

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL BUNGA
KECOMBRANG (*Nicolaia speciosa* Horan) TERHADAP BAKTERI *Shigella*
dysenteriae dan *Vibrio cholera* SECARA *in vitro*
THE AKTIVITY ASSAY ON ANTIBACTERIA ETHANOLIC EXTRACT OF
FLOWERS KECOMBRANG (*Nicolaia speciose* Horan) TOWARDS *Shigella*
dysenteriae and *Vibrio cholerae* BY IN VITRO**

Alham Andri Nasution
Pharmacy Study Programme, Faculty of Medical and Health Sciences,
Muhammadiyah University of Yogyakarta
alhamcs@yahoo.co.id

INTISARI

Bunga kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan) merupakan tanaman yang memiliki komponen aktif senyawa fenol yaitu flavonoid. Flavonoid dikenal memiliki aktivitas antioksidan dan antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas antibakteri ekstrak etanolik bunga kecombrang terhadap *Shigella dysenteriae* dan *Vibrio cholerae* secara *in vitro*.

Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%. Ekstrak dibuat lima variasi konsentrasi (10%, 25%, 50%, 75%, dan 90%) untuk pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode Kirby-Bauer Disk Diffusion Test. Ekstrak etanolik bunga kecombrang dilakukan analisis dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT).

Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa Kadar Hambat Minimum ekstrak berada pada konsentrasi 75% dan 90% terhadap *Shigella dysenteriae* dan *Vibrio cholerae*. Aktivitas antibakteri yang memiliki KHM (Kadar Hambat Minimum) yang diinterpretasi dengan nilai DZI (*Diameter Zona Inhibition*) tertinggi hingga terendah pada *Shigella dysenteriae* adalah Konsentrasi 90% (14,33 mm) 75% (8,33 mm) 50%, 25% dan 10% (0 mm) sedangkan pada *Vibrio cholerae* adalah 90% (12,33 mm) 75% (9 mm) 50%, 25%, dan 10% (0 mm) dan KBM (Kadar Bunuh Minimum) ekstrak berada pada kadar 75%. Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanolik bunga Kecobrang (*Nicolaia speciosa* Horan) pada konsentrasi 75% dan 90% memiliki aktivitas antibakteri yang cukup baik dengan uji secara *in vitro*.

Kata Kunci : *Nicolaia speciosa*, Ekstrak, *Shigella dysenteriae*, *Vibrio cholera*.

ABSTRACT

Flowers kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan) is a plant that has an active component of phenolic compounds are flavonoids. Flavonoids are known to have antioxidant and antibacterial activity. This study aimed to evaluate the antibacterial activity of ethanolic extract of flowers kecombrang against *Shigella dysenteriae* and *Vibrio cholerae* in vitro.

The extraction process was done by maceration method by ethanol 70%. Extracts made five variation concentration (10%, 25%, 50%, 75% and 90%) for testing the

antibacterial activity using the *Kirby-Bauer* method *Disk Diffusion Test*. kecombrang interest ethanolic extract analyzed with Thin Layer Chromatography (TLC).

The results of antibacterial activity showed that Minimum Inhibitory Concentration from the extract at concentration 75% and 90% to *Shigella dysenteriae* and *Vibrio cholerae*. Antibacterial activity has MIC (minimum inhibitory concentration) that interpreted by the highest until the lowest of Diameter Zona Inhibition value in *Shigella dysenteriae* was at concentration 90% (14.33 mm) 75% (8.33 mm) of 50%, 25% and 10% (0 mm) while in *Vibrio cholerae* was at concentration 90% (12.33 mm) 75% (9 mm) of 50%, 25%, and 10% (0 mm) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) of extracts was at concentration 75 %. The results of this study showed that ethanolic extract of Kecobrang flowers (*Nicolaia speciosa* Horan) was at concentration 75% and 90% that had a good enough of antibacterial activity by in vitro tests

Keywords: *Nicolaia speciosa*, Extract, *Shigella dysenteriae*, *Vibrio cholerae*.

PENDAHULUAN

Diare adalah keadaan buang air dengan banyak cairan (*mencret*) dan merupakan gejala dari penyakit-penyakit tertentu atau gangguan lain. Penyebab diare diantaranya: infeksi, makanan (alergi atau keracunan), imunodefisiensi dan fisiologi. Infeksi dapat disebabkan oleh bakteri (*E coli*, *Shigella*, *Salmonella*, *Vibrio cholerae*, dll), Virus (*Rotavirus*, *adenovirus*, dll), protozoa (*Entamoeba hystolitica*, *girardia lambia*, dll), cacing (*A. lumbricoides*, *A doudenela*, dll) (Wijaya, 2012).

Penyakit diare (*gastroenteritis*)

masih merupakan salah satu masalah kesehatan utama masyarakat Indonesia. Di Indonesia dapat ditemukan penderita diare sekitar 60 juta kejadian setiap tahunnya, 70-80% dari penderita ini adalah anak dibawah lima tahun. Sebagian penderita akan dehidrasi (1-2%) dan jika tidak segera di tolong 50-60% diantaranya akan meninggal (Putri, 2008).

Di Indonesia, laporan resistensi antibiotik banyak ditemukan pada *Shigella flexneri* dan *Shigella boydii* khususnya terhadap ampisilin,

kloramfenikol, tetrasiklin, dan cotrimoksazol (Herwana *et al.*, 2010).

Selain itu antibiotik yang sering digunakan untuk mengobati diare banyak memiliki efek samping seperti alergi, dan toksisitas. Penggunaan tumbuhan obat secara tradisional lebih disukai, karena pada umumnya tumbuhan tersebut tidak menimbulkan efek samping seperti halnya obat sintetik (Simanjuntak, 2003)

Dalam kurun waktu terakhir, penelitian terhadap bahan herbal banyak mengalami perkembangan. Dari segi keamanan, bahan herbal cenderung memiliki resiko efek samping yang lebih kecil apabila dibandingkan dengan bahan kimia. Dalam hal ini telah banyak penelitian yang membuktikan khasiat dari ekstrak tanaman sebagai agen antibakteri. Hampir semua bagian dari tumbuhan dapat kita manfaatkan.

Salah satu tanaman yang bermanfaat untuk pengobatan adalah bunga kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan)

adalah sejenis tumbuhan rempah dan termasuk familia *Zingiberaceae*. Hasil skrining fitokimia bunga kecombrang menunjukkan adanya senyawa flavanoida, tannin, triterpenoid/steroid dan minyak atsiri (Naufalin & Rukmini, 2010)

Penelitian yang berorientasi pada variasi konsentrasi dan pelarut juga perlu dilakukan. Variasi konsentrasi ekstrak berpengaruh dalam penghambatan optimum melalui penetapan KHM (Kadar Hambat Minimum) yang diinterpretasi dengan nilai DZI (*Diameter Zone Inhibition*). Selain itu juga dilakukan analisis kandungan kimia yang terdapat dalam bunga kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan).

METODE PENELITIAN

Desain penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksperimental laboratorium mengenai efek antibakteri bunga kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan) terhadap berbagai bakteri

penyebab diare yaitu *Shigella dysenteriae* dan *Vibrio cholerae*.

Alat Penelitian

Tabel 1. Alat - alat penelitian

No	Nama Alat	Sumber/Merek dan Tipe
1	Pisau	HB Stainless®
2	Blender	Philip
3	<i>Rotary Evaporator</i>	Heidolph®
4	Penangas	Akebonno®
5	Oven	Shimadzu®
6	Inkubator	Memmert®
7	Autoklaf	All American®
8	Propipet	Glasfirm®
9	Mikropipet	Gilson®
10	Timbangan analitik	Casbee®
11	Alat-alat gelas	Pyrex®
12	Kertas label	Brand®
13	Kain hitam	
14	<i>Centrifuge</i>	Digisystem Laboratory Instruments®
15	<i>Laminar Air Flow (LAF)</i>	
16	Kapas lidi	
17	Ose steril	
18	<i>Paper disc</i>	
19	Pinset	

Bahan Penelitian

Tabel 2. Bahan-bahan Penelitian

No	Nama Bahan	Sumber/Merek dan Tipe
1	Bunga kecombrang	Gombang, Kebumen Jawa Tengah
2	Siprofloksasin Infus	Novell Pharmaceutical Laboratories®
3	Etanol 70%	Mandiri Surya® /Grade Teknis
4	Koloni <i>Shigella dysenteriae</i>	Laboratorium FKIK UMY
5	Koloni <i>Vibrio cholera</i>	Laboratorium FKIK UMY
6	NaCl fisiologis	Laboratorium FKIK UMY
7	BHI	Laboratorium FKIK UMY
8	Aquadest	Laboratorium FKIK UMY
9	TSA	Laboratorium FKIK UMY

Ekstraksi

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan metode maserasi. Pertama simplisia kering bunga kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan) dihaluskan dengan blender sehingga menjadi serbuk halus. Serbuk halus yang terbentuk selanjutnya direndam dengan pelarut etanol 70%. Perbandingan yang digunakan antara serbuk halus dengan pelarut adalah 1:7 (Depkes RI, 1979). Proses maserasi dilakukan selama 5 hari yang dilanjutkan dengan remaserasi selama 2 hari. Selama maserasi, sesekali serbuk digojog agar penyarian sempurna. Setelah 5 hari, rendaman serbuk disaring dan dipisah antara filtrat dengan ampas yang terbentuk. Filtrat yang telah dipisah diuapkan dengan *rotary evaporator* sampai terbentuk ekstrak kental. Ampas yang terbentuk diremaserasi selama 2 hari. Proses untuk mendapatkan ekstrak kental dari remaserasi sama seperti pada proses maserasi. Untuk menghitung

rendemen dari proses ekstraksi digunakan persamaan 2 berikut:

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Hasil ekstrak}}{\text{Berat serbuk}} \times 100\% . (2)$$

Analisis Kandungan Kimia Dengan Metode KLT

Analisis ini dilakukan terhadap senyawaflavonoida. Flavonoid merupakan sejenis senyawa fenol terbesar yang banyak manfaatnya salah satunya adalah sebagai antibakteri (juliantina, 2008). Larutan uji dibuat 5% dalam pelarut etanol 70%. Selanjutnya plat KLT diberi 2 totolan, yaitu larutan uji dan larutan pembanding flavonoid untuk senyawa yang akan dianalisis. Plat KLT yang telah diberi perlakuan tersebut kemudian dimasukan secara vertikal ke dalam bejana yang telah jenuh dengan fase gerak. Fase gerak akan mengelusi ekstrak tersebut melewati fase diam dan memisahkan sampel sesuai komponen-komponennya. Setelah fase gerak mencapai batas atas yang telah ditentukan pada plat KLT, selanjutnya

plat dikeluarkan dari bejana dan dibiarkan mengering. Deteksi bercak hasil pemisahan dapat dilihat dengan lampu UV 254. Bercak pada larutan yang telah dipisahkan kemudian dibandingkan pada bercak larutan pembanding melalui perhitungan nilai Rf. Fase gerak dan fase diam yang di gunakan pada pengujian ini adalah sebagai berikut:

Fase diam: Silika gel GF254

Fase gerak:butanol:asamasetat:air (3:1:1)

Pembuatan Medium TSA (*Tripton Soya Agar*)

Medium yang digunakan untuk pembiakan bakteri uji adalah medium TSA. Sebanyak 125 gram TSA dilarutkan dalam 1 liter aquadest dan dipanaskan hingga semuanya menjadi larut. Kemudian dimasukan dalam beberapa cawan petri setelah itu di sterilkan dalam oven pada suhu 100 °C selama ± 15 menit. Kemudian media dimasukan ke dalam lemari es dalam keadaan sudah dingin.

Pembuatan Suspensi Bakteri

Ambil beberapa koloni bakteri diambil dan dimasukkan ke dalam larutan NaCl fisiologis lalu digojok dengan menggunakan vortex sampai kelihatan tercampur merata. Selanjutnya inkubasi selama 2 hingga 4 jam pada suhu 37° C. Setelah itu larutan suspensi bakteri tersebut diambil sebanyak 1 ml dan ditambahkan dengan menggunakan nutrien BHI dengan perbandingan 1: 9 sambil dihomogenkan

Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Ekstrak etanol bunga kecombrang dibuat dalam beberapa konsentrasi (10%, 25%, 50%, 75%, 90%). Pembuatan konsentrasi ekstrak di buat dengan cara mengambil beberapa gram ekstrak sesuai dengan konsentrasi yg di inginkan kemudian di larutkan menggunakan aquades yang telah di strilkan, setelah itu rendam *paper disk* ke dalam masing-masing konsentrasi tersebut. Suspensi bakteri

diambil sebanyak 1 ml dengan menggunakan mikropipet lalu diletakan ditengah-tengah cawan petri berisi medium TSA yang sudah memadat. Kemudian diputar-putar cawan petrinya hingga suspensi bakterinya merata. Ambil *paper disk* dengan pinset steril yang telah dipijarkan kemudian tanamkan *paper disk* yang telah direndam dalam masing-masing konsentrasi ekstrak tersebut dan aquadest sebagai control negatif. Dalam cawan tersebut ditanamkan 4 buah cakram dengan jarak minimal antara 28-30 mm, dan jarak minimal cakram dengan tepi cawan petri adalah 20-25 mm, lalu diinkubasi selama 1-2 hari pada suhu 37°C, diamati dan diukur daerah hambatnya. Harga KHM dari masing-masing bakteri uji dinyatakan dalam konsentrasi terkecil yang masih memberikan daya hambat.

Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)

Bakteri uji disiapkan dalam larutan NaCl fisiologis (*Shigella* dan *Vibrio*) kemudian dicampurkan dengan kaldu nutrient BHI dan dihomogenkan, siapkan 7 tabung (tabung 1-6 diisi dengan aquades 1 ml). Larutan stok bahan uji dimasukan dalam tabung 1-5 dengan konsentrasi (10%, 25%, 50%, 75%, 90%) sebanyak 1 ml dan dihomogenkan. Kemudian dimasukan control positif pada tabung positif (+) sebanyak 1 ml, suspensi bakteri 1 ml kedalam tabung 1-6 dan tabung positif dan dihomogenkan, inkubasi semua tabung serta sisa suspensi bakteri pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah itu oleskan bahan uji dalam masing-masing tabung tersebut pada medium TSA menggunakan ose steril yang telah dipijarkan dan beri tanda pada setiap goresan tersebut dan inkubasi selama 24 jam. Kemudian amati apakah ada bakteri yang tumbuh pada setiap goresan tersebut.

Analisis Data

Data hasil penelitian disajikan dengan membuat tabel hasil penelitian. Hasil tersebut kemudian dianalisis dengan membandingkan KHM dan KBM ekstrak bunga kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan) dan kontrol positif Ciprofloksasin terhadap *Shigella dysenteriae* dan *Vibrio cholerae*. Data penelitian ini juga dilakukan analisis statistik dengan uji *one way* ANOVA dengan program SPSS. *One way* ANOVA digunakan untuk menganalisis data dengan lebih dari 2 sampel yang berbeda dengan tingkat signifikansi 95%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi Tanaman

Hasil identifikasi sampel uji yang dilakukan di Laboratorium Farmasi UGM didapat bahwa sampel yang digunakan adalah bunga kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan).

Penyiapan bahan

Sebayak 20 kg bunga kecombrang dikeringkan dibawah panas matahari yang ditutupi kain hitam dan menggunakan oven dengan suhu 60⁰C didapat simplisia sebanyak 3 kg dengan susut pengerigan simplisia 85% kemudian dihaluskan sehingga diperoleh hasil serbuk halus 1,2 kg.

Ekstraksi

Proses ekstraksi bunga kecombrang menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%. Serbuk bunga kecombrang diekstrak sebanyak . kg : 7 L etanol 70% (1:7). Suhu yang digunakan adalah suhu ruangan tanpa terpapar cahaya matahari langsung dengan waktu maserasi selama 5 x 24 jam dan remaserasi 2x 24 jam. Setelah proses maserasi ekstrak etanol bunga kecombrang disaring dengan menggunakan kertas *Whatman* no 1 dan di dapat hasil 6,6 L ekstrak etanol bunga kecombrang. Selanjutnya dilakukan evaporasi yang bertujuan untuk

memisahkan pelarut dari ekstraknya dan didapat ekstrak kental sebanyak 82,254 gram. Ekstrak yang dihasilkan dari bunga kecombrang beraroma wangi khas kecombrang dan berwarna coklat kemerahan (Tabel 4).

Tabel 3. Karakteristi ekstrak bunga kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan)

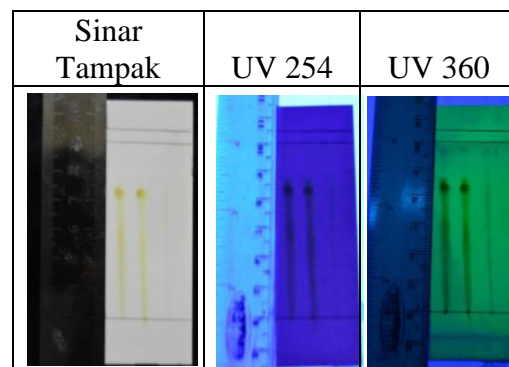
Karakteristik ekstrak	Hasil
Rendemen	6,85%
Warna	Coklat kemerahan
Rasa	Asam, seperti jamu
Bau	Wangi khas bunga kecombrang

Analisis Kandungan Kimia Dengan

Metode KLT

Prosedur uji dengan KLT dilakukan untuk mengetahui kandungan kimia di ekstrak etanol bunga kecombrang. Pelarut pengembang (fase gerak) yang digunakan untuk flavonoid adalah butanol:asam asetat:air (3:1:1) (Rahayu, 2009). Pengujian KLT ini dilanjutkan dengan penyemprotan menggunakan larutan ammonia. Uap amonia digunakan

dalam meningkatkan sensitivitas visualisasi asam organik di mana pH indikator seperti Bromocresol hijau atau bromofenol biru telah digunakan awalnya. Kehadiran amonia memiliki pengaruh pemberian kontras tajam antara zona zat kromatografi dan latar belakang plat KLT (Dorset *et al*, 2000). bercak hasil penyemprotan terlihat berwarna kuning muda dengan pengamatan sinar tampak, dan berwarna biru dengan pengamatan pada UV 254 nm dan UV 366 nm (Tabel 4). Hasil uji KLT dapat dilihat pada gambar 5 berikut:



Gambar 1. Hasil uji KLT ekstrak bunga kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan)

Jarak pengembangan senyawa pada kromatogram biasanya dinyatakan dengan panjang Rf (Refardation factor).

$$R_f = \frac{\text{jarak tempuh komponen}}{\text{jarak tempuh eluen}} = \frac{4,6 \text{ cm}}{6 \text{ cm}} =$$

0.76

Nilai maksimum R_f adalah 1 dan ini dicapai ketika solute mempunyai perbandingan distribusi dan factor retensi sama dengan 0 yang berarti solute bermigrasi dengan kecepatan sama dengan fase gerak. Nilai minimum R_f adalah 0 dan ini teramati jika solute tertahan pada posisi titik awal di permukaan fase diam (Gandjar dan Abdul Rohman, 2007).

Bercak glikosida flavon dan glikosida flavonoid yang khas tampak berwarna lembayung tua dengan sinar UV dan menjadi kuning atau hijau kuning bila disemprot NH_3 , tetapi dijumpai juga sejumlah kombinasi warna lain (Markham, 1988).

Berdasarkan penafsiran warna bercak dari segi struktur flavonoid menurut Markham (1988) flavonoid yang ada di bunga kecombrang (*Nicolaia*

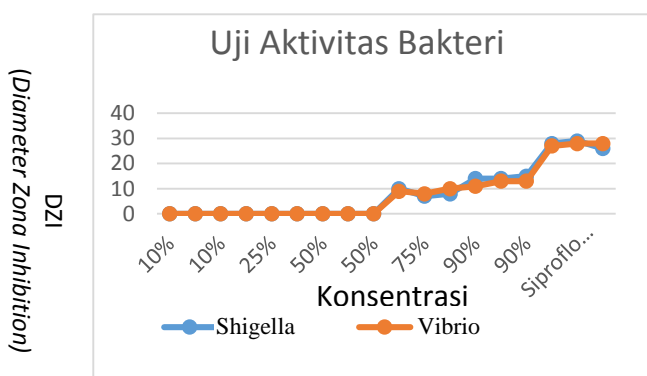
speciosa Horan) adalah jenis isoflavon tanpa 5-OH bebas.

Flavonoid merupakan sejenis senyawa fenol terbesar yang ada, senyawa ini terdiri atas lebih dari 15 atom karbon yang sebagian besar bisa ditemukan dalam kandungan tumbuhan. Flavonoid juga dikenal sebagai vitamin P dan citrin, dan merupakan pigmen yang diproduksi oleh sejumlah tanaman sebagai warna pada bunga yang dihasilkan (Mabry, 1970). Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu keutuhan membran sel bakteri dengan cara mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel bakteri tanpa bisa kembali utuh (Juliantina, 2008). Hasil yang didapat sesuai dengan penelitian Hidayat & Hutapea(1991) yang menyatakan bahwa kandungan kimia pada bunga kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan)

ini adalah alkaloid, flavonoid dan minyak atsiri.

Pengujian Aktivitas Antibakteri

Hasil perlakuan pada pengujian aktivitas antibakteri dapat dilihat pada kurva berikut ini:



Gambar 2. Kurva uji aktivitas antibakteri

Pada uji aktifitas antibakteri ekstrak etanol bunga kecombrang digunakan beberapa konsentrasi yaitu (10%, 25%, 50%, 75%, 90%). Metode yang digunakan adalah metode Dilusi. Dalam penelitian ini dilakukan pengujian KBM (Kadar Bunuh Minimum) ekstrak bunga kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan) dengan menggunakan konsentrasi di atas dan setelah dilakukan pengujian ternyata tidak semua konsentrasi ekstrak bunga

kecombrang menunjukkan hasil positif pada kedua bakteri yaitu *Shigella dysenteriae* dan *Vibrio cholerae*, dari beberapa konsentrasi tersebut hanya 2 konsentrasi yang menunjukkan hasil positif yaitu 75% dan 90%. Dilihat dari hasil uji KBM tersebut didapat bahwa harga KBM ekstrak bunga kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan) terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* dan *Vibrio cholerae* adalah 75%.

Untuk melihat besar daya hambat ekstrak etanol bunga kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan) dilakukan uji KHM (Kadar Hambat Minimum) dengan konsentrasi yaitu (10%, 25%, 50%, 75%, 90%). Metode yang digunakan dalam pengujian ini adalah *Kirby-Bauer disk diffusion susceptibility test*. Metode *Kirby-Bauer* digunakan untuk menentukan sensitifitas bakteri patogen baik yang bersifat aerob maupun anaerob fakultatif terhadap berbagai senyawa anti mikroba (Hudzicki, 2013).

Dalam metode ini digunakan *paper disc*/kertas cakram untuk mengaplikasikan agen antibakteri. Ketika suspensi bakteri diinokulasi ke dalam media dan dalam waktu yang bersamaan dilakukan aplikasi cakram kertas yang mengandung sampel ke dalam media, maka secara simultan pertumbuhan bakteri dan difusi senyawa antibakteri terjadi. Pertumbuhan akan terus terjadi hingga mencapai titik kritis yang ditunjukkan oleh adanya zona hambatan secara radial disekitar cakram kertas. Konsentrasi senyawa antibakteri dalam rentang ini disebut dengan konsentrasi kritis (Hudzicki, 2013).

Hasil dalam penelitian didapatkan bahwa ekstrak bunga kecombrang (*Nicolaias speciosa* Horan) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* dan *Vibrio cholerae*.

Terbentuknya zona hambat ini dikarenakan adanya zat antibakteri yang

ada dalam ekstrak tersebut. Hasil penelitian ini menyatakan bahwa bunga kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan) mengandung beberapa senyawa antibakteri seperti flavonoid. Hal tersebut sesuai dengan literatur yang dijadikan acuan (Naufalin dan Rukmini, (2010) dan Hakim (2009)).

B. Hasil uji antibakteri ekstrak bunga kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan)

Bakteri uji	Konsentrasi ekstrak bunga kecombrang (%)	DZI(mm)			DZI rata-rata(mm)	Harga KBM (%)
		Replikasi				
		1	2	3		
<i>Shigella dysenteriae</i>	10	0	0	0	0	75%
	25	0	0	0	0	
	50	0	0	0	0	
	75	10	7	8	8,33	
<i>Vibrio cholerae</i>	90	14	14	15	14,33	75%
	10	0	0	0	0	
	25	0	0	0	0	
	50	0	0	0	0	
	75	9	8	10	9	
	90	11	13	13	12,33	

Untuk melihat keefektipan ekstrak bunga kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan) dalam menghambat pertumbuhan bakteri tersebut digunakan pembanding Siprofloksasin sebagai kontrol positif. Siprofloksasin merupakan antibiotik spektrum luas (*broad spectrum*) golongan floroquinolon yang paling umum digunakan dengan mekanisme

menghambat DNA girase yang terdapat dalam bakteri (Chaudari *et al*, 2004).

Berdasarkan pengamatan uji aktivitas antibakteri dari masing konsentrasi dan control positif diketahui bahwa perlakuan beberapa konsentrasi ekstrak memiliki efek yang sama dengan siprofloksasin sebagai control positif, namun hasil pengamatan diketahui bahwa kemampuan penghambatan ekstrak bunga kecombrang lebih lemah apabila dibandingkan dengan siprofloksasin dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* dan *Vibrio cholerae*.

Data hasil pengujian antibakteri dari masing-masing konsentrasi selanjutnya dilakukan analisis untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan yang signifikan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* dan *Vibrio cholerae*.

Nilai DZI yang diperoleh dari masing-masing konsentrasi dan siprofloksasin dilakukan analisis deskriptif dan parametrik dengan uji *one way* ANOVA berguna untuk mengetahui perbedaan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* dan *Vibrio cholerae*. Analisis deskriptif bertujuan untuk mengetahui rata-rata dari konsentrasi dan siprofloksasin yang memiliki DZI terbesar. Hasil dari analisis deskriptif dari konsentrasi dan siprofloksasin.

Selanjutnya untuk melihat signifikansi diantara hasil konsentrasi dan siprofloksasin tersebut dilakukan dengan uji parametrik *one way* ANOVA. Sebelum dilakukan uji *one way* ANOVA dilakukan pengujian normalitas data dan varians sebagai syarat pengujian. Dari hasil uji diketahui bahwa data yang digunakan dalam penelitian ini adalah berdistribusi normal dan memiliki varians yang identik sehingga memenuhi

persyaratan uji *one way* ANOVA. Hasil analisa uji *one way* ANOVA menunjukkan bahwa rata-rata DZI dari konsentrasi dan siprofloksasin tersebut memang berbeda. Untuk mengetahui perbedaan yang signifikan pada konsentrasi dan siprofloksasin tersebut maka dilakukan uji lanjutan melalui *multiple comparison* dengan uji Tukey.

Hasil uji Tukey tersebut menunjukkan bahwa konsentrasi 75%, 90% dan siprofloksasin lebih signifikan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* dan *Vibrio cholerae*. Dari hasil pengujian dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol bunga kecombrang dengan konsentrasi 75% dan 90% memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* dan *Vibrio cholerae*.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasn yang telah dilakukan, diperoleh kesimpulan sebagai berikut: Dari hasil penelitian didapat bahwa ekstrak bunga kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan) mempunyai daya hambat terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* dan *vibrio cholerae*. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak bunga kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan) terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* dan *Vibrio cholerae* berada pada konsentrasi 75%, hal ini ditunjukkan karena adanya DZI (*Diameter Zona Inhibition*) terhadap kedua bakteri dalam penelitian ini. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ekstrak bunga kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan) terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* dan *Vibrio cholerae* berada pada konsentrasi 75%, hal ini ditunjukkan tidak adanya aktivitas kedua bakteri pada media agar.

Saran

Melakukan uji antibakteri dari ekstrak bunga kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan) dengan menggunakan metode pengujian lain yang belum digunakan oleh peneliti sebelumnya. Melakukan uji antibakteri dari ekstrak bunga kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan) terhadap bakteri lain yang belum digunakan oleh peneliti sebelumnya.

Bauer A.W., Kirby W.M., Sherris JC, Turck M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol.* 1966 Apr; 45(4):493–496. Pubmed.

CDC. (2011). National *Shigella* Surveillance Overview. Atlanta, Georgia: US Departement of Health and Human Service.

CDC. (2013). Shigellosis. Retrieved 9 Mei, 2014, from <http://www.cdc.gov/nczved/divisions/dfbmd/diseases/shigellosis/#top>.

Chandury A. (2003). In vitro activity of Cefirome A new fourth generation cephalosporin. *Indian J. Of Medical Microbiology*; 21:50-51.

Chaudari, S., P. Suryawanshi, S. Ambardekar, M. Chinchwadkar and A. Kinare (2004). Safety profil of ciprofloxacin used for neonatal septicemia. *Indian Pediatrics.* 41: 1246-1251

Christopher J. Colvin, Helen J. Smith, Alison Swartz, Jill W. Ahs, Jodie de Heer, Newton Opiyo, Julia C. Kim, Toni Marraccini, Asha

DAFTAR PUSTAKA

Alliance for the Prudent Use of Antibiotics. (2013). General Background: Antibiotics Agents, Retrieved 29 Mei, 2014, from http://www.tufts.edu/med/apua/about_issue/agents.shtml.

Arifin, Sjamsul. 1985. Kimia Organik Bahan Alam. Universitas Terbuka.

Ashtiani, M.T., Monajemzadeh, M., Kashi, L. (2009). Trends in Antimicrobial Resistance of Fecal *Shigella* and Salmonella Isolates in Tehran, Iran [Abstract]. *Indian J Pathol Microbiol.* 52 (1): 52-55.

- George (2013). Understanding careseeking for child illness in sub-Saharan Africa: A systematic review and conceptual framework based on qualitative research of household recognition and response to child diarrhoea, pneumonia and malaria. Review Article *Social Science & Medicine*, Volume 86, June 2013, Pages 66-78
- CLSI. (2007). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Seventeenth Informational Supplement*. 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898, USA. 27 (1)
- Daldiyono, & Marcellu. (2006). *Buku Ajaran Ilmu Penyakit Dalam*. Jakarta: Pusat Penerbit Departemen Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Depkes, R. (1979). *Farmakope Indonesia Edisi Ketiga*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Dipiro, J.T., Talbert, R.L., Yee, G.C., Matzke, G.R., Wells, B.G., Posey, L.M. (2008). *Pharmacotherapy: A Pathophysiologic Approach*. 17th Ed. Mc Graw Hill.
- Ditjen POM. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Cetakan Pertama. Departemen Kesehatan RI. Jakarta.
- Habsah, M., Ali, A.M., Lajis, N.H., Sukari, M.A., Yap, Y.H., Kikuzaki, H. dan Nakatani, N. (2005). Antitumor-Promoting and cytotoxic Constituents of *Etlingera Elatior*. *Malaysian Journal of Medical Sciences*, Vol 12, No. 1, Januari 2005 (6-12)
- Hakim, A. R. (2009). *Uji Potensi Antifungi Ekstrak Rimpang Kecombrang (Nicolaiia speciosa) Terhadap Trichophyton mentagrophytes dan Trichophyton rubrum*. Jakarta: Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.
- Herwana, E., Surjawidjaja, J.E., Salim, O.C., Indriani, N., Bukitwetan, P., Lesmana, M. (2010). *Shigella-Associated Diarrhea in Children In South Jakarta, Indonesia*. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 41 (2): 418-425

- Hidayat, S., & Hutapea, J. (1991). *Inventasi Tanaman Obat Indonesia, Edisi 1*: 440-441. Badan Penelitian dan Pengembangan Depkes RI.
- Hudzicki, J. (2013). Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol. <http://www.microbelibrary.org/library/laboratory-test/3189-kirby-bauer-disk-diffusion-susceptibility-test-protocol>.
- Ilmu Kimia, A.D. (2012). Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Ilmu Kimia.
- Irianto, K. (2006). *Mikrobiologi: Mengungkap Dunia Mikroorganisme. Jilid 1*. Yogyakarta: Perpustakaan Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada.
- Jawetz., Melnick., Adelberg'S. (1996). *Mikrobiologi Kedokteran Edisi 20*. Yogyakarta: Perpustakaan Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada.
- Jawetz., Melnick., Adelberg'S. (2005). *Mikrobiologi Kedokteran*. Yogyakarta: Perpustakaan Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada.
- Mabry, T.J., Markham, K.R., Thomas, M.B., (1970), *The Systematic and Identification of Flavonoid*, Hal 3-56, Springer-Verlag, New York, Helderberg-Berlin.
- Mardiastuti H W., Karuniiawti A., Kiranasari A., Ikaningsih., & Kadarsih R. (2007). *Emerging Resistance Pathogen: Situasi Terkini di Asia, Eropa, Amerika Serikat, Timur Tengah dan Indonesia*. Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Markham, K.R., (1988), *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, 15, Penerbit ITB, Bandung.
- Nafianti, S., Sinuhaji, A.B. (2005). Resistensi Trimetoprim-Sulfametoksazol Terhadap Shigellosis. *Sari Pediatri*. 7 (1) : 39-44.
- Naufalin, R., & Rukmini, H. (2010). Antimicrobial Affectivity of Kecombrang (*Nicolaia speciosa*): The Effect Part of Kecombrang Plants Into Food

- Bacteria and Fungi. *Skripsi*. Jenderal Soedirman University, Purwokerto, Central Java, Indonesia.
- Noerosid, H., & Suraatmadja, S.D. (2003). *Gastroenterologi Anak Praktis*. Jakarta: Perpustakaan Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada.
- P. E. Wall, Merck Ltd, Poole, Dorset, UK (2000). *Spray Reagents*. Copyright 2000 Academic Press.
- Putri, H. (2008). *Efek Antibakteri Infusa dan Ekstrak Buah Sawo (Maniklara zapota) Terhadap Berbagai Bakteri Penyebab Diare Secara in vitro, Skripsi*. Yogyakarta: Perpustakaan Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.
- Rahayu, L. (2009). Isolasi dan Identifikasi senyawa flavonoid dari Biji Kacang Tunggak (*Vigna unguiculata* L.). Universitas Brawijaya Malang.
- Rao, S. (2012). *Antibiotics and Antibiotic Resistance*. Davangere: Perpustakaan Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada.
- Salem, M., Nazir, M., & Ali, M.E. (2010). Antimicrobial Natural Products: An Update on Future Antibiotic Drug Candidates. *The Royal Society of Chemistry*.
- Shigellosis Investigation Guidelines. (2012). *Shigellosis: Disease Management and Investigation Guidelines*. Kansas.
- Simanjuntak, P. (2003). *Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Sambiloto*. Yogyakarta: Majalah Farmasi Indonesia.
- Tumah H. (2005). Fourth-Generation Cephalosporins: *In vitro* Activity against Nosocomial Gram-Negative Bacilli Compared with β -Lactam Antibiotics and Ciprofloxacin. *Chemotherapy* 2005; 51: 80-85
- WHO. (2011). *Tackling Antibiotic Resistance From a food safety Perspective in Europe*.
- Wijaya, Y. (2012). Faktor Risiko Kejadian Diare Balita di Sektor TPS Banaran Kampus UNNES. *Unnes Journal of Public Health. UJPH* 1 (1) 2012

