

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit infeksi yang disebabkan oleh mikroorganisme patogen masih menjadi permasalahan penting dalam bidang kesehatan masyarakat. Salah satu kelompok mikroorganisme yang banyak menyebabkan penyakit pada manusia adalah bakteri patogen. Bakteri patogen merupakan bakteri yang mampu menimbulkan penyakit pada inangnya melalui berbagai mekanisme, seperti invasi jaringan, produksi toksin, serta kemampuan menghindari sistem pertahanan tubuh inang. Keberadaan bakteri patogen dapat menyebabkan gangguan kesehatan ringan hingga berat, tergantung pada jenis bakteri, tingkat virulensi, serta kondisi inang (Pandey *et al.*, 2014).

Salah satu bakteri patogen yang sering menjadi penyebab penyakit pada manusia adalah *Escherichia coli*. Bakteri ini merupakan bakteri Gram negatif yang secara normal hidup sebagai flora normal di saluran pencernaan manusia dan hewan. Namun, beberapa strain *E. coli* bersifat patogen dan mampu menyebabkan berbagai penyakit, seperti diare, diare berdarah, infeksi saluran kemih, hingga keracunan makanan.

Kasus infeksi *Escherichia coli* sebagai penyebab keracunan makanan telah banyak dilaporkan di berbagai negara. Salah satu kasus yang paling menonjol terjadi di Jerman pada tahun 2011, ketika terjadi wabah besar infeksi *Escherichia coli* enterohemorrhagic (EHEC) serotipe O104:H4. Wabah ini menyebabkan ribuan kasus diare berat disertai komplikasi serius berupa *Hemolytic Uremic Syndrome* (HUS) yang dapat berujung pada gagal ginjal dan kematian. Pada tahap awal

penyelidikan epidemiologi, beberapa sampel timun (mentimun) yang beredar di pasar Hamburg terdeteksi mengandung *E. coli* sehingga diduga sebagai sumber penyebaran infeksi. Meskipun penyelidikan lanjutan menunjukkan bahwa sumber utama wabah berasal dari kecambah (*sprouts*), kasus ini menegaskan bahwa sayuran segar seperti timun sangat rentan terkontaminasi bakteri patogen *E. coli* dan dapat menjadi media penularan penyakit jika tidak ditangani secara higienis. Wabah ini dilaporkan menyebabkan lebih dari 3.900 kasus infeksi dan sekitar 50 kematian di Jerman (Frank *et al.*, 2011; WHO, 2011).

Salah satu sumber antibakteri alami yang berpotensi dikembangkan adalah tanaman obat. Sembung rambat (*Mikania micrantha*) merupakan tanaman liar yang banyak tumbuh di wilayah tropis, termasuk Indonesia, dan secara tradisional digunakan sebagai obat luka, antiseptik, serta antiinflamasi. Beberapa penelitian melaporkan bahwa tanaman sembung rambat mengandung senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, tanin, alkaloid, dan saponin yang diketahui memiliki aktivitas antibakteri terhadap berbagai bakteri patogen (Perawati *et al.*, 2020).

Berdasarkan uraian tersebut, perlu dilakukan penelitian ilmiah untuk menguji efektivitas ekstrak sembung rambat sebagai antibakteri terhadap *Escherichia coli*. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan bukti ilmiah mengenai potensi ekstrak sembung rambat sebagai alternatif antibakteri alami serta menjadi dasar pengembangan bahan antibakteri yang aman dan ramah lingkungan dalam upaya pengendalian bakteri patogen.

berbagai senyawa fitokimia yang terdapat pada tanaman, seperti flavonoid, fenolik, tanin, alkaloid, dan saponin, memiliki aktivitas antibakteri melalui mekanisme yang berbeda-beda, antara lain dengan merusak struktur membran sel

bakteri, mengganggu permeabilitas dinding sel, serta menghambat aktivitas enzim yang berperan dalam metabolisme bakteri.

Sembung rambat (*Mikania micrantha*) merupakan tanaman liar yang banyak tumbuh di Indonesia dan umumnya dianggap sebagai gulma. Meskipun demikian, tanaman ini berpotensi dimanfaatkan sebagai sumber antibakteri alami karena, secara umum, tanaman yang mengandung flavonoid dan senyawa fenolik diketahui mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen.

1.2 Rumusan Masalah

Escherichia coli merupakan bakteri Gram-negatif yang dapat menyebabkan berbagai macam infeksi, mulai dari diare ringan hingga infeksi berat seperti gastroenteritis, infeksi saluran kemih, dan bahkan sepsis. Pada umumnya, *Escherichia coli* menyerang organ pencernaan dan dapat menyebar melalui makanan atau minuman yang terkontaminasi, lingkungan yang tidak higienis, serta sanitasi yang buruk, sehingga memberikan dampak penting terhadap kesehatan manusia.

Sembung rambat (*Mikania micrantha*) merupakan tanaman gulma yang tumbuh liar dan belum banyak dimanfaatkan secara optimal, meskipun diketahui mengandung berbagai senyawa bioaktif seperti flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, dan terpenoid yang berpotensi sebagai antibakteri. Senyawa flavonoid dalam *Mikania micrantha* diketahui mampu merusak struktur membran sel bakteri, sedangkan tanin dan senyawa fenolik berperan dalam mengendapkan protein serta menghambat aktivitas enzim bakteri, sehingga dapat mengganggu metabolisme dan pertumbuhan mikroorganisme patogen

Saat ini, masyarakat cenderung mengandalkan obat-obatan kimia sebagai langkah utama dalam mengatasi infeksi bakteri. Penggunaan antibiotik secara berlebihan menyebabkan meningkatnya kasus resistensi bakteri, termasuk pada *Escherichia coli*. Oleh karena itu, diperlukan upaya untuk meningkatkan kesadaran masyarakat mengenai pentingnya pemanfaatan bahan alam di sekitar, termasuk gulma seperti daun sembung rambat, yang selama ini kurang dimanfaatkan namun memiliki nilai potensial sebagai antibakteri alami.

Berdasarkan hal tersebut, perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui apakah ekstrak sembung rambat (*mikania micrantha*) efektif sebagai antibakteri terhadap *Escherichia coli*.

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk Mendapatkan konsentrasi ekstrak daun sembung rambat yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Menguji kandungan ekstrak daun sembung rambat (*mikania micrantha*) sebagai bahan antibakteri patogen *Escherichia coli*.
2. Mengembangkan ilmu pengetahuan mengenai penggunaan bahan alam sebagai bahan antibakteri.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Sembung Rambat (*Mikania micrantha*)

Sembung rambat (*Mikania micrantha*) merupakan tanaman gulma invasif yang termasuk ke dalam famili Asteraceae dan banyak ditemukan di wilayah tropis dan subtropis. Tanaman ini memiliki laju pertumbuhan yang sangat cepat, bersifat merambat, serta mampu beradaptasi pada berbagai kondisi lingkungan, mulai dari lahan terbuka, perkebunan, hingga tepi hutan. Di beberapa negara, tanaman ini sering dijadikan sebagai pakan ternak. Di Afrika, daunnya dimanfaatkan sebagai sayuran yang dikonsumsi secara rutin. Selain itu, sembung rambat dimanfaatkan sebagai tanaman obat dan tanaman penutup tanah.

Di Indonesia, tanaman sembung rambat dikenal luas dan tumbuh liar di berbagai daerah. Tanaman ini memiliki batang lunak yang menjalar, daun berbentuk segitiga hingga oval dengan ujung meruncing, serta berwarna hijau tua. Daunnya memiliki aroma khas ketika diremas dan secara tradisional dimanfaatkan sebagai obat luka, antiinflamasi, serta antimikroba oleh masyarakat (Sankaran dan Ebenezer, 2014).

Sembung rambat juga memiliki sebutan yang berbeda di setiap daerah seperti Blukar (Sumatra), Brojo Lego (Jawa), Hila Hitu Lama (Ambon), Akar Bulou (Kalimantan), Caputuheun (Sunda), Siroppaspara (Tapanuli Selatan). Sembung rambat (*Mikania micrantha*) diketahui mengandung berbagai senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, dan terpenoid yang berperan penting dalam aktivitas biologisnya. Kandungan senyawa bioaktif tersebut dilaporkan memiliki potensi sebagai antibakteri, antioksidan, antiinflamasi, serta

mempercepat penyembuhan luka. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun sembung rambat mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen seperti *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, sehingga berpotensi dikembangkan sebagai sumber antibakteri alami. Pemanfaatan gulma invasif ini sebagai bahan obat tidak hanya memberikan nilai tambah secara ekonomi, tetapi juga dapat menjadi alternatif solusi dalam pengendalian populasinya di lingkungan pertanian dan perkebunan

Adapun klasifikasi tanaman sembung rambat adalah sebagai berikut:

Divisi	:	Magnoliophyta
Subdivisi	:	Angiospermae
Kelas	:	Magnoliopsida
Bangsa	:	Asterales
Suku	:	Asteraceae
Marga	:	<i>Mikania</i>
Jenis	:	<i>Mikania micrantha</i> Kunth



Gambar 2.1 Sembung Rambat (*Mikania micrantha*)

Daun *Mikania micrantha* diketahui mengandung berbagai senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai antimikroba, antara lain flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, dan terpenoid. Kandungan metabolit sekunder tersebut menjadikan tanaman ini memiliki aktivitas biologis yang cukup luas, termasuk sebagai antibakteri. Keberadaan senyawa flavonoid dan tanin dalam jumlah relatif tinggi berperan penting dalam aktivitas antibakteri melalui mekanisme kerusakan membran sel dan penghambatan metabolisme mikroba (Sankaran dan Ebenezer, 2014).

2.2 Keamanan Pangan

Keamanan pangan merupakan kondisi dan upaya yang diperlukan untuk mencegah pangan dari kemungkinan cemaran yang dapat membahayakan kesehatan manusia. Berdasarkan Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia, keamanan pangan didefinisikan sebagai kondisi dan upaya untuk mencegah pangan dari cemaran biologis, cemaran kimia, dan cemaran benda lain yang dapat mengganggu, merugikan, dan membahayakan kesehatan manusia sehingga pangan tersebut aman untuk dikonsumsi (BPOM RI, 2018).

Pangan yang aman tidak hanya harus memenuhi nilai gizi dan cita rasa, tetapi juga harus bebas dari berbagai bentuk bahaya yang dapat membahayakan kesehatan konsumen. Bahaya pangan dapat muncul pada setiap tahapan rantai pangan, mulai dari proses produksi, pengolahan, penyimpanan, hingga distribusi. Oleh karena itu, penerapan sistem keamanan pangan menjadi sangat penting untuk mencegah terjadinya risiko kesehatan akibat konsumsi pangan yang tercemar. Secara umum, bahaya dalam pangan dikelompokkan ke dalam tiga kategori utama, yaitu bahaya fisik, kimia, dan biologis.

Keamanan pangan secara fisik merupakan kondisi pangan yang bebas dari

cemaran berupa benda asing yang tidak seharusnya terdapat dalam bahan pangan dan berpotensi menimbulkan cedera fisik pada konsumen. Cemaran fisik dapat berupa logam, kaca, plastik, batu, serpihan kayu, maupun benda asing lainnya yang dapat masuk ke dalam pangan selama proses produksi, pengolahan, penyimpanan, atau distribusi. Keberadaan cemaran fisik ini dapat menyebabkan risiko tersedak, luka pada mulut, serta gangguan pada saluran pencernaan, sehingga perlu dikendalikan secara ketat dalam sistem keamanan pangan (Singh *et al.*, 2019).

Keamanan pangan secara kimia adalah kondisi pangan yang tidak mengandung senyawa kimia berbahaya atau residu bahan kimia dalam jumlah yang melebihi batas aman bagi kesehatan manusia. Cemaran kimia dalam pangan dapat berasal dari residu pestisida, logam berat, penggunaan bahan tambahan pangan yang tidak sesuai ketentuan, racun alami, maupun kontaminasi bahan kimia selama proses pengolahan dan penyimpanan. Paparan cemaran kimia melalui pangan dapat menimbulkan dampak kesehatan baik akut maupun kronis, seperti keracunan dan gangguan fungsi organ, sehingga pengendalian bahaya kimia menjadi aspek penting dalam upaya menjamin keamanan pangan (Singh *et al.*, 2019).

Keamanan pangan secara biologis merupakan kondisi pangan yang bebas dari mikroorganisme patogen dan agen biologis lain yang dapat menyebabkan penyakit pada manusia. Cemaran biologis meliputi bakteri patogen, virus, parasit, serta jamur beserta toksin yang dihasilkannya. Kontaminasi biologis umumnya terjadi akibat sanitasi yang tidak memadai, penanganan pangan yang tidak higienis, serta penyimpanan pangan yang tidak sesuai standar. Bahaya biologis merupakan penyebab utama terjadinya penyakit bawaan pangan (*foodborne disease*) yang berdampak langsung terhadap kesehatan konsumen (Singh *et al.*, 2019).

2.3 Mikroorganisme Patogen

Mikroorganisme merupakan makhluk hidup berukuran sangat kecil yang tidak dapat dilihat tanpa alat bantu seperti mikroskop. Mikroorganisme dapat berupa archaea, bakteri, jamur, maupun khamir. Kehadiran mikroorganisme di lingkungan dapat memberikan manfaat, namun sebagian lainnya bersifat patogen dan dapat menyebabkan penyakit pada manusia. Salah satu mikroorganisme patogen yang sering ditemukan pada pangan, air, maupun lingkungan adalah *Escherichia coli* (*E. coli*).

Infeksi *Escherichia coli* sering berkaitan dengan penurunan kualitas higienitas dan sanitasi lingkungan. Bakteri ini dapat ditularkan melalui jalur oral, yaitu makanan atau minuman yang terkontaminasi, sehingga masuk ke saluran pencernaan dan berkembang biak di dalam tubuh (WHO, 2020).

Kasus infeksi *Escherichia coli* banyak ditemukan di negara berkembang, termasuk Indonesia, karena masih adanya permasalahan terkait air bersih, sanitasi, dan keamanan pangan (Depkes RI, 2018). World Health Organization (WHO) melaporkan bahwa diare akibat bakteri patogen seperti *Escherichia coli* menjadi salah satu penyebab utama kesakitan dan kematian, terutama pada anak-anak di bawah lima tahun di negara berkembang (WHO, 2017). Infeksi *Escherichia coli* menjadi lebih berbahaya ketika antibiotik tidak lagi efektif akibat meningkatnya resistensi antimikroba. Resistensi ini menyulitkan pengobatan dan meningkatkan risiko komplikasi serius (Ventola, 2015).

Sebagian besar strain *E. coli* sebenarnya bersifat komensal dan hidup tanpa menimbulkan penyakit. Namun, beberapa strain patogen seperti EHEC (*Enterohemorrhagic E. coli*), ETEC (*Enterotoxigenic E. coli*), EPEC

(*Enteropathogenic E. coli*), dan EIEC (*Enteroinvasive E. coli*) dapat menyebabkan gangguan kesehatan seperti diare, muntah, kram perut, hingga infeksi sistemik.

Kontaminasi *E. coli* sering ditemukan pada produk pangan seperti sayuran mentah, daging, susu, dan air minum. Kondisi sanitasi yang buruk, kurangnya ketersediaan air bersih, serta perilaku higienitas yang rendah menjadi faktor utama penyebaran bakteri ini.

Sebagai bakteri patogen, *E. coli* memiliki berbagai mekanisme untuk menginfeksi sel inang, seperti kemampuan menempel pada mukosa usus, menghasilkan toksin, melakukan invasi jaringan, serta menghindari sistem imun tubuh. Bakteri ini juga dapat berkembang biak dengan cepat pada kondisi lingkungan yang mendukung, sehingga menyebabkan infeksi dalam waktu singkat. Penularan *E. coli* patogen umumnya terjadi melalui konsumsi makanan atau air yang terkontaminasi, terutama pada bahan pangan segar yang dikonsumsi tanpa proses pemanasan yang memadai (Basera *et al.*, 2020).

Masalah kontaminasi *E. coli* pada pangan sangat berkaitan dengan keamanan pangan. Makanan yang terkontaminasi bakteri patogen dapat menyebabkan kejadian luar biasa (KLB) diare atau keracunan pangan. Oleh karena itu, diperlukan alternatif penanganan non-kimia yang lebih aman, salah satunya menggunakan bahan alami seperti ekstrak Sembung rambat (*Mikania micrantha*) diketahui mengandung berbagai senyawa bioaktif seperti flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, dan terpenoid yang berpotensi sebagai antibakteri.

2.4 Ekstraksi

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang ditetapkan.

Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan kandungan senyawa kimia dari jaringan tumbuhan ataupun hewan dengan menggunakan penyaring tertentu. Untuk pengambilan bahan aktif dari suatu tanaman, dapat dilakukan dengan ekstraksi. Dalam proses ekstraksi ini, bahan aktif akan terlarut oleh zat penyaring yang sesuai sifat kepolarannya. Metode ekstraksi dipilih berdasarkan beberapa faktor seperti sifat dari bahan yang mentah, daya penyesuaian dengan tiap macam metode ekstraksi dan kepentingan dalam memperoleh ekstrak yang sempurna atau mendekati sempurna.

Tujuan utama ekstraksi ini adalah untuk mendapatkan atau memisahkan sebanyak mungkin zat-zat yang memiliki khasiat pengobatan. Proses ekstraksi dapat berjalan dengan baik bila pelarut ideal memenuhi syarat- syarat yaitu selektivitasnya tinggi, memiliki perbedaan titik didih dengan solute cukup besar, bersifat inert, perbedaan densiti cukup besar, tidak beracun, tidak bereaksi secara kimia dengan solute maupun diluen, viskositasnya kecil, tidak bersifat korosif, tidak mudah terbakar, murah dan mudah didapat.

Beberapa faktor yang berpengaruh dalam proses ekstraksi adalah temperatur, waktu kontak, perbandingan solute, faktor ukuran partikel, pengadukan dan waktu dekantasi. Proses ekstraksi dapat dilakukan dengan metode maserasi, proses ini dilakukan dengan merendam serbuk simplisia dalam pelarut hingga

seluruh serbuk simplisia terendam seluruhnya. Metode dasar dari ekstraksi adalah maserasi dan perkolasi. Biasanya metode ekstraksi dipilih berdasarkan beberapa faktor seperti sifat dari bahan dan daya penyesuaian dengan tiap macam metode ekstraksi, dan kepentingan dalam memperoleh ekstrak yang sempurna atau mendekati sempurna.

Maserasi merupakan proses perendaman sampel menggunakan pelarut organik pada temperatur ruangan. Proses ekstraksi ini dilakukan dengan merendam serbuk simplisia dalam pelarut hingga seluruh serbuk simplisia terendam seluruhnya. Larutanya kandungan kimia simplisia saat proses maserasi, umumnya akan terjadi apabila pelarut menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel, dalam rongga sel inilah terdapat senyawa aktif yang dapat larut di dalam pelarut. Perbedaan konsentrasi antara larutan senyawa aktif di dalam sel dengan diluar sel menyebabkan larutan dengan konsentasi tinggi didesak keluar ke konsentrasi rendah. Apabila telah terjadi keseimbangan konsentrasi di dalam dan di luar sel, maka proses ekstraksi akan berhenti. Oleh karena itu, pada proses maserasi disertai pula dengan pengadukan agar terjadi perputaran pelarut sehingga akan diperoleh ekstrak yang optimal.

Perkolasi adalah penyarian dengan mengalirkan cairan penyari melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi. Alat yang digunakan untuk mengekstraksi disebut perkolator, dengan ekstrak yang telah dikumpulkan disebut perkolat.

Ekstraksi daun sembung rambat (*Mikania micrantha*) dilakukan menggunakan metode maserasi. Metode ini diadaptasi dari penelitian yang dilakukan oleh Al Muzafri dan Karno (2022) dengan beberapa modifikasi yang disesuaikan dengan bahan dan tujuan penelitian. Bahan tanaman dibersihkan,

dikeringkan, dan dihaluskan hingga menjadi serbuk simplisia. Selanjutnya, serbuk dimaserasi menggunakan pelarut pada suhu ruang dalam wadah tertutup. Proses maserasi dilakukan selama beberapa hari dengan pengadukan berkala untuk mempercepat pelarutan senyawa aktif. Filtrat yang diperoleh kemudian disaring dan diuapkan menggunakan rotary evaporator hingga diperoleh ekstrak kental, yang selanjutnya digunakan untuk pengujian aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli*.

2.5 Antibakteri

Antibakteri merupakan senyawa kimia yang dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri. Bahan antibakteri yang baik adalah bahan yang dapat membunuh bakteri secara efektif tetapi tidak mengiritasi jaringan sekitarnya. Faktor-faktor yang berpengaruh pada aktivitas zat antibakteri adalah pH, suhu stabilitas senyawa, jumlah bakteri yang ada, lingkungan inkubasi dan aktivitas metabolisme bakteri. Aktivitas antibakteri dibedakan menjadi 2 macam yaitu aktivitas bakteriostatik (menghambat pertumbuhan tetapi tidak membunuh bakteri patogen) dan bakterisidal (dapat membunuh bakteri patogen). Mekanisme kerja flavonoid sebagai antimikroba adalah dengan menghambat fungsi membran sel yang membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler, mekanisme lainnya adalah flavonoid menghambat fungsi membran sel dengan cara mengganggu permeabilitas membran sel dan menghambat ikatan enzim seperti ATPase dan *phospholipase* (Rijayanti, 2014).

Mekanisme kerja lainnya yaitu kandungan senyawa saponin sebagai antimikroba yang dapat menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel.

Saponin dapat menjadi anti bakteri karena zat aktif permukaannya mirip detergen, akibatnya saponin akan menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri dan merusak permeabilitas membran. Rusaknya membran sel ini sangat mengganggu kelangsungan hidup bakteri. Saponin berdifusi melalui membran luar dan dinding sel yang rentan kemudian mengikat membran sitoplasma sehingga mengganggu dan mengurangi kestabilan membran sel (Rijayanti, 2014).

Mekanisme kerja lainnya yaitu tanin sebagai antibakteri penghambat enzim reverse transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk (Rijayanti, 2014).

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan 20 Mei 2026 sampai dengan 22 Juli 2026 di Laboratorium Terpadu program studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Pasir Pangaraian, Desa Kumu, Kecamatan Rambah Hilir, Kabupaten Rokan Hulu.

3.2 Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan adalah daun sembung rambat. Bahan kimia dan media yaitu nutrient agar (NA), DMSO, NaCl fisiologis 0,9 %, etil asetat, aquades, air, dan biakan bakteri *Escherichia coli*. Alat yang digunakan terdiri dari cawan petri, tabung reaksi, laminar flow, autoklaf, *eppendorf*, *beaker glass*, inkubator, erlemeyer, pisau, kertas label, kamera, oven, hotplate, jarum ose, desikator, pinset, Bunsen, blender, timbangan, corong, *Rotary Evaporator*, kertas cakram dan jangka sorong.

3.3 Pelaksanaan Penelitian

Penelitian dilakukan dengan 3 tahap pengujian, yaitu : Tahap pertama adalah ekstraksi komponen antimikroba daun sembung rambat (*mikania micrantha*), Penelitian tahap kedua yaitu, uji fitokimia dari ekstrak sembung rambat, pada tahap ketiga yaitu menguji ekstrak daun sembung rambat sebagai aktivitas penghambat bakteri *Escherichia coli* dengan variasi konsentrasi.

3.3.1 Sterilisasi Alat

Seluruh alat yang digunakan dalam penelitian ini di cuci bersih, kemudian disterilisasi di autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm.

3.3.2 Ekstraksi Daun Sembung Rambat (*Mikania micrantha*)

Daun sembung rambat (*Mikania micrantha*) yang digunakan dalam penelitian ini diambil dari tanaman yang sehat dan tidak terserang penyakit. Daun segar dicuci menggunakan air mengalir untuk menghilangkan kotoran dan debu, kemudian ditiriskan. Selanjutnya, daun dikeringkan menggunakan oven pada suhu 40–45°C sampai diperoleh daun kering. Daun kering kemudian dihaluskan menggunakan blender hingga diperoleh serbuk simplisia.

Sebanyak ± 100 gram serbuk daun *Mikania micrantha* dimasukkan ke dalam wadah tertutup, kemudian ditambahkan pelarut etanol 96% dengan perbandingan bahan dan pelarut 1:10 (b/v). Campuran tersebut dimaserasi selama 3×24 jam pada suhu ruang, sambil sesekali diaduk untuk mempercepat proses penarikan senyawa aktif. Setelah proses maserasi selesai, larutan disaring menggunakan kertas saring Whatman No. 1 untuk memisahkan filtrat dan ampas.

Filtrat hasil maserasi selanjutnya dipisahkan berdasarkan jenis pelarut dan diuapkan menggunakan vacuum rotary evaporator pada suhu 50°C hingga pelarut terpisah dari ekstrak Sembung rambat.

3.3.3 Uji Fitokimia Ekstrak Daun Sembung Rambat

Pengujian fitokimia ekstrak daun sembung rambat bertujuan untuk mengetahui senyawa- senyawa aktif yang ada pada ekstrak daun sembung rambat, meliputi pengujian flavonoid, alkaloid, steroid, saponin, tanin dan glikosida.

Flavonoid

Sebanyak 10 mg ekstrak daun sembung rambat dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 0,1 mg serbuk magnesium serta larutan amil alkohol 1:1. Setelah itu ditambahkan alkohol 96% sebanyak 4 mL. Reaksi dikatakan positif apabila larutan berubah warna menjadi kuning, jingga, atau merah. (Elisa *et al.*, 2018).

Alkaloid

Sebanyak 1 g ekstrak daun sembung rambat ditambahkan 10 mL HCl 0,2 N kemudian dipanaskan pada suhu 100°C selama 10 menit. Setelah didinginkan dan disaring, ke dalam filtrat ditambahkan 2 tetes larutan iodium. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya kekeruhan.

Steroid

Sebanyak 50–100 mg ekstrak daun sembung rambat diletakkan pada plat tetes kemudian ditambahkan asam asetat hingga seluruh sampel terendam. Setelah 15 menit, 6 tetes larutan tersebut dipindahkan ke tabung reaksi dan ditambahkan 2–3 tetes asam sulfat pekat. Reaksi positif ditunjukkan munculnya warna biru.

Saponin

Sebanyak 0,5 g ekstrak daun sembung rambat dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 10 mL air panas. Setelah didinginkan dan dikocok kuat selama 10 detik, hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya busa setinggi 1–10 cm yang stabil selama minimal 10 menit, serta tidak hilang setelah ditambahkan 1 tetes HCl 2 N.

Tanin

Sebanyak 10 mg ekstrak daun sembung rambat dimasukkan ke tabung reaksi kemudian ditambahkan 3 tetes larutan FeCl_3 5%. Reaksi positif ditandai dengan perubahan warna menjadi hijau kehitaman. (Elisa *et al.* 2018).

3.3.4 Uji Aktivitas Zona Hambat Bakteri *Escherichia coli*

Sebelum Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun sembung rambat terhadap bakteri *Escherichia coli* dilakukan menggunakan metode difusi cakram (*disc diffusion method*) sebagaimana dijelaskan oleh Balouiri *et al.* (2016) dengan beberapa modifikasi. Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif yang dilakukan di laboratorium dengan lima perlakuan konsentrasi, yaitu M0 (0%), M1 (20%), M2 (40%), M3 (60%), dan M4 (80%), Setiap perlakuan diulang sebanyak dua kali (duplo) sehingga diperoleh total 10 satuan percobaan.

A. Pembuatan Medium

NA sebanyak 20 gram dimasukkan kedalam gelas kimia 1000 ml dan dicampur 1000 ml aquades. Selanjutnya dipanaskan dan di sterilisasi kedalam autoclaf dengan suhu 121°C selama 15 menit (Sunjaya, 2017)

B. Pengujian ekstrak daun sembung rambat

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun sembung rambat terhadap *Escherichia coli* dilakukan menggunakan metode difusi cakram (*disc diffusion method*) sebagaimana dijelaskan oleh Balouiri *et al.* (2016). Metode ini digunakan untuk mengetahui kemampuan senyawa bioaktif dalam ekstrak tanaman dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

Ekstrak daun sembung rambat diencerkan menggunakan pelarut yang sesuai hingga diperoleh variasi konsentrasi 0%, 20%, 40%, 60%, dan 80%. Kertas

cakram steril berdiameter 6 mm direndam ke dalam masing-masing larutan ekstrak selama kurang lebih 60 menit agar senyawa aktif dalam ekstrak dapat terdifusi secara optimal ke dalam kertas cakram.

Sebanyak 20 mL media Nutrient Agar (NA) dituangkan ke dalam cawan petri steril dan dibiarkan hingga memadat. Suspensi bakteri *Escherichia coli* kemudian diinokulasikan ke permukaan media NA menggunakan swab kapas steril. Swab kapas dicelupkan ke dalam suspensi bakteri, diperas pada dinding tabung bagian dalam, lalu digoreskan secara merata ke seluruh permukaan media hingga terbentuk lapisan bakteri yang homogen. Media dibiarkan selama ± 15 menit pada suhu ruang agar permukaan media mengering.

Kertas cakram yang telah mengandung ekstrak daun sembung rambat dengan berbagai konsentrasi kemudian diletakkan secara teratur di atas permukaan media yang telah diinokulasi bakteri menggunakan pinset steril. Selanjutnya, cawan petri diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Aktivitas antibakteri ekstrak ditentukan dengan mengukur diameter zona hambat yang terbentuk di sekitar kertas cakram setelah masa inkubasi berakhir (Balouiri *et al.*, 2016).

3.4 Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

3.4.1 Jenis data

Jenis data yang digunakan dalam penelitian ini merupakan data primer. Data primer merupakan data yang diperoleh melalui pengamatan langsung yang dilakukan oleh peneliti. Data dari penelitian ini berupa diameter zona hambat pertumbuhan *Escherichia coli* pada berbagai konsentrasi ekstrak DMSO daun sembung rambat yang diperoleh dari pengukuran Di Laboratorium Universitas.

3.4.2 Teknik pengumpulan data

Teknik pengumpulan data dilakukan melalui pengujian laboratorium menggunakan metode difusi cakram. Setelah proses inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, zona hambat yang terbentuk di sekitar kertas cakram diamati dan diukur menggunakan jangka sorong. Pengukuran dilakukan pada dua arah, yaitu diameter vertikal dan diameter horizontal,

Keterangan: Dv: Diameter vertikal

Dh: Diameter horizontal (Hafidhah *et al*,2017)

3.5 Pengolahan dan Analisis Data

3.5.1 Teknik pengolahan data

Data hasil pengukuran diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* pada masing-masing perlakuan dan ulangan duplo diolah dengan cara tabulasi data, yaitu menyusun data dalam bentuk tabel. Nilai diameter zona hambat yang diperoleh dari setiap perlakuan dihitung nilai rata-ratanya untuk menggambarkan kemampuan ekstrak daun sembung rambat (*Mikania micrantha*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

3.5.2 Analisis data

Analisis data dalam penelitian ini dilakukan secara deskriptif. Data diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dianalisis dengan menggambarkan nilai rata-rata zona hambat pada masing-masing konsentrasi ekstrak daun sembung rambat. Hasil analisis digunakan untuk mengamati kecenderungan peningkatan atau penurunan daya hambat ekstrak terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* seiring dengan perbedaan konsentrasi ekstrak yang digunakan