

## BAB V

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### A. Gambaran Umum Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dari 29 Mei 2024 hingga 22 Juni 2024. Sampel daun Sintrong (*Crassocephalum crepidioides*) diambil di Jalan Poros Baubau Pasarwajo Km.14, Kelurahan Kaisabu Baru, Kecamatan Sorawolio, Kota Baubau, Sulawesi Tenggara, yang dapat dilihat pada (Gambar 6). Proses ekstraksi dan pengujian aktivitas antibakteri dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Politeknik Bina Husada Kendari.



**Gambar 1.** Lokasi Penelitian Daun Sintrong (*Crassocephalum crepidioides*) (Sumber: *Google Maps*, 2024)

## B. Hasil Penelitian

Penelitian ini dilakukan dalam 4 tahap, yaitu :

- 1) Tahap pertama yang dilakukan yaitu mempersiapkan sampel daun sintrong (*Crassocephalum crepidiodes*) yang diperoleh sekitar 7000 gram di Jalan Poros Baubau Pasarwajo Km.14, Kelurahan Kaisabu Baru, Kecamatan Sorawolio, Kota Baubau, Sulawesi Tenggara. Selanjutnya daun sintrong (*Crassocephalum crepidiodes*) dibersihkan, di keringkan menggunakan sinar matahari selama 5 jam kemudian di oven dengan suhu rata-rata 50°C selama 4 jam, kemudian diblender menggunakan blender khusus bahan-bahan kering dan disaring hingga didapatkan serbuk daun sintrong (*Crassocephalum crepidiodes*) sebanyak 500 gram.
- 2) Tahap kedua yang dilakukan yaitu meserasi sampel serbuk daun sintrong (*Crassocephalum crepidiodes*) dengan menggunakan etanol 96% selama 3x24 jam. Setelah 3x24 jam, meseratnya diuapkan di *rotary evaporator* untuk mendapatkan ekstrak kental yang kemudian di buat dengan konsentrasi 40%, 60%, 80% dan 100% menggunakan metode sumuran.
- 3) Proses peremajaan bakteri harus dilakukan sehari sebelum penelitian dalam kondisi aseptik, yaitu dekat dengan pembakar bunsen. Media *Nutrient Agar* (NA) yang telah diautoklaf dituangkan ke dalam tabung reaksi sekitar 5 ml dan dimiringkan hingga padat. Setelah itu, bakteri *Proteus sp* yang telah dikultur murni dikumpulkan dalam satu siklus dan diinokulasi menggunakan metode *strip plate* pada media NA miring. Media tersebut kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam untuk memperoleh bakteri.
- 4) Pada tahap keempat, lubang sumuran dibuat pada media *Mueller Hinton Agar* (MHA) yang telah diinokulasi dengan bakteri *Proteus sp*. Setiap lubang kemudian diisi dengan 7 µl ekstrak daun Sintrong pada konsentrasi 40%, 60%, 80%, dan 100%. Setelah itu, media diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 48 jam. Setelah inkubasi,

diamati zona bening yang terbentuk di sekitar lubang sumuran dan ukuran zona tersebut diukur menggunakan jangka sorong dalam satuan milimeter (mm).

Hasil dari penelitian mengenai ekstrak daun Sintrong (*Crassocephalum crepidiodes*) pada empat konsentrasi yaitu 40%, 60%, 80%, dan 100% terhadap bakteri *Proteus sp*, yang diuji menggunakan metode difusi sumuran di Laboratorium Mikrobiologi Politeknik Bina Husada Kendari, menunjukkan zona hambat yang disajikan dalam tabel berikut :

**Tabel 1.** Hasil pengukuran zona hambat ekstrak daun sintrong (*Crassocephalum crepidiodes*) terhadap bakteri *Proteus sp*

No	Konsentrasi %	Waktu Pengamatan	Diameter Zona Hambat (mm)		Rata-rata (mm)	Interprestasi
			P1	P2		
1	40 %	2 x 24 jam	1,45	2,05	1,75	Resisten
2	60 %	2 x 24 jam	2,3	3,7	3	Resisten
3	80 %	2 x 24 jam	2,35	7,45	4,9	Resisten
4	100 %	2 x 24 jam	6,05	12,2	9,13	Resisten
5	Kontrol (+) ( <i>chloramphenicol</i> )	2 x 24 jam	26	27,5	26,75	Sensitifitas
6	Kontrol (-) ( <i>Aquadest</i> )	2 x 24 jam	0	0	0	Tidak ada daya hambat

Keterangan :

Sensitifitas : zona hambat  $\geq$  20 mm

Intermediet : zona hambat 15-19 mm

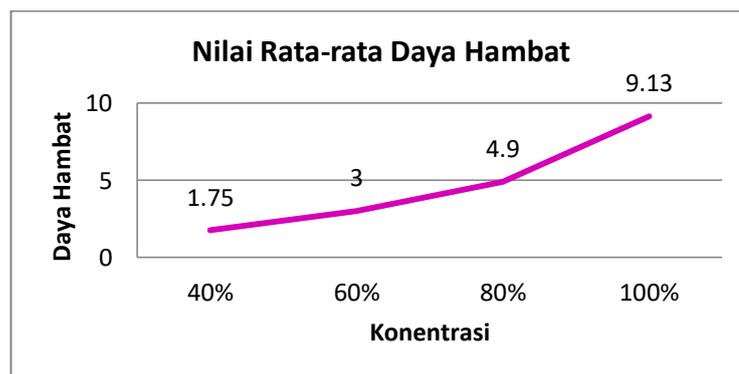
Resisten : zona hambat  $\leq$  14 mm

P1 : Pengulangan 1

P2 : Pengulangan 2

Berdasarkan Tabel 5 di atas, hasil uji efektivitas ekstrak daun Sintrong (*Crassocephalum crepidioides*) terhadap bakteri *Proteus sp* menunjukkan bahwa kontrol positif (*chloramphenicol*) menghasilkan rata-rata zona hambat sebesar 26 mm. Tidak ada zona hambat yang terlihat pada kontrol negatif. Untuk ekstrak dengan konsentrasi 40%, rata-rata zona hambat yang terbentuk adalah 1,75 mm; pada konsentrasi 60%, rata-rata zona hambatnya adalah 3 mm; pada konsentrasi 80%, rata-rata zona hambat mencapai 4,9 mm; dan pada konsentrasi 100%, rata-rata zona hambat yang terbentuk adalah 9,13 mm. Dari hasil uji pada keempat konsentrasi, zona bening yang muncul di sekitar sumuran menunjukkan zona hambat dengan interpretasi *resisten*, sementara kontrol positif menunjukkan zona hambat dengan interpretasi *sensitifitas*.

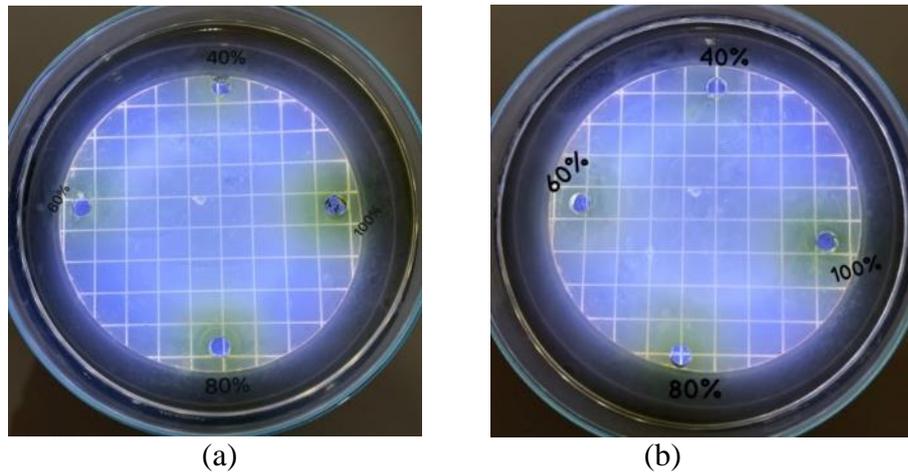
Zona hambat yang terbentuk pada keempat konsentrasi dianggap *resisten*. Berdasarkan data tabulasi, ekstrak dengan konsentrasi 100% terbukti paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Proteus sp* dibandingkan dengan konsentrasi 40%, 60%, dan 80%, karena memiliki zona hambat terbesar dengan rata-rata 9,13 mm. Sebagai perbandingan, kontrol positif yaitu antibiotik *chloramphenicol* menunjukkan respon penghambatan yang sangat kuat (*sensitifitas*) terhadap bakteri *Proteus sp*.



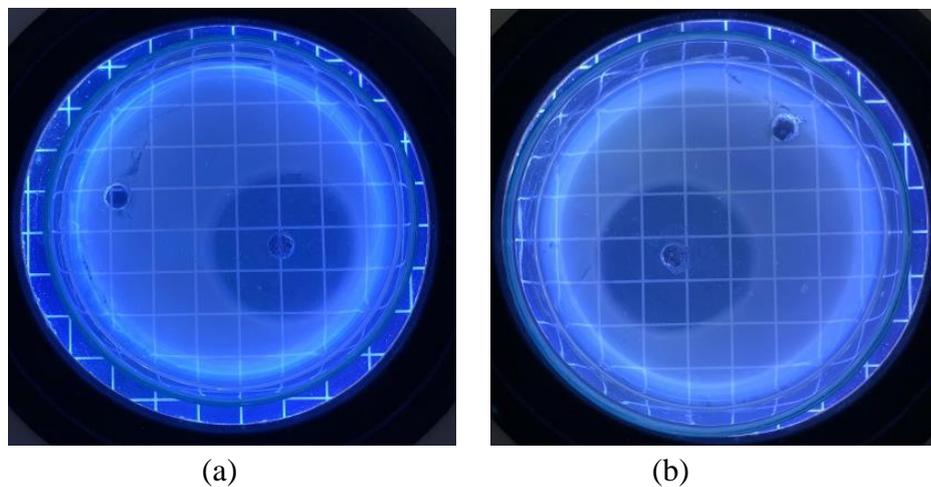
**Grafik 1.** Nilai rata-rata diameter daya hambat ekstrak terhadap bakteri

Grafik 1 menunjukkan hasil penelitian, memperlihatkan zona hambat yang lebih besar pada konsentrasi 100% dibandingkan dengan konsentrasi yang lebih rendah.

Pengamatan dilakukan dengan memeriksa area bening di sekitar lubang sumuran, yang menunjukkan kemampuan ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Proteus* sp. Hasil pengamatan ini dapat dilihat pada gambar di bawah ini:

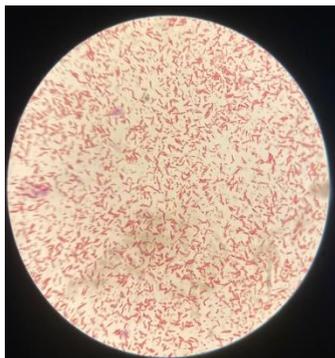


**Gambar 2.** Hasil Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Sintrong (*Crassocephalum crepidiodes*) pada konsentrasi berbeda Pertama (a) dan Kedua (b)  
(Sumber : Data Primer, 2024)



**Gambar 3.** Hasil uji daya hambat kontrol (+) chloramfenicol  
Perlakuan pertama (a) dan kedua (b)  
(Sumber : Data Primer, 2024)

Pengamatan pewarnaan Gram pada bakteri *Proteus sp* mengidentifikasi bakteri ini sebagai bakteri gram negatif. Bakteri tersebut memiliki bentuk batang dengan panjang antara 1-3  $\mu\text{m}$  dan lebar 0,4-0,6  $\mu\text{m}$  (Kurniawan, 2019). Hal tersebut dapat dilihat lebih jelas pada gambar di bawah ini:



**Gambar 4.** Hasil identifikasi pewarnaan gram bakteri *Proteus sp* (Sumber : Data Primer, 2024)

### C. Pembahasan

Penelitian tentang uji daya hambat ekstrak daun Sintrong (*Crassocephalum crepidiodes*) terhadap bakteri *Proteus sp* dilakukan melalui beberapa langkah. Proses dimulai dengan penyiapan ekstrak, persiapan media, pembuatan konsentrasi, dan kemudian pengujian efektivitas bakteri menggunakan metode difusi sumuran. Ekstrak daun Sintrong diuji pada empat variasi konsentrasi, yaitu 40%, 60%, 80%, dan 100%. Semua tahapan penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Politeknik Bina Husada Kendari.

Pengujian daya hambat ekstrak terhadap bakteri *Proteus sp* dilakukan menggunakan metode difusi sumuran dengan menginkubasi sampel selama 24 jam di dalam inkubator. Hasilnya diukur dengan melihat zona bening yang terbentuk di sekitar lubang sumuran. Uji ini dilakukan dua kali dengan *chloramphenicol* sebagai kontrol positif dan *aquadest* sebagai kontrol negatif. *Chloramphenicol* menunjukkan zona hambat sebesar 26,75 mm, yang mengindikasikan sensitifitas terhadap bakteri *Proteus sp*, sementara *aquadest* sebagai kontrol negatif menunjukkan zona

hambat sebesar 0 mm, menandakan bahwa aquadest tidak efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri tersebut.

*Chloramphenicol* adalah antibiotik yang memiliki spektrum luas, efektif melawan berbagai jenis bakteri, baik yang aerobik maupun anaerobik, serta juga dapat melawan beberapa jenis jamur. Fungsi kontrol positif berfungsi sebagai pembanding jika terdapat hambatan dalam larutan uji (Juliana, 2020). Antibiotik *chloramphenicol* dipilih karena sifatnya yang bakteristatik dan spektrum luas, yang efektif melawan baik bakteri gram negatif maupun gram positif. Kontrol positif ini digunakan untuk mengamati efek pembunuhan bakteri uji, yang dapat dilihat dari adanya zona bening di sekitar area aplikasi antibiotik (Mahdiva, 2021). Sementara itu, *Aquades* merupakan senyawa netral yang tidak mempengaruhi perkembangan bakteri. Fungsi dari Kontrol negatif untuk memeriksa dan menjamin apakah cara yang diambil sudah tepat, dengan tanda tidak ada zona yang timbul di sekeliling lubang sumuran (Nadlif, 2024).

Penelitian tentang uji daya hambat ekstrak daun Sintrong (*Crassocephalum crepidiodes*) menunjukkan hasil rata-rata yang digambarkan dalam Grafik 1. Pada konsentrasi 40%, zona hambat yang terbentuk adalah 1,75 mm. Pada konsentrasi 60%, zona hambatnya adalah 3 mm. Untuk konsentrasi 80%, zona hambat yang terbentuk mencapai 4,9 mm, sementara pada konsentrasi 100%, zona hambatnya adalah 9,13 mm. Data ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak, semakin besar zona hambat yang terbentuk, yang kemungkinan disebabkan oleh peningkatan kadar ekstrak daun Sintrong. Berdasarkan pedoman CLSI (2023), zona hambat dengan diameter  $\leq 14$  mm dianggap sebagai respon daya hambat lemah (*resisten*), zona hambat antara 15-19 mm dianggap respon daya hambat sedang (*intermediet*), dan zona hambat  $\geq 20$  mm dianggap sebagai respon daya hambat sangat kuat (*sensitif*). Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa pada konsentrasi 40%, 60%, 80%, dan 100%, respon daya hambat termasuk dalam kategori resisten, yang

menunjukkan bahwa ekstrak tersebut kurang efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Proteus sp.*

Hasil penelitian ini tidak sejalan dengan penelitian sebelumnya oleh Malik, N., dkk (2022) yang mengevaluasi aktivitas antibakteri dan metabolit sekunder daun Sintrong (*Crassocephalum crepidioides (Benth.) S. Moore*) terhadap *Escherichia coli*. Dalam penelitian tersebut, ekstrak dengan konsentrasi 20% menghasilkan zona hambat sebesar 19,15 mm, yang dikategorikan sebagai intermediet atau sedang. Sementara itu, konsentrasi 30% menghasilkan zona hambat sebesar 20,85 mm, yang menunjukkan respon *sensitif* atau sangat kuat.

Dalam penelitian lain oleh Tjahjani, dkk. (2022) menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% dari daun binahong (*Anredera cordifolia (Ten.) Steenis.*) dan ekstrak etanol 96% dari daun sirih hijau (*Piper betle L.*) memberikan hasil yang menunjukkan peningkatan zona hambat terhadap bakteri *Proteus mirabilis* pada konsentrasi 10%, 20%, dan 30%. Artinya, semakin tinggi konsentrasi ekstrak, semakin besar zona hambat yang terbentuk. Temuan ini sejalan dengan hasil penelitian yang dilakukan, yang juga menunjukkan peningkatan ukuran zona hambat dari ekstrak daun Sintrong (*Crassocephalum crepidioides*) menggunakan etanol 96% pada konsentrasi 40%, 60%, 80%, dan 100%.

Faktor-faktor yang dapat memengaruhi hasil penelitian termasuk faktor genetik dan faktor lingkungan. Faktor genetik mencakup karakteristik yang diwariskan dari tanaman induk, seperti rasa, aroma, komposisi kimia, nilai gizi, dan kapasitas produksi. Sementara itu, faktor lingkungan meliputi kondisi eksternal seperti paparan sinar matahari, suhu, musim, dan lokasi atau wilayah tempat tanaman tumbuh. Kedua faktor ini dapat mempengaruhi efektivitas sifat antimikroba dari bahan yang diuji (Geofani, C. dkk., 2022).

Menurut Febriana (2019) Suhu inkubator adalah faktor penting yang dapat mempengaruhi ukuran zona hambat bakteri. Untuk mencapai pertumbuhan optimal, inkubasi biasanya dilakukan pada suhu 37°C.

Inkubasi pada suhu yang tidak tepat dapat menyebabkan difusi yang tidak merata. Dalam penelitian ini, suhu inkubator tidak tetap karena seringnya pembukaan inkubator, yang mengakibatkan fluktuasi suhu di setiap cawan. Selain itu, ada juga tiga atau lebih plat media yang ditumpuk selama periode inkubasi, yang bisa mempengaruhi hasil.

Ketebalan media juga berperan penting dalam mempengaruhi ukuran zona hambat bakteri. Pada media yang sangat tipis zona hambat yang terbentuk dapat lebih besar karena daya difusi ekstrak menjadi lebih cepat, sebaliknya pada media yang tebal akan membuat daya difusi menjadi lebih lambat (Rahmawati, 2018). Pada penelitian ini digunakan cawan petri dengan ukuran 150 mm x 15 mm dengan ketebalan media biasanya sekitar 4-5 mm. Namun, dalam penelitian ini, ketebalan media *Muller Hinton Agar* (MHA) tidak diukur, sehingga ketebalan media pada saat penggunaannya tidak diketahui dengan pasti.

Selain itu, ukuran zona hambat yang terbentuk juga dipengaruhi oleh karakteristik bakteri. Bakteri Gram positif biasanya lebih sensitif terhadap antibakteri dibandingkan bakteri Gram negatif karena dinding sel bakteri Gram positif memiliki struktur yang lebih sederhana. Struktur dinding sel yang lebih sederhana ini memungkinkan senyawa antibakteri lebih mudah menembus dan mengakses bakteri Gram positif (Ulfah, 2020). Bakteri Gram negatif memiliki lapisan peptidoglikan yang tipis, hanya terdiri dari 1-2 lapisan, dan dinding selnya tidak terlalu padat, sehingga memiliki permeabilitas yang tinggi. Bakteri *Proteus sp*, yang termasuk dalam kelompok bakteri Gram negatif, memiliki dinding sel yang tipis dengan tiga lapisan. Struktur ini mempermudah penetrasi senyawa antimikroba dari ekstrak herbal daun Sintrong ke dalam bakteri tersebut (Situmorang, 2018). Mekanisme ini memungkinkan ekstrak etanol dari daun Sintrong lebih mudah menembus dinding sel bakteri Gram negatif. Komponen-komponen seperti flavonoid, alkaloid, terpenoid, saponin, dan minyak atsiri yang mengandung 30% fenol, yang bersifat

bakteriostatik, dapat lebih efektif masuk ke dalam bakteri melalui struktur dinding sel yang tidak padat ini (Tjahjani, 2022).

Daun Sintrong (*Crassocephalum crepidioides*) mengandung berbagai senyawa aktif, seperti flavonoid, tanin, kuinon, steroid, dan triterpenoid, yang berpotensi sebagai agen antimikroba untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Proteus sp.* Namun, efek penghambatan yang kurang maksimal bisa disebabkan oleh adanya kontaminasi, baik dari zat asing yang masuk ke dalam cawan petri saat penambahan suspensi *Proteus sp.*, atau dari kontaminasi selama proses pembuatan ekstrak. Kontaminasi ini dapat mengurangi efektivitas senyawa aktif seperti flavonoid, tanin, kuinon, steroid, dan triterpenoid (Pradana dkk, 2018). Flavonoid adalah senyawa alami yang memiliki potensi sebagai antioksidan, yang dapat melawan radikal bebas penyebab penyakit degeneratif melalui dampaknya pada sistem kekebalan tubuh, serta oksidasi lipid dan protein. Daun Sintrong mengandung flavonoid yang efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri Gram negatif, termasuk bakteri *Proteus sp.* Selain flavonoid, daun Sintrong juga mengandung saponin, yang memiliki molekul dengan sifat *hidrofilik* (menarik air) dan *lipofilik* (mencerna lemak). Saponin ini dapat menurunkan tegangan permukaan sel, sehingga merusak bakteri. Senyawa saponin, mirip dengan senyawa fenol, juga memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Daun Sintrong mengandung minyak atsiri, yang merupakan turunan dari senyawa fenol dan memiliki aktivitas antibakteri yang lima kali lebih kuat dibandingkan senyawa fenol biasa. Mekanisme kerja fenol sebagai agen antibakteri melibatkan pengeluaran toksin dari protoplasma, perusakan dan penetrasi dinding sel bakteri, serta pengendapan protein dalam sel bakteri. Senyawa fenolik dengan ukuran molekul besar dapat menginaktivasi enzim-enzim penting dalam sel bakteri, bahkan pada konsentrasi yang sangat rendah (Tjahjani, 2022).

Selain itu menurut Widayanti dkk (2023), kadar senyawa aktif pada daun yang diekstraksi bergantung pada cara pengeringan simplisia. Dalam pembuatan Simplisia digunakan metode pengeringan untuk menghilangkan air dari suatu bahan dengan energi panas. Menurut Mahaputra dan Nguyen, pemilihan metode pengeringan dalam proses yang sederhana mempengaruhi kualitas bahan aktif yang dihasilkan. Pada penelitian ini proses pengeringan dilakukan masing-masing 2 tahap pengeringan dengan sinar matahari dan pengeringan oven. Penggunaan metode pengeringan ini berdampak pada aktivitas antioksidan, kadar air, kadar abu, rendemen, serta sifat organoleptik seperti aroma dan warna.

Kekurangan pada penelitian ini adalah pada tiap *plate* masih ditempatkan 4 lubang sumuran dengan konsentrasi yang berbeda pada setiap *plate*, sehingga berpotensi menimbulkan kontaminasi antar konsentrasi pada setiap *plate*. Selain itu, kadar senyawa metabolit sekunder pada daun juga belum diuji sehingga masih belum diketahui kadar mana yang sebenarnya mempengaruhi efek penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri *Proteus sp.*

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa daun sintrong dapat menghambat bakteri *Proteus sp* namun adanya beberapa faktor yang mempengaruhi seperti kekeruhan suspensi bakteri, temperatur suhu inkubasi, penyebaran bakteri pada media yang tidak merata serta lama waktu pengeringan pada daun yang lama membuat ekstrak daun sintrong kurang efektif.