangkan untuk senyawa saponin menunjukkan hasil negatif. Hasil ini berbeda dengan penelitian dilakukan oleh P. Saranya tahun 2016 berjudul "Preliminary Phytochemical Screening of Raw and Thermally Processed Palmyra Palm (Borassus flabellifer Linn.) Fruit Pulp" (32). Penelitian ini bertujuan untuk menyaring fitokimia yang berbeda termasuk alkaloid, flavonoid, terpena, glikosida, saponin, fenolat. tanin. karbohidrat, protein, steroid, dan sterol dari ekstrak air dan metanol dari buah lontar mentah yang diolah secara termal. Hasilnya, semua komponen tersebut didapatkan dalam jumlah yang sangat banyak, kecuali protein (23). Kandungan metabolit sekunder yang terdapat dalam tumbuhan berbeda-beda dipengaruhi oleh faktor lingkungan. Metabolit sekunder berfungsi untuk mempertahankan diri dari kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan, misalnya untuk mengatasi hama dan penyakit.

Ekstrak etanol 70% buah lontar juga dilakukan uji bebas etanol untuk mengetahui apakah ekstrak mengandung etanol atau tidak. Uji bebas etanol dilakukan dengan metode esterifikasi. Uji ini perlu dilakukan agar tidak terjadi positif palsu saat dilakukan uji potensi antibakteri karena etanol memiliki sifat sebagai etanol desinfektan. Hasil uii bebas menunjukkan ekstrak uji tidak mengandung etanol.

Pengujian potensi antibakteri pada penelitian ini menggunakan enam kelompok konsentrasi yang terdiri dari konsentrasi 100%, 75%, 50%, 25%, 5%, dan 1%; kontrol positif menggunakan sefaleksin; dan kontrol negatif menggunakan aquades steril. Semua kelompok perlakuan dilakukan tiga kali replikasi.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, ekstrak etanol 70% buah lontar konsentrasi 100% memiliki potensi sebagai antibakteri karena dapat menghambat Staphylococcus pertumbuhan bakteri aureus. Hal ini ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambat untuk pengujian bakteri dengan metode difusi dan tidak terlihat kekeruhan untuk pengujian dengan metode dilusi. Metode difusi menunjukkan setiap kelompok perlakuan menghasilkan daya hambat yang berbeda-beda pada media MHA. DDH yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong horizontal dan vertikal. Beberapa positif konsentrasi dan kontrol menghasilkan hambat zona yang menunjukkan adanya daya hambat terhadap bakteri Staphylococcus aureus. Rata-rata DDH pada konsentrasi 100% sebesar 15,44 mm; konsentrasi 75% sebesar 8,39 mm; konsentrasi 50% sebesar 7,28 mm; konsentrasi 25% sebesar 5,94 mm: konsentrasi 5% sebesar 6,4 mm; dan kontrol positif sebesar 52.28 sedangkan konsentrasi 1% dan kontrol negatif memiliki rata-rata DDH 0 mm. Suatu bahan dapat dikatakan memiliki aktivitas antibakteri apabila DDH yang terbentuk lebih besar atau sama dengan 10 mm ⁽²⁶⁾. Hasil penelitian pada konsentrasi 100% menunjukkan rata-rata DDH sebesar 15,44 mm. Berdasarkan hasil uji post hoc Mann-Whitney diketahui bahwa konsentrasi 100% memiliki potensi antibakteri karena menunjukkan perbedaan bermakna dengan kontrol positif dan kontrol negatif yaitu p = 0,050 dan p = 0,037 meskipun potensi antibakteri yang dimiliki buah lontar tidak sekuat kontrol positif yaitu sefaleksin. Konsentrasi 75% hingga 1% tidak memiliki antibakteri aktivitas karena tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna dengan kontrol negatif dengan nilai p > 0.05 yaitu p = 0.121 dan p = 1.00.

Metode dilusi yang dilakukan di medium nutrient broth (NB) menunjukkan tidak terlihatnya kekeruhan konsentrasi 100% sampai 5% dan kontrol positif, sedangkan pada konsentrasi 1% dan kontrol negatif menunjukkan terlihatnya kekeruhan. Kekeruhan menggambarkan adanya pertumbuhan bakteri, sehingga semakin keruh berarti semakin banyak bakteri yang tumbuh. Kekeruhan yang tidak terlihat pada konsentrasi 100% sampai 5% menunjukkan bahwa tidak adanva pertumbuhan bakteri. Hal ini berarti ekstrak etanol 70% buah lontar mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan konsentrasi minimumnya adalah 5%.

Diameter daya hambat (DDH) yang terbentuk menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% buah lontar memiliki potensi sebagai antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri Staphylococcus aureus. Hal ini terjadi karena buah lontar memiliki senyawa metabolit sekunder yang berfungsi sebagai antibakteri seperti alkaloid, flavonoid, tanin, dan triterpenoid. Mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri yaitu dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (27). Flavonoid dapat menghambat sintesis asam menghambat fungsi membran sel, dan menghambat metabolisme energi dari bakteri sehingga menyebabkan kematian bakteri. Mekanisme kerja antibakteri tanin mempunyai dava antibakteri dengan memprepitasi protein. Efek antibakteri tanin melalui reaksi dengan membran sel, inaktivasi enzim, dan inaktivasi fungsi materi genetik (27). Tanin juga mempunyai target pada polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna. Hal ini menyebabkan sel bakteri menjadi lisis karena tekanan osmotik maupun fisik sehingga sel bakteri akan mati (28). Triterpenoid berfungsi sebagai antibakteri yaitu bereaksi dengan protein transmembran pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya protein transmembran. Hal ini menyebabkan berkurangnya permeabilitas membran sel bakteri yang mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati ⁽²⁹⁾.

Penelitian ini menggunakan aquades steril sebagai kontrol negatif dan sefaleksin sebagai kontrol positif. Aquades steril digunakan sebagai kontrol negatif karena aquades steril tidak memiliki potensi sebagai antibakteri, dibuktikan dengan DDH vang terbentuk adalah 0 mm dan kekeruhan pada adanya uji KHM. Sefaleksin digunakan sebagai kontrol positif karena sefaleksin merupakan antibiotik golongan sefalosporin yang terhadap bakteri Gram-positif seperti Staphylococcus aureus. Sefaleksin memiliki DDH yang besar pada penelitian ini. Hal ini ditunjukkan dengan rata-rata daya hambatnya 52,28 mm. Uji KHM juga diketahui bahwa tidak terlihat kekeruhan yang berarti tidak adanya pertumbuhan bakteri pada kontrol positif sefaleksin.

KESIMPULAN

- 1. Ekstrak etanol 70% buah lontar konsentrasi 100% (Borassus flabellifer) telah dibuktikan memiliki potensi antibakteri terhadap pertumbuhan Staphylococcus aureus dengan DDH sebesar 15,44 mm (≥10 mm).
- 2. Perbedaan signifikan terdapat pada konsentrasi 100% dengan konsentrasi konsentrasi 100% dengan konsentrasi 5%, konsentrasi 100% dengan konsentrasi 1%, konsentrasi 100% dengan kontrol negatif, konsentrasi 100% dengan kontrol positif, dan kontrol positif dengan kelompok semua perlakuan; sedangkan pada konsentrasi yang lain tidak terdapat perbedaan vang bermakna.

3. Konsentrasi minimal yang mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* terdapat pada konsentrasi 5%.

SARAN

- 1. Perlu dilakukan skrining fitokimia secara kuantitatif terhadap ekstrak buah lontar.
- 2. Perlu dilakukan pembuatan ekstrak dengan metode ekstraksi lainnya dan menggunakan pelarut yang berbeda.
- 3. Perlu dilakukan penelitian ekstrak etanol 70% buah lontar dengan rentang konsentrasi yang lebih kecil.
- 4. Perlu dilakukan penelitian terhadap kulit biji, bunga dan akar dari lontar sebagai antimikroba.
- 5. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut ekstrak buah lontar terhadap bakteri gram negatif dan jamur atau bakteri gram positif lainnya.
- 6. Perlu dilakukan identifikasi ulang bakteri dari kultur murni.

DAFTAR PUSTAKA

- 1. Sutoyo. 2010. Keanekaragaman hayati indonesia suatu tinjauan: masalah dan pemecahannya. *Buana Sains*. 10(2):101-106.
- 2. Sutarno, Setyawan AD. 2015. Biodiversitas indonesia: penurunan dan upaya pengelolaan untuk menjamin kemandirian bangsa. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon*. 1(1):1-13.
- 3. Kusmana C, Hikmat A. 2015. The biodiversity of flora in indonesia. *JPSL*. 5(2):187-199.
- 4. Salim Z, Munadi E. 2017. Info komoditi tanaman obat. Jakarta:

- Badan Pengkajian dan Pengembangan Perdagangan Kementerian Perdagangan Republik Indonesia. 1-2,10-11.
- 5. Sukamaluddin, Mulyadi, Dirawan GD, Amir F, Pertiwi N. 2016. Conservation status of lontar palm trees (*Borassus flabellifer* Linn) in Jeneponto District, South Sulawesi, Indonesia. *Journal of Tropical Crop Science*. 3(1):28-33.
- 6. Nuroniah, Hani Sitti, dkk. 2010. Lontar (*Borassus flabellifer*) sebagai sumber energi bioetanol potensial. Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan Kementerian Kehutanan Bogor. 1-19.
- 7. Gummadi, Veda Priya, Ganga R. B., Keerthana Diyya M. S., & Kiran M. 2016. A review on palmyra palm (Borassus flabellifer). International Journal of Current Pharmaceutical Research. 8(2):17-20. diakses 11 April 2018. Tersedia di http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
- 8. Alamelumangai, Muthukumar, Jothi D., Manohar M., Rajasingh S. R., Peraman M., & Nachimuthu S. 2014. In vitro studies on phytochemical evaluation and antimicrobial activity of *Borassus flabellifer* Linn against some human pathogens. *Asian Pasific Journal of Tropical Medicine*. 7(1):S182-S185. doi: 10.1016/S1995-7645(14)60228-5
- 9. Brooks, Geo F., et al. 2007. Jawetz, Melnick, & Adelberg Mikrobiologi Kedokteran (edisi 23). Jakarta: EGC. h.194-200.
- 10. World Health Organization. 12Januari 2017. The top causes of death. diakses 12 April 2018.Tersedia di

- http://www.who.int/mediacentre/facts heets/fs/310/en/
- 11. Dinas Kesehatan Kota Kupang. 2017. Profil Kesehatan Kota Kupang Tahun 2016. diakses 11 April 2018. Tersedia di http://dinkes.kotakupang.web.id/bank-data/category/10-profil-kesehatan-kota-kupang-tahun-2016.html
- 12. Lacey, Keenan A., et al. 2016. Review: The role of Staphylococcus aureus virulence factors in skin infection and their potential as vaccine antigens. MDPI. 5(22):1-17. doi: 10.3390/pathogens5010022
- 13. Ryu, Sunhyo, *et al.* 2014. Review: Colonization and infection of the skin by *S. aureus*: immune system evasion and the response to cationic antimicrobial peptides. International Journal of Molecular Sciences. 15:8753-8772. doi: 10.3390/ijms15058753
- 14. Staphylococcus aureus infections (community acquired). 2014. Acute Communicable Diseases. h.1-3.
- 15. Graham-Brown, Robin & Tony Burns. 2005. *Lectures Note on Dermatology* (M. Anies Zakaria, Trans.). Amalia Safitri (Ed.) Jakarta: Erlangga. h.20-21.
- Jiamton, Sukhum, Chinmanat T., & Kanokvalai K. 2012. Clinical features and aggravating factors in nummular eczema in Thais. Asian Pasific Journal Allergy Immunology. 31:36-42.
- 17. Ardhie, Ari Muhandari. 2004. Dermatitis dan peran steroid dalam penanganannya. *Dexa Media*. 17(4):157-163.

- 18. Poudel, R. R., Bipin Belbase, & Nisha K. K. 2015. Nummular eczema. Journal of Community Hospital Internal Medicine Perspectives. 5:27909. http://dx.doi.org/10.3402/jchimp.v5.2
- 19. Rachmawati, Nita & Nursyamsi. 2015. Efek antibakteri ekstrak etanol buah pare (Momordica charantia) terhadap pertumbuhan Staphylococcus aureus pada media pembenihan difusi. Medika Tadulako: Jurnal Ilmiah Kedokteran. 2(1):1-9.
- 20. Resistensi Antibiotik. 2012. diakses 19 April 2018. Tersedia di http://www.rsmargono.go.id/home/beritadetail/3
- 21. Raymon M, Taebe B, Ali A, Khairuddin. 2016. Uii aktivitas antibakteri ekstrak buah sawo manila (Achras zapota L.) dengan berbagai cairan penyari terhadap Salmonella tvphimurium. Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences. 1(1):8.
- 22. Minarno, Eko Budi. 2015. Skrining fitokimia dan kandungan total flavonoid pada buah Carica pubescens lene & k. koch di kawasan bromo, cangar, dan dataran tinggi dieng. El-Hayah. 5(2):73-82.Saranya, P. & T. Poongodi Vijayakumar. 2016. Preliminary phytochemical screening of raw and thermally processed palmyra palm (Borassus flabellifer linn.) fruit pulp. Journal Innovations in Pharmaceuticals and Biological Sciences. 3(1):186-193. diakses 11 April 2018. Tersedia di www.jipbs.com
- 23. Saranya, P. & T. Poongodi Vijayakumar. 2016. Preliminary phytochemical screening of raw and

- thermally processed palmyra palm (Borassus flabellifer linn.) fruit pulp. Journal of Innovations in Pharmaceuticals and Biological Sciences. 3(1):186-193. diakses 11 April 2018. Tersedia di www.jipbs.com
- 24. Minarno, Eko Budi. 2015. Skrining fitokimia dan kandungan total flavonoid pada buah *Carica pubescens* lene & k. koch di kawasan bromo, cangar, dan dataran tinggi dieng. *El-Hayah*. 5(2):73-82.
- 25. Retnowati Y, Bialangi N, Posangi NW. 2011. Pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada media yang diekspos dengan infus daun sambiloto (*Andrographis paniculata*). 6(2):1-9.
- 26. Wijaya TD. 2016. Aktivitas antibakteri ekstrak *Chorella sp.* dan *Spirulina sp.* terhadap bakteri patogen

- susu segar.Institut Pertanian Bogor. hal.7
- 27. Adnyana, I Ketut, Elin Y. S., & Wenny Indriasari. 2012. Uji efek anti-artritis reumatoid fraksi air buah siwalan (*Borassus flabellifer L.*) pada tikus yang diinduksi *complete freund's adjuvants*. 2(1):53-61.
- 28. Rijayanti, Rika Pratiwi. 2014. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun mangga bacang (Mangifera foetida L.) terhadap Staphylococcus aureus secara in vitro. [Skripsi: Naskah Publikasi]. Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura Pontianak. h.1-18.
- 29. Widiyati E. 2006. Penentuan adanya senyawa triterpenoid dan uji aktivitas biologis pada beberapa spesies tanaman obat tradisional masyarakat pedesaan bengkulu. 2(1):116-122