

Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Pala Papua dan Daun Ketepeng Cina Terhadap Pertumbuhan *Shigella Dysenteriae*

Ezra Pasaribu^{1*}, Exaudian F. Lerebulan², Sahrul Gunawan³, Nimrot Alfian Kaaf⁴

^{1,2,3,4} Program Studi Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Papua, Indonesia

Open Access Freely Available Online

Dikirim: 25 April 2026

Direvisi: 29 April 2026

Diterima: 30 April 2026

*Penulis Korespondensi:

E-mail:

ezrapasaribu449@gmail.com

ABSTRAK

Shigella dysenteriae merupakan bakteri patogen penyebab disentri basiler yang dapat menimbulkan diare akut, dehidrasi, bahkan kematian terutama pada anak-anak dan individu dengan sistem imun lemah. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kandungan kimia ekstrak etanol daging buah pala (*Myristica argentea warb*) dan daun ketepeng cina (*Cassia alata* L.), menguji kemampuan kombinasi ekstrak tersebut dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* secara in vitro, serta menentukan konsentrasi kombinasi yang paling efektif. Jenis penelitian Eksperimen murni dengan metode difusi cakram (*Kirby-Bauer*). Ekstrak diperoleh melalui metode maserasi etanol 70% kemudian diuji pada berbagai konsentrasi tunggal (100%) dan kombinasi (30%;70%, 50%;50%,70%;30%). Kontrol positif yang digunakan adalah *ciprofloxacin*, sedangkan kontrol negatif adalah aquadest. Aktivitas antibakteri dinilai melalui pengukuran diameter zona hambat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daging buah pala dan daun ketepeng cina mengandung senyawa aktif seperti alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, fenolik, dan triterpenoid yang berperan sebagai antibakteri. Kombinasi ekstrak terbukti dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae*. Konsentrasi kombinasi paling efektif adalah 50%;50% dengan rata-rata diameter zona hambat 18,5 mm (kategori kuat). Kesimpulan dari penelitian ini adalah Kombinasi ekstrak etanol daging buah pala dan daun ketepeng cina memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Shigella dysenteriae* secara in vitro, dengan konsentrasi kombinasi 50%;50% sebagai konsentrasi paling efektif.

Kata kunci: Daya Hambat, Pala, Ketepeng Cina, *Shigella Dysenteriae*

ABSTRACT

Shigella dysenteriae is a pathogenic bacterium that causes bacillary dysentery, leading to acute diarrhea, dehydration, and even death, especially in children and immunocompromised individuals. This study aimed to identify the phytochemical constituents of ethanol extracts of nutmeg fruit flesh (*Myristica argentea Warb.*) and ketepeng cina leaves (*Cassia alata* L.), evaluate the antibacterial activity of their combination against *Shigella dysenteriae* in vitro, and determine the most effective concentration. This research used a true experimental design with the disc diffusion (*Kirby-Bauer*) method. Extracts were obtained by maceration using 70% ethanol and tested at a single concentration (100%) and in combinations (30%:70%, 50%:50%, and 70%:30%). *Ciprofloxacin* served as the positive control, while distilled water was used as the negative control. Antibacterial activity was determined by measuring inhibition zone diameters. The results showed that the extracts contain alkaloids, flavonoids, tannins, saponins, phenolics, and triterpenoids. The combination extracts inhibited bacterial growth, with the 50%:50% concentration showing the strongest activity, producing an average inhibition zone of 18.5 mm. In conclusion, the combination exhibits significant antibacterial activity against *Shigella dysenteriae* in vitro, with the 50%:50% concentration being the most effective.

Keywords: Inhibition activity, Nutmeg, *Cassia alata*, *Shigella dysenteriae*

PENDAHULUAN

Disentri merupakan diare akut yang ditandai dengan tinja cair yang mengandung lendir dan

darah, disertai gejala klinis seperti nyeri perut dan demam, yang disebabkan oleh infeksi *Shigella dysenteriae* (Chrismasyanti et al., 2020). *Shigella*

dysenteriae adalah bakteri penyebab infeksi terutama di saluran pencernaan. Bakteri gram negatif ini berbentuk batang, tidak berflagel, tidak berspora, dan dapat hidup dalam usus manusia. Toksin yang dihasilkan menyebabkan diare cair di awal yang disertai muntah, kemudian feses yang disertai nanah dan darah. Penyebaran *Shigella dysenteriae* mudah terjadi melalui makanan, feses, tangan, dan alat yang hinggap di feses penderita, kemudian menularkan bakteri ini saat alat hinggap pada makanan, tangan, atau peralatan makan (Sutton, 2011).

Pala Papua (*Myristica argentea warb*) merupakan tanaman perkebunan rempah-rempah yang berbentuk lonjong dan sering disebut dengan pala negeri. Penelitian sebelumnya menyatakan bahwa daging buah Pala Fakfak berpotensi sebagai antioksidan yang ditandai dengan adanya kandungan fenol (Suloi et al., 2023). Beberapa penelitian daerah. Tumbuhan ini memiliki kandungan zat antimikrobal yang bersifat fungistatik dengan cara menghambat pertumbuhan jamur (Hujjatusnaini, 2008). Kandungan kimia dalam ketepeng cina antara lain alkaloid, saponin, flavonoid, tanin dan antrakuinon (Sarkar et al., 2014).

METODE

Penelitian dengan metode eksperimental murni, dengan rancangan pada metode difusi cakram (*Kirby Bauer*). Metode difusi cakram (*Kirby Bauer*) dapat digunakan untuk mengetahui zona hambat yang dapat dibentuk oleh suatu aktivitas antibakteri. Tujuan penelitian ini, untuk mengetahui daya hambat kombinasi ekstrak etanol daging buah pala (*Myristica argentea warb.*) dan daun ketepeng cina (*Cassia alata* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* secara *in vitro*. Penelitian dilakukan di Laboratorium Terpadu dan Teknologi Laboratorium Medis, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan (STIKES) Papua.

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah pala (*Myristica argentea warb*) diambil dari buah yang setengah matang, yaitu buah yang berwarna kuning kehijauan dengan bintik-bintik cokelat, hanya bagian daging buah yang digunakan. Pada daun ketepeng cina (*Cassia alata* L.). diambil dari bagian tengah cabang, dimana daun yang digunakan adalah daun yang sudah tua dengan warna hijau tua pekat.

Daging buah pala dan daun ketepeng cina diekstrak secara maserasi menggunakan etanol 70%. Ekstrak kental yang diperoleh dilakukan uji skrining fitokimia. Uji daya hambat antibakteri dilakukan dengan metode *kirby Bauer* terhadap

bakteri *Shigella dysenteriae*. Kontrol positif yang digunakan adalah ciprofloxacin 500 mg tablet sedangkan kontrol negatif yang digunakan adalah aquadest. Uji daya hambat yang diperoleh dapat dilihat dengan ada atau tidaknya zona bening yang terbentuk disekitar *paperdisc* pada masing-masing kelompok perlakuan. Apabila terlihat zona bening pada sekitar *paperdisc* maka terdapat daya hambat yang dihasilkan pada masing-masing kelompok perlakuan, sedangkan jika tidak terlihat zona bening di sekitaran *paperdisc* maka tidak terdapatnya daya hambat yang dihasilkan untuk masing-masing kelompok perlakuan.

Hasil uji yang didapat dianalisis menggunakan uji *One Way Anova* untuk mengetahui perbedaan daya hambat pertumbuhan bakteri dengan kelompok perlakuan, dan uji *Least Significant Difference* (LSD) digunakan untuk mengetahui perbedaan antar masing-masing kelompok perlakuan. Data yang didapat kemudian dianalisis secara statistik.

Pembuatan Ekstrak Etanol Daging Buah Pala Dan Daun Ketepeng Cina

Pengambilan buah pala dan daun ketepeng cina dilakukan dengan cara memetik buah pala yang setengah matang, yaitu buah yang berwarna kuning kehijauan dengan bintik-bintik cokelat, dan hanya diambil daging buahnya saja. Sedangkan daun ketepeng cina yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun yang sudah tua, dengan warna daun hijau tua pekat. Kemudian buah Pala dan daun Ketepeng Cina yang sudah dipetik hanya diambil sebanyak 6 kg. Dilanjutkan dengan penyortiran basah, pencucian, pengeringan dilakukan pengeringan dengan diangin-anginkan, penyortiran kering. Kemudian di *blender* agar simplisianya lebih halus dan mudah larut. Serbuk simplisia yang diperoleh kemudian dimaserasi dengan cara merendam simplisia dalam pelarut etanol 70%. Saring hasil maserasi pertama, kumpul fitratnya, residu dari penyaringan dimaserasi lagi untuk mendapatkan hasil maserasi kedua. Seluruh hasil maserasi digabungkan dan diuapkan sehingga diperoleh ekstrak kental dari daging buah pala dan daun ketepeng cina.

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia yang dilakukan meliputi uji alkaloid, flavonoid, fenolik, saponin, tanin, triterpenoid.

Uji Alkaloid

Sebanyak 2-3 tetes ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambah dengan 5 tetes NH_3 pekat. Setelah itu, ditambahkan H_2SO_4 2N dan dikocok hingga terbentuk 2 lapisan. Larutan dibagi

menjadi 2 bagian, pada tabung pertama ditambahkan 3 tetes pereaksi Mayer, tabung kedua ditambahkan 3 tetes pereaksi Dragendroff. Adanya alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan.

Uji Flavonoid

Ekstrak ditambahkan dengan 100 mL air panas, dididihkan selama 5 menit, kemudian disaring. Filtrat sebanyak 5 mL ditambahkan 0,05 mg serbuk Mg dan 1 mL HCl pekat, kemudian dikocok kuat-kuat. Uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga (Najoan & Jeli, 2016).

Uji Fenolik

FeCl₃ 1% sebanyak 10 tetes di tambahkan pada ekstrak. Hasil positif ditunjukkan dengan perubahan warna menjadi hijau, merah, ungu, biru atau hitam pekat (Najoan & Jeli, 2016).

Uji Saponin

Ekstrak sebanyak 0,5 g ditambahkan dengan 10 mL aquadest sambil ditambahkan 2 tetes HCl 1 N, dan dikocok kuat. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang stabil (Najoan & Jeli, 2016).

Uji Tanin

Uji tanin pada penelitian ini menggunakan FeCl₃ dimana ekstrak ditambahkan dengan 2 tetes FeCl₃ 1%. Hasil positif senyawa tanin akan menghasilkan warna hijau kehitaman atau biru tua (Surjowardojo et al., 2015).

Uji Triterpenoid

Ekstrak sebanyak 0,5 g ditambahkan CH₃COOH glasial sebanyak 10 tetes dan H₂SO₄ pekat sebanyak 2 tetes. Larutan dikocok perlahan dan biarkan selama beberapa menit. Steroid memberikan warna biru atau hijau, sedangkan triterpenoid memberikan warna merah atau ungu (Najoan & Jeli, 2016).

Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian disterilkan terlebih dahulu sesuai dengan cara sterilisasi. Alat-alat disterilkan dengan *autoklaf* pada suhu 121°C selama 15 menit. Alat-alat yang sudah disterilkan kemudian didiamkan terlebih dahulu sampai mencapai suhu kamar serta dalam keadaan kering (Urhamidin et al., 2021).

Pembuatan Media Miring Nutrient Agar (NA)

Nutrient Agar (NA) sebanyak 3 g dilarutkan dalam 100 mL aquades menggunakan erlenmeyer. Setelah itu di homogenkan di atas penangas air sampai mendidih. Sebanyak 3 mL dituangkan masing-masing pada 3 tabung reaksi steril dan ditutup dengan aluminium foil. Media tersebut

disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, kemudian dibiarkan pada suhu ruangan selama 25 menit sampai media memadat pada kemiringan 30°C. Media agar miring digunakan untuk inokulasi bakteri (Urhamidin et al., 2021).

Pembiakan Bakteri *Shigella Dysenteriae*

Pembiakan bakteri dilakukan dengan cara mengambil isolat murni bakteri dengan ose, kemudian digoreskan merata secara zig-zag pada media miring Nutrient agar yang telah disiapkan pada prosedur sebelumnya. Selanjutnya diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam, lalu diamati apakah bakteri *Shigella dysenteriae* murni telah tumbuh. Jika pertumbuhan bakteri ini tidak tumbuh dan terjadi kontaminasi bakteri lain, maka prosedur pembiakan bakteri dan pengamatan diulang kembali (Siregar, 2009).

Pewarnaan Bakteri Uji

Preparat apusan dibuat dengan menginokulasikan satu ose koloni pada gelas objek yang sudah ditetesi dengan aquadest steril kemudian digeser-geserkan hingga membentuk lingkaran seperti uang logam. Preparat kemudian dialirkan diatas api bunsen hingga air mengering. Preparat apusan yang sudah dibuat kemudian ditetesi dengan pewarna dasar kristal violet, dikeringkan dan amati dibawah mikroskop dengan perbesaran kuat menggunakan minyak biarkan 1-2 menit lalu dicuci kelebihan pewarnaan dengan air mengalir secara hati-hati. Apusan ditetesi dengan lugol atau iodine, biarkan 1-2 menit dibuang kelebihan reagen, jangan dicuci dengan air lalu direndam apusan dalam alkohol 96% selama 30 detik dan dicuci apusan dengan air mengalir secara hati-hati kemudian diwarnai dengan safranin didiamkan selama 1 menit sebagai pewarna pembanding lalu dicuci kembali safranin yang berlebihan dengan air mengalir dan langkah terakhir preparat yang sudah dicuci imersi. Setelah diamati bakteri gram positif akan berwarna ungu dan bakteri gram negatif akan berwarna merah (Brown & Smith, 2011).

Pembuatan Media Agar *Mueller Hinton*

Media bakteri dibuatkan terlebih dahulu sebelum dilakukan pembiakan bakteri. Media ini sebagai tempat untuk membiakan bakteri yang akan diuji dan untuk melakukan uji aktivitas antibakteri. Pembuatan media uji *Mueller Hinton* dilakukan dengan mencampurkan 10 g serbuk *Mueller Hinton* dalam 200 mL aquadest kemudian dipanaskan pada suhu 80°C dan diaduk sampai homogen. Media agar *Mueller Hinton* bisa

diangkat apabila sudah berwarna jernih. Setelah disterilkan, media disimpan di dalam kulkas. Jika akan digunakan, dipanaskan kembali hingga mendidih lalu dituangkan ke dalam cawan petri dan ditunggu sampai dingin. Media *Mueller Hinton* pada cawan petri yang digunakan untuk menguji aktivitas antibakteri berisi masing-masing 5 ml (Sari & Asri, 2022).

Penyediaan Kontrol Positif

Ciprofloxacin 10 mg serbuk dimasukkan ke dalam gelas ukur dan dilarutkan dengan aquadest sampai 10 mL sehingga didapatkan konsentrasi 100 %.

Penyediaan kontrol negatif

Kontrol negatif digunakan aquadest steril 10 mL.

Pembuatan Konsentrasi Tunggal Dan Kombinasi Ekstrak Daging Buah Pala (*Myristica argentea warb*) dan Daun Ketepeng Cina (*Cassia alata L.*)

Konsentrasi ekstrak etanol daging buah pala (*Myristica argentea warb*) dan daun ketepeng cina (*Cassia alata L.*) yang digunakan adalah 100%. Konsentrasi tersebut dibuat dengan cara pengenceran ekstrak cina (*Cassia alata L.*) pekat (100%) dengan aquadest menggunakan presentase % (b/v) yang dapat ditentukan melalui rumus berikut :

$$\% = b/v \times 100.$$

Keterangan :

% : Variasi konsentrasi Ekstrak

b : Bobot ekstrak kental (100%).

v : Volume total pengenceran dengan aquadest.

Variasi konsentrasi uji adalah sebagai berikut:

1. Konsentrasi tunggal 100% disiapkan dengan mencampurkan 10 gram ekstrak kental dan ditambahkan dengan aquadest steril hingga volume 10 ml lalu dihomogenkan.
2. Konsentrasi Kombinasi 30%;70% disiapkan dengan mencampurkan 3 gram ekstrak kental daging buah pala dan 7 gram ekstrak kental daun ketepeng cina (100%) dan ditambahkan dengan aquadest hingga volume 10 ml lalu dihomogenkan.
3. Konsentrasi kombinasi 50%;50% disiapkan dengan mencampurkan 5 gram ekstrak kental daging buah pala dan 5 gram ekstrak kental daun ketepeng cina (100%) dan ditambahkan dengan aquades hingga volume 10 ml lalu dihomogenkan.
4. Konsentrasi kombinasi 70%;30% disiapkan dengan mencampurkan 7 gram ekstrak kental daging buah pala dan 3 gram ekstrak kental

daun ketepeng cina (100%) dan ditambahkan dengan aquades hingga volume 10 ml lalu dihomogenkan.

Uji daya hambat antibakteri

Urutan prosedur kerja untuk uji konsentrasi efektif daya hambat antibakteri ekstrak daging buah pala dan daun ketepeng cina sebagai berikut :

1. Masing-masing kertas cakram kosong direndam ke dalam masing-masing kelompok perlakuan, yaitu konsentrasi tunggal 100%, Kombinasi 30%;70%, 50%;50%, 70%;30%, kontrol positif (*Ciprofloxacin*) dan kontrol negatif (*Aquadest*).
2. Sebanyak 1-2 ose dari biakan murni bakteri yang berhasil tumbuh disuspensikan dengan menggunakan larutan NaCl 0,9% sampai diperoleh jumlah koloni yang diinginkan yaitu 1×10^8 sel/mL yang dapat dibandingkan dengan standar *Mc. Farland* 0,5. Kekeruhan *Mc Farland* 0,5 setara dengan $1,5 \times 10^8$ CFU/mL. Larutan *Mc. Farland* 0,5 dibuat dengan cara 0,05 mL barium klorida ($BaCl_2$) 1% dalam akuades ditambahkan 9,95 mL asam sulfat (H_2SO_4) 1%, kemudian dikocok dan disimpan pada tempat yang terhindar dari cahaya matahari langsung (Sutton, 2011).
3. *Shigella dysenteriae* yang telah disuspensikan diambil dengan *cotton bud* steril lalu dioleskan secara merata pada permukaan cawan petri yang berisi media agar *Mueller Hinton* yang telah dibuat sebelumnya dan dibiarkan dalam inkubator selama 15 menit.
4. Masing-masing kertas cakram yang telah direndam di dalam masing-masing kelompok perlakuan selama 15 menit diletakkan disetiap area pada masing-masing cawan petri. Kemudian cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.
5. Setelah 24 jam, cawan petri dikeluarkan dan dilihat daya hambat yang terjadi pada setiap cakram dan diukur zona bening dengan jangka sorong.

HASIL

Hasil rendemen pengeringan daging buah pala dan daun ketepeng cina bobot basah daging buah pala yang diperoleh adalah 3,3 kg, setelah dikeringkan, bobot kering yang diperoleh adalah 850 g. Setelah dihaluskan diperoleh serbuk halus daging buah pala sebesar 380 g. Sedangkan daun ketepeng cina bobot basah yang diperoleh adalah 3,2 kg, setelah dikeringkan bobot kering yang diperoleh adalah 835 g. Setelah dihaluskan,

diperoleh serbuk halus daun ketepeng cina sebesar 350 g.

Tabel 1

Hasil Pengeringan Daging Buah Pala (*Myristica argentea warb*) Dan Daun Ketepeng Cina (*Casia alata* L.)

Simplisia	Bobot Basah (gram)	Bobot Kering (gram)	Rendemen (%)
Daging Buah Pala	3.325	850	25,57
Daun Ketepeng Cina	3.265	835	25,58

Berdasarkan tabel 1 diatas Hasil pengeringan daging buah pala yang diperoleh dalam penelitian ini adalah 25,57%, dan hasil pengeringan daun ketepeng cina yang diperoleh dalam penelitian ini adalah 25,58%.

Hasil Pembuatan Ekstrak Daging Buah Pala Dan Daun Ketepeng Cina

Serbuk daging buah pala dan daun ketepeng cina yang diperoleh dilarutkan dalam etanol 70% dan dilakukan maserasi 2x24 jam. Sesudah 2x24 jam, hasil maserasi disaring, filtrat ditampung ke dalam wadah kaca. Residu dari

penyaringan dimaserasi lagi untuk mendapatkan hasil maserasi kedua. Hasil maserasi digabung dan dilakukan penguapan menggunakan *waterbath*. Setelah proses penguapan diperoleh ekstrak kental daging buah pala sebesar 116 g, sedangkan daun ketepeng cina memperoleh ekstrak kental sebesar 126 g.

Tabel 2

Hasil Pembuatan Ekstrak Daging Buah Pala (*Myristica argentea warb*) Dan Daun Ketepeng Cina (*Casia alata* L.)

Ekstrak (g)	Bobot Simplisia (g)	Bobot Ekstrak (%)	Rendemen Ekstrak
Daging buah Pala	380	116	30,53
Daun ketepeng cina	350	126	36

Skrining Fitokimia Ekstrak Daging Buah Pala dan Daun Ketepeng Cina

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui ada atau tidaknya kandungan fitokimia pada daging buah pala dan daun ketepeng cina yang diuji yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, fenolik, dan triterpenoid.

Tabel 3

Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daging Buah Pala (*Myristica Argentea Warb*) Dan Daun Ketepeng Cina (*Cassia Alata* L.)

Kandungan Fotokimia	Periaksi Daging Buah Pala Dan Daun Ketepeng Cina	Perubahan Warna	Hasil
Alkaloid	0,5 g ekstrak + 5 tete NH ₃ dan 2 tetes H ₂ SO ₄ dikocok dan dibagi, menjadi 2 bagian tabung + 3 tetes meyer dan 3 tetes Dragendroff	Pada pereaksi meyer endapan berwarna putih, Memberikan endapa jingga	+
Flavonoid	0,5 g ekstrak + 100 ml air panas dididihkan selama 5 menit, disaring dan difiltrat sebanyak 5 ml + 0,05 mg serbuk Mg dan + 1 ml HCl	Kuning	+
Saponin	0,5 g ekstrak + 10 ml aquades + 2 tetes HCl dan dikocok	Buih, putih kekuningan	+
Fenolik	0,5 g ekstrak + 10 tetes FeCl ₃ 1% + 2 tetes HCl dan dikocok	Hitam Pekat	+
Tanin	0,5 g ekstrak + 2 tetes FeCl ₃ 1%	Hijau Kehitaman	+
Triterpenoid	0,5 g ekstrak + 10 tetes CH ₃ COOH dan H ₂ SO ₄	Coklat Kemerahan	+

Keterangan : + = Positif, ada kandungan senyawa.

Berdasarkan tabel 4.2 di atas, hasil skrining fitokimia terhadap ekstrak etanol daging buah pala dan daun ketepeng cina menunjukkan adanya kandungan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, fenolik, tanin, triterpenoid.

Hasil Pemiakan Bakteri *Shigella Dysenteriae*

Isolat murni bakteri *Shigella dysenteriae* yang didapat, dilakukan kultur ulang pada media miring *Nutrien agar* (NA) dan diinkubasi di dalam

inkubator selama 1x24 jam, sehingga bakterinya tumbuh.

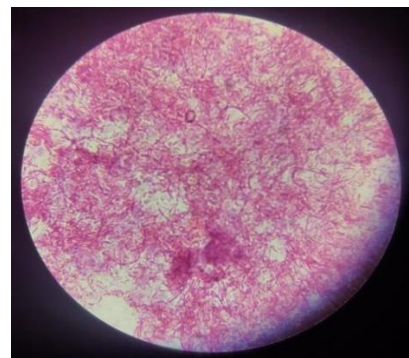


Gambar 1. Hasil kultur ulang *Shigella dysenteriae*

Berdasarkan gambar 1 diatas menunjukkan bahwa bakteri *Shigella dysenteriae* yang telah diinkubasi selama 1x24 jam telah berhasil tumbuh, yang ditandai dengan bintik-bintik putih pada media Nutrien agar (NA).

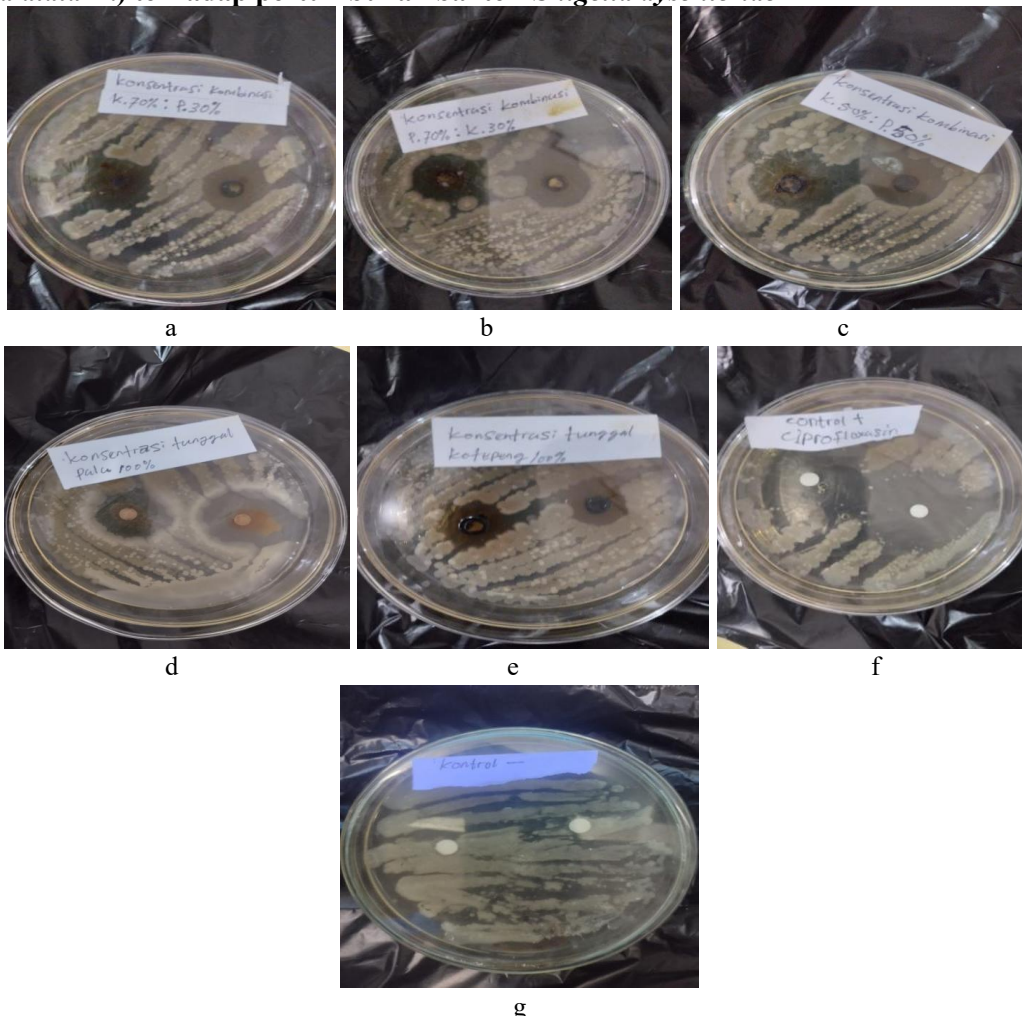
Hasil Pewarnaan Gram Bakteri *Shigella Dysenteriae*

Hasil biakan bakteri *Shigella dysenteriae* yang telah tumbuh selanjutnya dilakukan pewarnaan gram untuk melihat ada atau tidaknya bakteri yang tumbuh. Pewarnaan gram dilakukan menggunakan hasil kultur ulang bakteri yang sudah tumbuh, menggunakan aquades, kristal violet, iodin, alkohol 96%, safarin, dan minyak imersi.



Gambar 2. Hasil pewarnaan Gram Bakteri *Shigella Dysenteriae* dengan perbesaran kuat 100x

Hasil uji daya hambat kombinasi ekstrak daging buah pala (*Myristica argentea warb*) dan daun ketepeng cina (*Casia alata L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae*



Gambar 3. Hasil uji daya hambat konsentrasi kombinasi daging buah pala 70%;30% daun ketepeng cina (a), konsentrasi kombinasi daging buah Pala 30%;70% daun ketepeng cina (b), konsentrasi kombinasi daging buah pala 50%;50% daun ketepeng cina (c), konsentrasi tunggal daging buah pala 100% (d), konsentrasi tunggal daun ketepeng cina 100% (e), kontrol positif *Ciprofoxacin* (f), kontrol negatif aquadest (g).

Gambar 3 menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak etanol daging buah pala (*Myristica argentea Warb.*) dan daun ketepeng Cina (*Cassia*

alata L.) pada rasio 50%:50% memiliki daya hambat tertinggi terhadap pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae*.

Tabel 4

Hasil Uji Daya Hambat Kombinasi Ekstrak Etanol Daging Buah Pala Dan Daun Ketepeng Cina Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Shigella Dysenteriae*

No	Perlakuan	Diameter Zona Hambat (mm)		Rata-rata (mm)		Daya Hambat
		P1	P2	P1	P2	
1.	Kontrol negatif aquades	0	0	0		Tidak terbentuk
2.	Kontrol positif ciprofloxacin	23,5	26	24,75		Kuat
3.	Konsentrasi daging buah pala 30%;70% daun ketepeng cina	13,5	12,5	13		Kuat
4.	Konsentrasi daging buah pala 50%;50% daun ketepeng cina	19	18	18,5		Kuat
5.	Konsentrasi daging buah pala 70%;30% daun ketepeng cina	16,5	14	15,25		Kuat
6.	Konsentrasi daging buah pala 100%	17	19	18		Kuat
7.	Konsentrasi daun ketepeng cina 100%	11	10	10,5		Sedang

Keterangan : P1 : Perlakuan 1
P2 : Perlakuan 2

PEMBAHASAN

Pemilihan buah pada tahap ini dilakukan karena pada fase setengah matang, kandungan metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, tanin, dan fenolik berada pada kadar optimal dan belum mengalami degradasi akibat proses pematangan penuh. Selain itu, tekstur daging buah pala pada tahap ini masih padat dengan kadar air yang lebih rendah, sehingga proses pengeringan dan ekstraksi dapat berlangsung lebih efisien tanpa merusak senyawa bioaktif. Pemilihan daun tua dilakukan karena pada usia tersebut senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, antrakuinon, dan triterpenoid telah terakumulasi dalam jumlah yang lebih tinggi dibandingkan daun muda. Kandungan senyawa tersebut diketahui memiliki aktivitas antibakteri dan antifungi yang dapat mendukung kemampuan ekstrak dalam menghambat pertumbuhan *Shigella dysenteriae*. Dengan demikian, penggunaan daging buah pala setengah matang dan daun ketepeng cina tua bertujuan untuk memperoleh ekstrak dengan kandungan senyawa aktif tertinggi serta potensi antibakteri yang maksimal terhadap bakteri uji.

Berdasarkan hasil skrining fitokimia pada ekstrak daging buah pala (*Myristica argetentea warb*) dan daun ketepeng cina (*Cassia alata* L.) menunjukkan adanya kandungan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, fenol, tanin, dan triterpenoid. Senyawa-senyawa ini merupakan metabolit sekunder yang telah dikenal memiliki aktivitas antibakteri. Kemampuan kombinasi ekstrak etanol daging buah pala (*Myristica argetentea warb*) dan daun ketepeng cina (*Cassia alata* L.) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* disebabkan karena adanya senyawa antibakteri, dimana mekanisme kerja alkaloid

sebagai antibakteri adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut. Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri yaitu dengan menghambat fungsi membran sel dan metabolisme energi bakteri. Saat menghambat fungsi membran sel, flavonoid membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler yang dapat merusak membran sel bakteri, diikuti dengan keluarnya senyawa intra seluler bakteri tersebut (Nuria et al., 2009). Mekanisme kerja saponin yaitu dengan meningkatkan permeabilitas membran sel, sehingga akan terjadi hemolisis pada sel. Apabila saponin berinteraksi dengan sel bakteri, bakteri tersebut akan pecah atau lisis.

Mekanisme kerja fenolik yaitu bekerja dengan cara menghambat sintesis protein sehingga pertumbuhan sel terhambat dan terjadi kematian sel. Mekanisme kerja tanin adalah tanin menghambat proses sintesis kitin yang digunakan oleh jamur dalam pembentukan dinding sel dan dapat merusak membran sel jamur sehingga pertumbuhan jamur tersebut zmenjadi terhambat. Mekanisme triterpenoid sebagai antibakteri adalah bereaksi dengan porin (protein trans membran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Bakteri uji yang digunakan adalah *Shigella dysenteriae*, salah satu penyebab utama disentri basiler. Pemiakan dilakukan pada media *Nutrient agar* miring pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil pengamatan menunjukkan pertumbuhan koloni yang sesuai dengan karakteristik literatur, yaitu berbentuk bulat kecil, transparan, dan berdiameter sekitar 2 mm setelah inkubasi. Proses

pembiakan yang berhasil menunjukkan bahwa isolat murni dapat diperoleh tanpa kontaminasi mikroba lain. Hal ini sangat penting, karena jika terjadi kontaminasi maka hasil uji antibakteri tidak valid. Dengan demikian, koloni *Shigella dysenteriae* yang diperoleh benar-benar mewakili bakteri target yang ingin diuji. Pewarnaan gram dilakukan untuk memastikan karakteristik bakteri uji. Hasil menunjukkan bahwa *Shigella dysenteriae* bewarna merah setelah diberikan safranin. Hal ini membuktikan bahwa bakteri bersifat gram negatif. Ciri khas bakteri gram negatif adalah lapisan peptidoglikan yang tipis dan adanya membran luar yang kaya lipopolisakarida. Kondisi ini membuat gram negatif umumnya lebih resisten terhadap senyawa antibakteri dibanding gram positif. Oleh karena itu, keberhasilan ekstrak etanol daging buah pala dan daun ketepeng cina dalam menghambat *Shigella dysenteriae* merupakan temuan yang signifikan, karena menunjukkan potensi keduanya dalam menghadapi patogen yang relatif resisten.

Uji daya hambat dilakukan menggunakan metode difusi cakram (*Kirby-Bauer*). Kertas cakram yang telah direndam ekstrak diletakkan di atas permukaan media agar yang telah diinokulasi bakteri, kemudian diinkubasi selama 24 jam. Hasilnya berupa zona bening di sekitar cakram yang menandakan adanya penghambatan pertumbuhan bakteri. Hasil penelitian yang telah dilakukan rata-rata diameter zona hambat yang didapat setiap kelompok perlakuan adalah pada kontrol negatif (0 mm), kontrol positif (24,75 mm), konsentrasi kombinasi ekstrak daging buah pala 30%;70% ekstrak daun ketepeng cina (13 mm), konsentrasi kombinasi ekstrak daging buah pala 50%;50% ekstrak daun ketepeng cina (18,5 mm), konsentrasi kombinasi ekstrak daging pala 70%;30% ekstrak daun ketepeng cina (15,25 mm), konsentrasi ekstrak pala 100% (18mm), konsentrasi ekstrak ketepeng cina 100% (10,5 mm). Menurut (Surjowardojo et al., 2015), klasifikasi kategori daya hambat suatu antibakteri sebagai berikut, ≤ 5 mm termasuk kategori lemah, 6-10 mm termasuk kategori sedang, 11-20 mm termasuk kategori kuat, dan ≥ 21 mm termasuk kategori sangat kuat. Berdasarkan klasifikasi tersebut kemampuan daya hambat kombinasi ekstrak etanol daging buah pala (*Myristica argentea warb*) dan daun ketepeng cina (*Cassia alata* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* pada konsentrasi kombinasi ekstrak 30%;70%, 50%;50%, 70%;30%, dan konsentrasi ekstrak daging buah pala 100% termasuk kategori kuat, sedangkan pada

konsentrasi ekstrak daun ketepeng cina 100% termasuk kategori sedang.

Pada penelitian ini kontrol positif yang digunakan adalah *ciprofloxacin*. *Ciprofloxacin* merupakan antibiotik spektrum luas kelas *fluorokuinolon* yang digunakan untuk mengobati infeksi bakteri⁽¹⁴⁾. *Ciprofloxacin* bekerja dengan menghambat replikasi DNA bakteri. sesuai dengan daya cakupannya yakni antibiotik dengan spektrum luas. Kontrol negatif yang digunakan adalah aquades, dimana zona hambat yang dihasilkan adalah 0 mm. Hal ini menunjukkan bahwa aquades tidak mempengaruhi daya hambat yang dihasilkan pada masing-masing konsentrasi. Berdasarkan hasil analisis menggunakan uji *One Way anova*, diperoleh bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara berbagai konsentrasi ekstrak etanol daging buah pala (*Myristica argentea warb*) dan daun ketepeng cina (*Cassia alata* L.) terhadap daya hambat pertumbuhan *Shigella dysenteriae*. Hal ini menunjukkan bahwa variasi konsentrasi perlakuan memberikan efek yang berbeda terhadap diameter zona hambat bakteri. Hasil ini sejalan dengan teori bahwa semakin tinggi kandungan zat aktif (seperti alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan triterpenoid) dalam ekstrak, maka semakin besar potensi antibakteri yang dimilikinya.

Kedua tanaman yang digunakan dalam penelitian ini sama-sama mengandung metabolit sekunder yang berperan dalam mengganggu integritas dinding sel bakteril. Oleh karena itu, variasi konsentrasi berpengaruh terhadap daya hambat. Selanjutnya, analisis dilanjutkan dengan uji *Least Significant Difference* (LSD) untuk mengetahui kelompok perlakuan mana yang memiliki perbedaan satu sama lain. Hasil uji *Least Significant Difference* (LSD) menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak dengan konsentrasi tertentu (misalnya 30%;70%, 50%;50%, 70%;30%) memiliki daya hambat yang lebih besar dibandingkan konsentrasi tunggal, sementara kontrol negatif (aquades) tidak menunjukkan adanya zona hambat. Sedangkan kontrol positif (*ciprofloxacin*) menghasilkan zona hambat terbesar, karena merupakan antibiotik spektrum luas. Dengan demikian, uji *Least Significant Difference* (LSD) memperjelas bahwa terdapat konsentrasi kombinasi yang lebih efektif dibandingkan konsentrasi tunggal. Hal ini mendukung konsep sinergisme antara kandungan fitokimia dalam daging buah pala dan daun ketepeng cina, di mana interaksi senyawa aktif dari kedua ekstrak meningkatkan kemampuan antibakterinya terhadap *Shigella dysenteriae*.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa Ekstrak etanol daging buah pala (*Myristica argentea warb*) dan daun ketepeng cina (*Casia alata* L.) mengandung senyawa aktif seperti alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, fenolik, dan triterpenoid yang berperan sebagai antibakteri. Kombinasi ekstrak etanol daging buah pala (*Myristica argentea warb*) dan daun ketepeng cina (*Casia alata* L.) terbukti dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae*. Konsentrasi kombinasi yang efektif dari ekstrak etanol daging buah pala (*Myristica argentea warb*) dan daun ketepeng cina (*Casia alata* L.) adalah konsentrasi 50%;50% dengan rata-rata diameter zona hambat 18,5 mm (kategori kuat).

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah berkontribusi dalam penelitian ini, baik secara langsung maupun tidak langsung. Terima kasih disampaikan kepada pihak institusi yang telah memberikan kesempatan, dukungan, serta fasilitas selama proses penelitian berlangsung. Penulis juga menghargai bantuan dan kerja sama dari berbagai pihak yang telah mendukung pelaksanaan penelitian hingga tahap penyusunan karya ilmiah ini. Dukungan tersebut sangat berarti dalam kelancaran dan keberhasilan penelitian ini. Akhir kata, penulis berharap semoga hasil penelitian ini dapat memberikan manfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan, khususnya di bidang kesehatan. Penulis juga terbuka terhadap segala bentuk saran dan masukan yang membangun untuk perbaikan di masa yang akan datang.

REFERENSI

Azzizqiyani, T., Sumiati, S., & Meliansyah, M. 2018. Aktivitas Antibakteri Daging Buah Dan Daun Pala (*Myristica Fragrans*) terhadap *Escherichia Coli*. *Jurnal Vokasi Kesehatan*, 4 (2)

Brown, A., & Smith, H. 2011. Benson: Microbiological Application Lab Manual Eight Edition

Chrismasyanti, N.K.S.D., Suastini, K.D., Cawis, N.L.S.A., & Dewi, N.W.S. 2020 'Pengaruh Ekstrak Jahe Merah Zingiber Officinale) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Shigella Dysentriae*

Hujjatusnaini, N. 2008. Uji Ekstrak Daun Ketepeng Cina (*Cassia Alata* L) Terhadap Pengobatan Pertumbuhan *Trichophyton* Sp.

Skripsi. Kalimantan: STAIN Palangkaraya

Najoan, Jeli. J. 2016. Uji fitokimia dan aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun tiga (*Allophylus cobbe* L.) *Pharmakon*, 5(1).

Urhamidin, Anastasia, Fatimawali, & Antasionasti, Irma. 2021. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak N-Heksan Biji Buah Langsung (*Lansium Domesticum* Corr) Terhadap Bakteri *Staphylococys Aureus* Dan *Klebsiella Pneumoniae*. *PHARMACON*, 10 (1), 748-755.

Nuria, Maulitia. Cut., & Faizatun. 2009. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha Curcas* L) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Atcc 25923, *Escherichia Coli* Atcc 25922, Dan *Salmonella Typhi* Atcc 1408. *Mediagro* 5(2).

Suloi, Andi Fitra, Nurmiati dan Isring Wailussy. "Pengaruh Konsentrasi Pelarut Terhadap Kandungan Kimia Ekstrak Daging Buah Pala Fakfak (*Myristica argentea* Warb): Effect Of Solvent Cocentration On The Chemical Content Of Fakfak Fruit Extract (*Myristica argentea* Warb)." *Pro Food* 9.1 2023.

Sarkar, B. Khodre, S., Patel, P., & Mandaniya, M.2014. HPLC Analysis and Antioxidan Potential of Plant Extract of *Cassia Alata*, *Asian Journal Of Pharmaceutical Science & Technology*, 4 (1).

Siregar, S.F. 2009., Uji Aktivitas Anti Bakteri, Ekstrak Etanol dan Air Rebusan Kulit Batang Ingul (*Toonasin* sis M.Roem) Terhadap beberapa Bakteri *Skripsi*.

Sari, A.N. & Asri, M.T.2022 Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Shigella dysenteriae*. *Lentera Bio*, 11(3):441-448.

Sutton, S. 2011. Measurement of Microbial Cells by Optical Density. *Journal of Validation Technology*. 17:(1),46-49.

Surjowardojo, Susilawati, T.E. dan Gabriel, R.S., 2015. Daya Hambat Dekok Kulit Apel Manalagi (*Malus Sylyestrs* Mill.) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus Aureus* Dan *Pseudomonas* Sp. Penyebab Mastitis Pada Sapi Perah. Fakultas Peternakan, Universitas Brawijaya, Malang.

Thai, T., Salisbury, B.H., & Zito, P.M. 2023. *Ciprofloxacin In Stat Pearls [Internet]*. Stat pearls publishing.

Widiyati, Eni. 2009. Penentuan Adanya Senyawa Triterpenoid Dan Uji Aktifitas Biologi Pada Beberapa Spesies Tanaman Obat Tradisional Masyarakat Pedesaan Bengkulu. *Jurnal*

gradien 2, 116-122.