

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL PAKIS SAYUR
(*Diplazium esculentum*) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI
Staphylococcus aureus DAN *Escherichia coli* SECARA *IN VITRO***

(Skripsi)

Oleh

HANA DIPA CHRISTINE SARAGIH

2157021012



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
2025**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL PAKIS SAYUR
(*Diplazium esculentum*) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI
Staphylococcus aureus DAN *Escherichia coli* SECARA *IN VITRO***

Oleh

HANA DIPA CHRISTINE SARAGIH

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA SAINS

Pada

Jurusan Biologi

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
2025**

ABSTRAK

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL PAKIS SAYUR (*Diplazium esculentum*) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli* SECARA *IN VITRO*

Oleh

HANA DIPA CHRISTINE SARAGIH

Penyakit infeksi merupakan salah satu isu kesehatan masyarakat yang signifikan di negara maju dan berkembang. Penyebab penyakit infeksi diantaranya bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* yang menyebabkan tingginya angka kesakitan dan kematian. Pengobatan penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri patogen umumnya menggunakan antibiotik, namun penggunaan antibiotik yang terus menerus dapat memberikan efek samping seperti terjadinya resistensi antibiotik. Pakis sayur merupakan salah satu tanaman obat yang sering dimanfaatkan untuk mengobati penyakit infeksi. Kandungan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam *D. esculentum* antara lain saponin, steroid, alkaloid, tanin, glikosida, triterpenoid, fenol, flavon, dan flavonoid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh aktivitas bakteriostatik ekstrak etanol *Diplazium esculentum* dan konsentrasinya yang efektif dalam menghambat pertumbuhan patogen *S. aureus* dan *E. coli*. Penelitian dilaksanakan menggunakan Rancangan Acak Kelompok Lengkap (RAKL) dengan empat konsentrasi ekstrak etanol pakis sayur, yaitu 20 %, 33 %, 43 %, dan 50 %. Sebagai kontrol positif digunakan antibiotik kloramfenikol dan kontrol negatif menggunakan akuades steril. Data yang berupa diameter zona hambat yang terbentuk dari masing-masing perlakuan dianalisis menggunakan uji non parametrik *Kruskal Wallis* dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Mann Whitney*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak etanol *D. esculentum* menunjukkan aktivitas bakteriostatik terhadap bakteri *S. aureus* dan bakteri *E. coli* masing-masing pada konsentrasi 43% dan 50%, namun tidak efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

Kata kunci: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Diplazium esculentum*, bakteriostatik

ABSTRACT

ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF ETHANOL EXTRACT OF VAGETABLE FERN (*Diplazium esculentum*) AGAINS THE GROWTH OF *Staphylococcus aureus* AND *Escherichia coli* BACTERIA IN VITRO

By

HANA DIPA CHRISTINE SARAGIH

Infectious diseases are a significant public health issue in both developed and developing countries. The causes of infectious diseases include *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria which cause high morbidity and mortality rates. Treatment of infectious diseases caused by pathogenic bacteria generally uses antibiotics, but the continuous use of antibiotics can have side effects such as the occurrence of antibiotic resistance. *Diplazium esculentum* is one of the medicinal plants that is often used to treat infectious diseases. The content of secondary metabolite compounds contained in *D. esculentum* includes saponins, steroids, alkaloids, tannins, glycosides, triterpenoids, phenols, flavones, and flavonoids. This study aims to determine the effect of bacteriostatic activity of ethanol extract of *D. esculentum* and its effective concentration in inhibiting the growth of pathogens *S. aureus* and *E. coli*. The study was conducted using a Randomised Complete Block Design (RAKL) with four concentrations of ethanol extract of vegetable fern, namely 20%, 33%, 43%, and 50%. As a positive control, the antibiotic chloramphenicol was used and the negative control used sterile distilled water. Data in the form of inhibition zone diameter formed from each treatment were analysed using Kruskal Wallis non-parametric test and continued with Mann Whitney Post Hoc test. The results showed that the concentration of *D. esculentum* ethanol extract showed bacteriostatic activity against *S. aureus* and *E. coli* bacteria at 43% and 50% concentrations, respectively, but was not effective in inhibiting the growth of *S. aureus* and *E. coli* bacteria.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Diplazium esculentum*, bacteriostatic

Judul Skripsi

: Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Pakis Sayur (*Diplazium esculentum*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* secara *in Vitro*

Nama Mahasiswa

: **Hana Dipa Christine Saragih**

Nomor Pokok Mahasiswa

: 2157021012

Program Studi

: Biologi

Fakultas

: Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



1. Komisi Pembimbing

Pembimbing I

Pembimbing II

Rochmah Agustrina, Ph.D.
NIP. 196108031989032002

Ir. Salman Farisi, M.Si.
NIP. 196104181987031001

2. Ketua Jurusan Biologi FMIPA

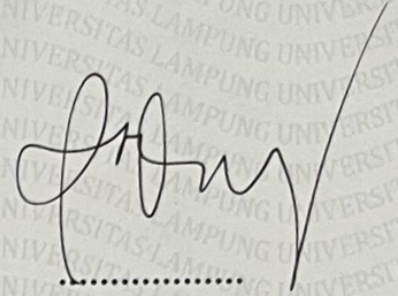
Dr. Jani Master, M.Si.
NIP. 198301312008121001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

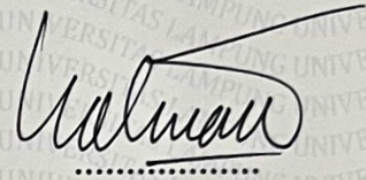
Ketua

: **Rochmah Agustrina, Ph.D.**



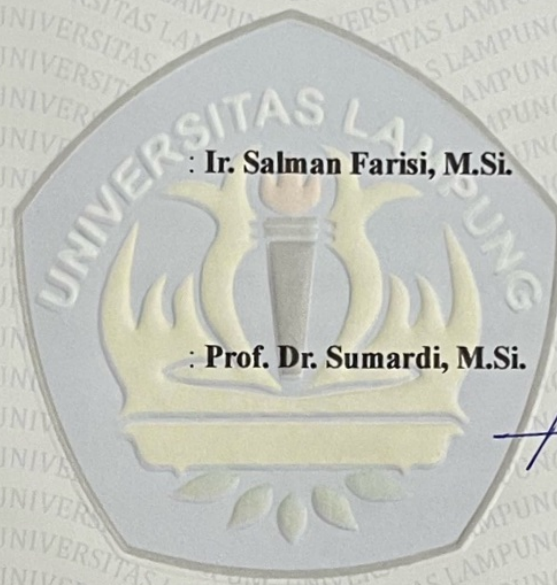
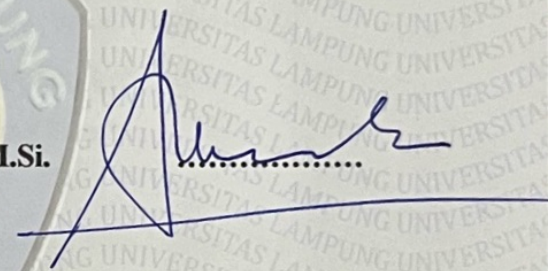
Sekretaris

: **Ir. Salman Farisi, M.Si.**



Anggota

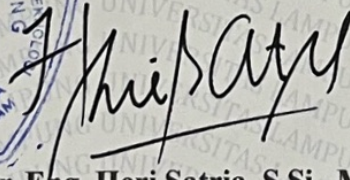
: **Prof. Dr. Sumardi, M.Si.**



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si.

NIP. 197110012005011002



Tanggal Lulus Ujian Skripsi: **14 Juli 2025**

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Hana Dipa Christine Saragih
NPM : 2157021012
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan dengan sesungguhnya, bahwa skripsi saya yang berjudul:

**“Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Pakis Sayur (*Diplazium
esculentum*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus
aureus* dan *Escherichia coli* secara *in Vitro*”**

Baik data, hasil analisis, dan kajian ilmiah adalah benar hasil karya yang saya susun sendiri dengan berpedoman pada etika akademik dan penulisan yang berlaku.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sadar dan sebenar-benarnya untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Bandar Lampung, 17 Juli 2025

Yang Menyatakan,



Hana Dipa Christine Saragih

NPM. 2157021012

RIWAYAT HIDUP



Penulis bernama Hana Dipa Christine Saragih yang lahir pada tanggal 09 Desember 2003 di Jakarta. Penulis merupakan anak kedua dari dua bersaudara pasangan Bapak D. Saragih dan Ibu L. M. Simanjuntak. Penulis memiliki seorang kakak bernama Samuel Kevin Juandani Saragih. Penulis menempuh pendidikan pertama di TK Kristen Kanaan Kota Tangerang tahun 2007-2009. Penulis melanjutkan pendidikan di Sekolah Dasar Kristen Kanaan Kota Tangerang tahun 2009-2015, Sekolah Menengah Pertama (SMP) Negeri 4 Kota Tangerang tahun 2015-2018, dan Sekolah Menengah Atas (SMA) Negeri 7 Kota Tangerang tahun 2018-2021. Penulis menjadi mahasiswa Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Mandiri Masuk Perguruan Tinggi Negeri Wilayah Barat (SMMPTN-BARAT) pada tahun 2021.

Selama melanjutkan pendidikan akademik di jurusan Biologi, penulis mengikuti program Merdeka Belajar Kampus Merdeka (MBKM) yang diselenggarakan oleh Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset dan Teknologi (Kemendikbudristek) dan melaksanakan Praktik Kerja Lapangan (PKL) di Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) Serpong pada tahun 2023-2024 dengan judul “Uji Resistensi Isolat Bakteri Potensi Agen Bioremediator Logam Al, Fe, dan Mn dari Sampel Tanah Tercemar”. Penulis menjadi asisten praktikum Mikrobiologi Umum di Laboratorium Mikrobiologi pada tahun 2025. Penulis juga telah melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) selama 40 hari di desa Mulyo Asri, Kecamatan Bumi Agung, Kabupaten Lampung Timur pada Juni-Agustus tahun 2024. Selain kegiatan akademik, penulis juga menjadi anggota Himpunan Mahasiswa Biologi (HIMBIO) biro Kesekretariatan dan Logistik periode 2022-2023 dan 2023-2024,

serta menjadi Badan Pengawas Organisasi (BPO) sejak tahun 2024. Penulis menyusun skripsi pada bulan Desember 2024-Mei 2025 dengan judul “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Pakis Sayur (*Diplazium esculentum*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* secara *in Vitro*”.

PERSEMBAHAN

Terpujilah Allah Tritunggal, Bapa, Putra dan Roh Kudus

atas berkat, kasih karunia, dan penyertaan-Nya yang selalu menyertai dan menuntun setiap langkah di hidupku, kupersembahkan karya ini dengan penuh ucapan syukur untuk kemuliaan Tuhan dan rasa bangga kepada:

Kedua Orang Tuaku:

Bapak D. Saragih dan Ibu L. M. Simanjuntak

Terima kasih atas segala usaha, cinta dan kasih sayang, serta motivasi yang telah diberikan kepadaku sehingga dapat menyelesaikan pendidikan sarjana di Universitas Lampung;

Kepada Bapak dan Ibu dosen yang telah membimbing dan memberikan ilmu kepada mahasiswanya sehingga dapat menyelesaikan pendidikan dan mendapatkan gelar sarjana;

Teman-teman seperjuangan yang telah menemani dan mewarnai setiap proses selama masa perkuliahan, memberikan motivasi yang menjadi sumber semangat, serta menjadi pendengar yang baik. Terima kasih telah berproses bersama-sama dan saling menguatkan sejak awal sampai saat ini, setiap kenangan yang telah kita buat akan terkenang sepanjang hidup saya;

Almamater tercinta yang menjadi tempat saya menuntut ilmu dan mendapatkan gelar sarjana yang akan selalu saya banggakan dimanapun saya berada,

Universitas Lampung

MOTTO

“Tuhan adalah gembalaku, takkan kekurangan aku”

(Mazmur 23:1)

“Segala perkara dapat kutanggung di dalam Dia yang memberi kekuatan kepadaku”

(Filipi 4:13)

“Janganlah takut, sebab Aku menyertai engkau, janganlah bimbang, sebab Aku ini Allahmu; Aku akan meneguhkan, bahkan akan menolong engkau; Aku akan memegang engkau dengan tangan kanan-Ku yang membawa kemenangan”

(Yesaya 41:10)

“Bersukacitalah dalam pengharapan, sabarlah dalam kesesakan, dan bertekunlah dalam doa!”

(Roma 12:12)

“Doa orang benar, bila dengan yakin didoakan, sangat besar kuasanya”

(Yakobus 5:16b)

“Semua orang punya 24 jam yang sama, tapi bagaimana memanfaatkan 24 jam itu dengan bijaksana”

(Jerome Polin)

SANWACANA

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yesus Kristus, oleh karena anugerah-Nya yang melimpah, kemurahan dan kasih setia yang besar sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Pakis Sayur (*Diplazium esculentum*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* secara *in Vitro*”**. Penulis menyadari bahwa selama menyelesaikan skripsi tidak lepas dari bantuan, dukungan, bimbingan, motivasi, serta do’a dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Tuhan Yesus Kristus, sebab firman-Mu berkata “Janganlah takut, sebab Aku menyertai engkau, janganlah bimbang, sebab Aku ini Allahmu; Aku akan meneguhkan, bahkan akan menolong engkau; Aku akan memegang engkau dengan tangan kanan-Ku yang membawa kemenangan”. Firman tersebut menjadi sumber kekuatan dan penghiburan bagi penulis sepanjang menyelesaikan perkuliahan, khususnya skripsi ini.
2. Ibu Prof. Dr. Ir. Lusmeila Afriani, D.E.A., IPM., selaku Rektor Universitas Lampung.
3. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
4. Bapak Dr. Jani Master, S.Si., M.Si., selaku Ketua Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
5. Ibu Dr. Kusuma Handayani, M.Si., selaku Ketua Program Studi S1-Biologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
6. Bapak Drs. M. Kanedi, M.Si., selaku Pembimbing Akademik penulis yang telah memberikan bimbingan dan arahan kepada penulis.

7. Ibu Rochmah Agustrina, Ph.D., selaku Dosen Pembimbing I yang telah memberikan bimbingan, dukungan, masukan, serta bantuan kepada penulis selama melaksanakan penelitian.
8. Bapak Ir. Salman Farisi, M.Si., selaku Dosen Pembimbing II yang telah memberikan dukungan, motivasi, dan masukan kepada penulis.
9. Bapak Prof. Dr. Sumardi, M.Si., selaku Dosen Penguji yang telah memberikan saran dan masukan yang membangun kepada penulis.
10. Seluruh Bapak dan Ibu dosen Jurusan Biologi atas ilmu yang telah diberikan kepada penulis selama menuntut ilmu.
11. Ibu Dhiny Suntya Putri, S.P., M.Si., selaku Laboran Botani, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung atas arahan dan masukan yang telah membantu penulis selama melaksanakan penelitian.
12. Ibu Oni Mastuti, S.Si., selaku Laboran Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung atas dedikasi dan kepedulian yang luar biasa yang telah diberikan kepada seluruh rekan-rekan peneliti mikrobiologi, serta arahan dan masukan yang telah membantu penulis selama melaksanakan penelitian.
13. Kedua orang tua penulis, Bapak D. Saragih dan Ibu L. Simanjuntak, serta kakak penulis. Terimakasih karena tak henti memberikan cinta, dukungan dan motivasi, serta doa-doa yang selalu dipanjatkan kepada Tuhan untuk penulis.
14. Diriku sendiri, terima kasih karena tidak menyerah sampai saat ini dan telah menjalankan tanggung jawab yang diberikan kedua orang tua dengan baik, serta tidak memenuhi kedagingan yang ditawarkan oleh dunia. Terima kasih sudah tetap berjalan di jalan Tuhan di tengah kepahitan yang menekan untuk menyerah.
15. Rekan seperjuangan sejak masa sekolah, Evipanes Duma Arita, Adelia Rahmadani, Christin Helen Juanita, dan Yurike Arfanita yang setia menemani setiap proses kehidupan yang dilalui oleh penulis, berbagi suka dan duka, serta memberikan dukungan, motivasi, dan banyak kenangan manis untuk penulis.

16. Rekan seperjuangan selama masa masa perkuliahan, Nabila, Annisa Rahma, Yasminia Friska, Ribka Debora, dan Nancy Septina yang setia menemani setiap proses perkuliahan yang dilalui oleh penulis, menjadi pendengar yang baik, memberikan dukungan dan kekuatan, serta membuat kenangan manis bersama penulis.
17. Seluruh pihak yang tidak bisa disebutkan satu per satu yang telah ikut ambil bagian selama penulis hidup hingga dan dapat menyelesaikan skripsi ini.

Akhir kata, penulis menyadari bahwa masih terdapat banyak kesalahan dan kekurangan dalam penyusunan skripsi ini. Oleh karena itu, penulis terbuka untuk setiap saran dan kritik yang diberikan kepada penulis agar menjadi evaluasi dan perbaikan kedepannya sehingga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua. Amin.

Bandar Lampung, 14 Juli 2025

Penulis,

Hana Dipa Christine Saragih

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	4
1.3 Kerangka Pemikiran.....	4
1.4 Hipotesis.....	5
II. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Tumbuhan Pakis Sayur (<i>Diplazium esculentum</i>)	6
2.1.1 Habitat dan Siklus Hidup <i>Diplazium esculentum</i>	6
2.1.2 Morfologi dan Taksonomi <i>Diplazium esculentum</i>	7
2.1.3 Aktivitas Senyawa Metabolit Sekunder	8
2.2 Ekstraksi Senyawa Metabolit Sekunder.....	11
2.3 Pelarut Etanol	11
2.4 Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	12
2.4.1 Karakteristik dan Taksonomi <i>Staphylococcus aureus</i>	12
2.4.2 Patogenitas <i>Staphylococcus aureus</i>	13
2.5 Bakteri <i>Escherichia coli</i>	14
2.5.1 Karakteristik dan Taksonomi <i>Escherichia coli</i>	14
2.5.2 Patogenitas <i>Escherichia coli</i>	15
2.6 Antibakteri.....	16
2.7 Metode Pengujian Antibakteri.....	17

III. METODE PENELITIAN	21
3.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan	21
3.2 Alat dan Bahan	21
3.3 Rancangan Penelitian	22
3.4 Diagram Alir.....	23
3.5 Prosedur Penelitian.....	23
3.5.1 Persiapan Sampel	23
3.5.2 Pembuatan Ekstrak <i>Diplazium esculentum</i>	24
3.5.3 Uji Aktivitas Antibakteri	24
3.5.3.1 Sterilisasi Alat	24
3.5.3.2 Pembuatan Media Bakteri	25
3.5.3.3 Peremajaan Biakan Murni Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Escherichia coli</i>	25
3.5.3.4 Pembuatan Suspensi Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Escherichia coli</i>	26
3.5.3.5 Pembuatan Konsentrasi Larutan Uji	26
3.5.3.6 Uji Aktivitas Antibakteri secara <i>in Vitro</i>	27
3.5.3.7 Perhitungan Zona Hambat yang Terbentuk.....	28
3.6 Analisis Data	29
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	30
4.1 Hasil Pengamatan.....	30
4.2 Pembahasan.....	34
V. SIMPULAN DAN SARAN.....	39
5.1 Simpulan	39
5.2 Saran.....	39
DAFTAR PUSTAKA.....	40

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Tata Letak Unit Percobaan Pengaruh Ekstrak Etanol <i>Diplazium esculentum</i> sebagai Antibakteri terhadap Pertumbuhan <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Escherichia coli</i>	22
2. Konsentrasi Ekstrak Etanol Pakis Sayur yang diujikan	27
3. Rerata Diameter Zona Hambat terhadap Pertumbuhan <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Escherichia coli</i>	32

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Siklus Hidup Tumbuhan Pakis	7
2. Morfologi <i>Diplazium esculentum</i>	8
3. Struktur Kimia Senyawa Flavonoid	10
4. Struktur Kimia Pelarut Etanol.....	12
5. Koloni Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	13
6. Koloni Bakteri <i>Escherichia coli</i>	15
7. Diagram Alir Penelitian.....	23
8. Ilustrasi Perhitungan Diameter Zona Hambat.....	29
9. Hasil Uji Daya Hambat Antibakteri terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> pada Konsentrasi Larutan yang Berbeda.....	31
10. Hasil Uji Daya Hambat Antibakteri terhadap Bakteri <i>Escherichia coli</i> pada Konsentrasi Larutan yang Berbeda	31

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit infeksi merupakan salah satu isu kesehatan masyarakat yang signifikan di negara maju dan berkembang, termasuk di Indonesia, dan masih menjadi penyebab utama tingginya angka kesakitan dan kematian. Infeksi adalah penyakit yang disebabkan oleh invasi dan perkembangbiakan mikroorganisme, suatu kelompok luas dari organisme mikroskopik yang terdiri dari satu atau banyak sel seperti bakteri (Lestari dan Marchaban, 2023). Infeksi terjadi ketika interaksi dengan mikroorganisme menyebabkan kerusakan pada tubuh inang dan kerusakan tersebut menimbulkan berbagai gejala dan tanda klinis. Mikroorganisme yang menyebabkan penyakit pada manusia disebut mikroorganisme patogen, salah satunya bakteri patogen (Novard dkk., 2019). Penyebab terjadinya infeksi antara lain bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram-positif yang menyebabkan timbulnya penyakit dengan tanda-tanda yang khas, yaitu peradangan, nekrosis, dan pembentukan abses. Jenis infeksi ini bisa bervariasi mulai dari bisul ringan di kulit hingga pneumonia yang sangat serius (Khairunnisa dkk., 2023). *Escherichia coli* adalah bakteri Gram-negatif, oksidase-negatif, berbentuk batang dan termasuk dalam keluarga Enterobacteriaceae. Bakteri ini merupakan bagian dari flora normal usus manusia dan mamalia lainnya. Namun, *Escherichia coli* juga dikenal sebagai mikroba oportunistik. Artinya, bakteri ini dapat menyebabkan penyakit jika terjadi gangguan pada sistem kekebalan tubuh atau jika bakteri berpindah ke organ atau jaringan tubuh lain di luar usus. Pada individu dengan sistem imun yang lemah,

Escherichia coli dapat berkembang biak secara tidak terkendali dan menyebabkan infeksi (Muhlis dkk., 2022). Berbagai jenis penyakit infeksi yang disebabkan oleh *Escherichia coli* meliputi infeksi pada sistem pencernaan (seperti diare), infeksi saluran kemih, dan meningitis (Soedarto, 2015).

Antibiotik diperlukan untuk mengobati infeksi yang disebabkan oleh bakteri patogen. Antibiotik adalah senyawa dengan molekul ringan yang bersifat bakteriostatik atau bakterisidal terhadap mikroba yang peka, terutama bakteri (Kurnianto dan Syahbanu, 2023). Kriteria penggunaan antibiotik yang tepat antara lain penggunaan antibiotik yang hemat biaya, meningkatkan efektivitas klinis, meminimalkan toksisitas obat, dan meminimalkan perkembangan resistensi (WHO, 2023). Terjadinya resistensi terhadap antibiotik disebabkan oleh pemakaian antibiotik yang berlebihan dan tanpa hati-hati dalam pengobatan. Bakteri dianggap resisten jika pertumbuhannya tidak bisa dihentikan oleh antibiotik meskipun dengan dosis tertinggi. Resistensi antibiotik merupakan hasil dari penggunaan antibiotik yang salah dan perkembangan mikroorganisme tersebut, hal ini juga dipicu oleh mutasi atau gen resisten yang didapatkan, yang mengarah pada resistensi terhadap antibiotik. Resistensi antibiotik menjadi suatu masalah kesehatan masyarakat dan dilaporkan oleh *World Health Organization* sebagai ancaman bagi kesehatan manusia secara keseluruhan (Putra dkk., 2019).

Saat ini, penelitian untuk menemukan dan mengembangkan senyawa bioaktif yang berasal dari bahan hayati sebagai agen antibakteri sedang gencar dilakukan. Senyawa bioaktif diproduksi tumbuhan secara biologis melalui proses metabolismenya. Beberapa golongan senyawa dengan aktivitas antimikroba yang terdapat pada tumbuhan antara lain senyawa fenolik, flavonoid, terpenoid, dan alkaloid (Jumania dkk., 2020). Tanaman pakis sayur [*Diplazium esculentum* (Retz.) Swartz] merupakan salah satu tanaman obat. Rebusan rimpang pakis sayur biasa digunakan untuk mengobati batuk berdarah, dan daunnya digunakan untuk mengobati sakit

kepala, nyeri pada luka, dan demam. Pakis sayur juga dimanfaatkan untuk mengobati penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri seperti disentri, gangguan pencernaan, diare, pembengkakan kelenjar, dan berbagai infeksi kulit (Wahyuni dkk., 2016).

Uji fitokimia adalah suatu cara untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder dalam tumbuhan. Kandungan metabolit sekunder suatu tumbuhan dipengaruhi oleh pemilihan pelarut dan metode ekstraksi (Khotimah, 2016). Pelarut etanol banyak digunakan untuk mengekstrak senyawa metabolit sekunder karena etanol merupakan pelarut polar yang dapat melarutkan senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, dan berbagai jenis minyak atsiri yang terdapat pada tanaman. Kandungan senyawa metabolit sekunder dalam *Diplazium esculentum* antara lain saponin, steroid, alkaloid, tanin, glikosida, triterpenoid, fenol, flavon, dan flavonoid (Hermawan dkk., 2017).

Berikut adalah aktivitas ekstrak etanol dari beberapa tanaman paku-pakuan. Konsentrasi ekstrak etanol daun pakis sayur (*Diplazium esculentum*) 60 % dan 80 % menunjukkan aktivitas bakteriostatik terhadap patogen *Pseudomonas aeruginosa* yang ditunjukkan dengan zona hambat masing-masing diameter sebesar 5,90 mm dan 5,47 mm, dan daya hambat konsentrasi 80 % terhadap patogen *Staphylococcus epidermidis* yang ditunjukkan dengan diameter zona hambat sebesar 5,69 mm (Fandini, 2023). Konsentrasi ekstrak etanol daun *Stenochlaena palustris* dan *Pteridium caudatum* 2 % menunjukkan aktivitas bakteriostatik terhadap patogen *Streptococcus sobrinus* yang ditunjukkan dengan diameter zona hambat sebesar 13,7 mm, namun tidak mampu menghambat pertumbuhan patogen *Ralstonia solanacearum* (Egra dkk., 2019). Sedangkan konsentrasi ekstrak metanol *Drymoglossum piloselloides* 0,3 g/mL menunjukkan aktivitas bakteriostatik pada patogen *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* yang ditunjukkan dengan diameter zona hambat sebesar 14 mm dan 8,3 mm (Sumito dkk., 2016).

Berdasarkan latar belakang di atas maka dalam penelitian ini diajukan uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol pakis sayur (*Diplazium esculentum*) terhadap patogen *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* secara *in vitro*.

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. mengetahui pengaruh aktivitas bakteriostatik ekstrak etanol pakis sayur (*Diplazium esculentum*) terhadap patogen *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.
2. mengetahui konsentrasi ekstrak etanol pakis sayur (*Diplazium esculentum*) yang efektif dalam menghambat pertumbuhan patogen *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

1.3 Kerangka Pemikiran

Penyakit infeksi merupakan salah satu isu kesehatan masyarakat yang signifikan di negara maju dan berkembang, termasuk di Indonesia, dan masih menjadi penyebab utama tingginya angka kesakitan dan kematian. Salah satu obat yang digunakan untuk menangani masalah ini adalah antimikroba seperti antibiotik. Antibiotik sangat penting untuk mengobati infeksi yang disebabkan oleh bakteri patogen. Di antara patogen bakteri, *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* adalah jenis bakteri penyebab terjadinya infeksi. Pemakaian antibiotik untuk infeksi bakteri jika dilakukan secara tidak tepat dapat berdampak buruk baik secara klinis maupun ekonomi. Ketidaktepatan dalam dosis, waktu, dan frekuensi pemakaian antibiotik dapat menyebabkan resistensi antibiotik. Berbagai penelitian menunjukkan bahwa pengetahuan dan perilaku masyarakat di dalam penggunaan antibiotik masih kurang bijaksana. Penggunaan antibiotik yang tidak hati-hati dan tidak rasional dapat memicu masalah resistensi. Secara umum, obat herbal biasanya memiliki tiga keuntungan penting, yaitu biaya yang lebih rendah, efek samping yang minimal, dan kemampuan untuk

menormalkan fungsi tubuh. Saat digunakan dengan tepat, ramuan herbal sering kali dapat mengatasi masalah yang menyebabkan gangguan tersebut. Salah satu tanaman yang bermanfaat sebagai antibakteri adalah daun pakis sayur (*Diplazium esculentum*). Khasiat pakis sayur (*Diplazium esculentum*) disebabkan oleh adanya sejumlah senyawa metabolit sekunder yang memiliki aktivitas bioaktif. Kandungan kimia yang terkandung dalam *Diplazium esculentum* meliputi saponin, steroid, alkaloid, tanin, glikosida, triterpenoid, fenol, flavon, dan flavonoid.

Sampai saat ini belum pernah ada yang meneliti secara *in vitro* peranan ekstrak etanol pakis sayur (*Diplazium esculentum*) terhadap patogen *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, untuk itu diajukan gagasan yang bertujuan untuk mengetahui aktivitas bakteriostatik ekstrak etanol pakis sayur (*Diplazium esculentum*) terhadap patogen *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* secara *in vitro*.

1.4 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. ekstrak etanol pakis sayur (*Diplazium esculentum*) memiliki pengaruh aktivitas bakteriostatik terhadap patogen *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.
2. terdapat konsentrasi efektif ekstrak etanol pakis sayur (*Diplazium esculentum*) untuk menghambat pertumbuhan patogen *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

II. TINJAUAN PUSTAKA

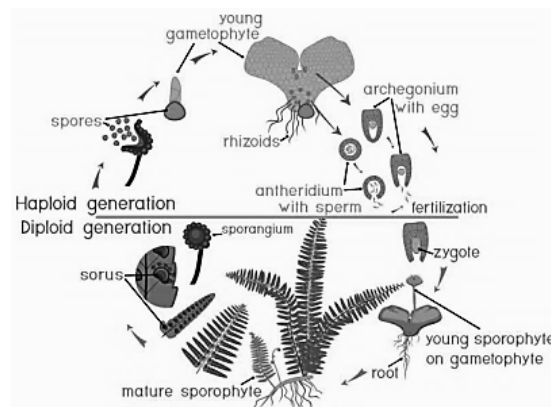
2.1 Tumbuhan Pakis Sayur (*Diplazium esculentum*)

2.1.1 Habitat dan Siklus Hidup *Diplazium esculentum*

Pakis sayur (*Diplazium esculentum*) dapat ditemukan di berbagai habitat, mulai dari pegunungan tinggi hingga ladang kering berbatu dan perairan terbuka. Umumnya *Diplazium esculentum* tumbuh di lahan terbuka, tanah lembab, dan tepi sungai (Pradipta, 2023). Karakteristik *Diplazium esculentum* adalah dapat hidup di lahan terbuka yang mendapat sinar matahari langsung maupun di tempat teduh yang kurang mendapat sinar matahari (Purnawati, 2014).

Siklus hidup tumbuhan pakis disebut metagenesis antara dua generasi yaitu, fase gametofit (seksual) dan sporofit (aseksual). Fase gametofit pada tumbuhan pakis adalah protalium, sedangkan fase sporofit adalah tumbuhan itu sendiri. Fase sporofit adalah fase yang paling dominan dibandingkan fase gametofit pada siklus hidup tumbuhan pakis. Gamet jantan dihasilkan dalam anteridia dan disebut anterozoid karena memiliki flagela, sedangkan gamet betina atau sel telur dihasilkan dalam arkegonia. Zigot, yang terbentuk dari sel telur yang dibuahi, berkembang menjadi sporofit muda melalui mitosis ($2n$). Spora non-motil keluar dari sporofit dan berkecambah menjadi gametofit haploid melalui meiosis (n). Siklus hidup tumbuhan pakis terdiri dari 5 fase yaitu pembelahan,

protalium muda (gametofit), protalium dewasa, sporofit muda, dan sporofit dewasa (Akbar dkk., 2018) (Gambar 1).



Gambar 1. Siklus Hidup Tumbuhan Pakis (Mariaflaya, 2018)

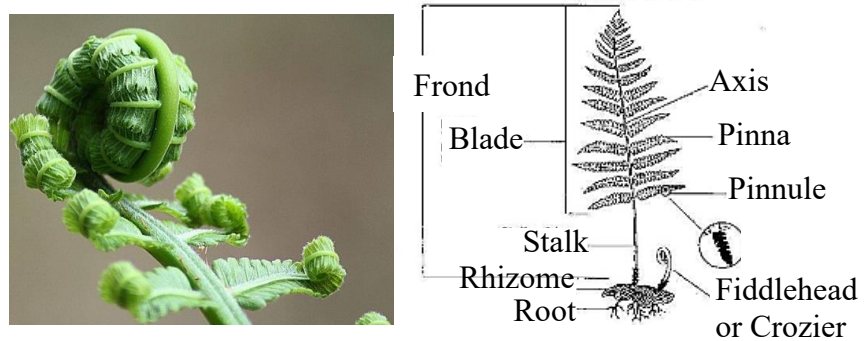
2.1.2 Morfologi dan Taksonomi *Diplazium esculentum*

Tumbuhan pakis adalah salah satu kelompok tumbuhan berkormus (*Cormophyta*) yang bermakna tubuhnya dapat dibedakan dalam tiga bagian pokok yaitu akar (*radix*), batang (*caulis*), dan daun (*folium*) (Gambar 2). Tumbuhan pakis sayur memiliki sistem perakaran serabut dan ujungnya dilindungi oleh kaliptra. Akar tanaman pakis sayur umumnya berwarna coklat tua atau kehitaman, cenderung tumbuh pada tanah yang lembab, dan tumbuh secara horizontal (Pradipta, 2023).

Batang tumbuhan pakis sayur berwarna hijau dan berbentuk bulat. Tinggi batang tumbuhan pakis sayur sekitar 20-50 cm. Kebanyakan tumbuhan paku-pakuan merupakan tumbuhan perdu dengan rimpang mendatar dan biasanya mempunyai sedikit percabangan (Souhaly dkk., 2018).

Daun muda pakis sayur selalu menggulung dan terdapat sporangia di bagian bawah daun. Tergulungnya daun disebabkan oleh sel-sel di bagian bawah daun yang tumbuh lebih cepat. Daun pakis sayur berbentuk menyirip dua dengan tangkai daun kecoklatan. Panjang daun majemuk pakis sayur dapat mencapai 1,5 m dengan panjang

daun sekunder sekitar 8 cm dan lebar 2 cm (Zannah dkk., 2017). Daun majemuk menyirip, lanset, tepi bergerigi, ujung daun runcing dan pangkal daun tumpul. 15 pasang pina tersusun berselang-seling. Lamina menyirip 2-3 buah, berwarna hijau muda sampai hijau tua, panjang 0,5-1,5 m dan lebar 0,5-1 m. Sori terletak pada permukaan bawah daun, tepatnya pada tepi leukukan anak daun (Pradipta, 2023).



Gambar 2. Morfologi *Diplazium esculentum* (Putri, 2016)

Klasifikasi *Diplazium esculentum* menurut Cronquist (1981), adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Divisio : Pteridophyta
Class : Polypodiopsida
Order : Athyriales
Family : Athyriaceae
Genus : *Diplazium*
Species : *Diplazium esculentum*

2.1.3 Aktivitas Senyawa Metabolit Sekunder

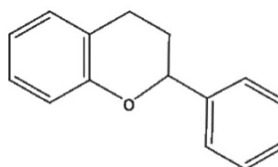
Metabolit sekunder adalah senyawa yang terbentuk melalui proses metabolisme sekunder. Metabolit sekunder ini mewakili simpanan energi dan makanan, serta berfungsi sebagai sumber energi dan penyimpan energi bagi organisme hidup. Metabolit sekunder umumnya ditemukan pada semua makhluk hidup, namun lebih banyak ditemukan pada tumbuhan dibandingkan pada hewan.

(Muldianah dkk., 2021). Senyawa metabolit sekunder dihasilkan oleh tanaman dan mempunyai efek antimikroba sehingga menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Jaringan tanaman paling sedikit mengandung satu mikroorganisme endoparasit yang dapat menghasilkan senyawa metabolit sekunder dan mempunyai sifat metabolit yang sama dengan tanaman inang (Kartikasari dkk., 2021).

Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam *Diplazium esculentum* antara lain saponin, steroid, alkaloid, tanin, glikosida, triterpenoid, fenol, flavon, dan flavonoid (Hermawan dkk., 2017). Flavonoid merupakan salah satu golongan senyawa fenolik yang paling dominan dalam *Diplazium esculentum*. Senyawa ini dikenal luas karena sifat antioksidannya yang kuat. Flavonoid berperan penting dalam melawan radikal bebas dalam tubuh, sehingga dapat membantu mencegah berbagai penyakit kronis, termasuk kanker dan penyakit jantung. Kehadiran flavonoid ditandai dengan munculnya warna kuning, jingga merah tua, atau magenta pada uji fitokimia.

Flavonoid merupakan metabolit sekunder yang termasuk dalam kelompok senyawa fenolik yang struktur benzenanya digantikan dengan gugus OH (Gambar 3). Flavonoid merupakan senyawa turunan 2-fenilbenzil- γ -piron, dan biosintesisnya terjadi melalui jalur fenilpropanoid. Flavonoid berperan dalam pembentukan warna, rasa, dan aroma pada biji, bunga, dan buah. Senyawa flavonoid mudah teroksidasi pada suhu tinggi dan tidak stabil secara termal (Hepni, 2019). Flavonoid memiliki kerangka karbon yang terdiri dari 15 atom karbon. Ketika dua cincin benzena (C₆) dihubungkan dengan rantai propana (C₃). Flavonoid ditemukan pada tumbuhan dan berkontribusi pada pembentukan pigmen kuning, merah, *orange*, biru, dan ungu pada buah, bunga, dan daun. Flavonoid termasuk dalam keluarga polifenol yang larut dalam air

(Ningsih dkk., 2023). Senyawa flavonoid merupakan senyawa terbesar yang terdapat di alam dan dapat ditemukan pada akar, pohon, kulit kayu, daun, batang, buah, dan bunga. Senyawa flavonoid umumnya terdapat pada tumbuhan tingkat tinggi. Sekitar 5-10 % metabolit sekunder tumbuhan adalah flavonoid (Putri, 2015).



Gambar 3. Struktur Kimia Senyawa Flavonoid (Kumar, 2013)

Senyawa flavonoid menghambat pertumbuhan bakteri melalui beberapa mekanisme utama yang saling mendukung, sehingga menghasilkan efek antibakteri yang kuat. Berikut ini adalah mekanisme kerja flavonoid dalam menghambat pertumbuhan bakteri:

1. Menghambat Sintesis Asam Nukleat (DNA dan RNA)

Flavonoid merusak basa asam nukleat melalui interkalasi atau ikatan hidrogen, terutama melalui cincin A dan B pada strukturnya. Hal ini menghambat pembentukan DNA dan RNA bakteri, sehingga proses replikasi dan sintesis protein bakteri terganggu (Sujana dkk., 2024).

2. Merusak Fungsi Membran Sel

Flavonoid membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut kemudian merusak membran sel bakteri yang menyebabkan terganggunya permeabilitas membran, sehingga senyawa intraseluler penting keluar dan bakteri kehilangan kendali atas keseimbangan internalnya. Selain itu, flavonoid juga menyerang fosfolipid membran sitoplasma, menyebabkan fosfolipid terurai dan membran menjadi bocor, sehingga terjadi kematian sel bakteri (Setiawan dkk., 2016).

3. Menghambat Metabolisme Energi

Flavonoid menghambat penggunaan oksigen oleh bakteri dan mengganggu aktivitas enzim penting seperti ATPase dan sitokrom C reduktase yang mengakibatkan bakteri tidak dapat menghasilkan energi yang cukup untuk biosintesis makromolekul dan proses vital lainnya, sehingga pertumbuhan dan kelangsungan hidup bakteri terhambat (Saptowo dkk., 2022).

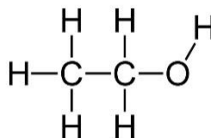
2.2 Ekstraksi Senyawa Metabolit Sekunder

Menurut Tilarso (2021), ekstraksi adalah proses pemindahan suatu zat atau zat terlarut dari larutan atau padatan ke dalam pelarut tertentu. Tujuan utama ekstraksi adalah untuk mengisolasi kandungan kimia yang terkandung dalam organisme. Kecepatan proses konsentrasi hasil ekstraksi bergantung pada perpindahan komponen padat dari organisme ke pelarut melalui perpindahan massa. Ketika pelarut menembus dinding sel, pelarut berdifusi sehingga menyebabkan tekanan gradien antara bagian dalam dan luar sel (Depkes, 2016). Pemilihan metode ekstraksi tergantung pada jenis zat dan senyawa yang akan diisolasi. Metode ekstraksi dibagi menjadi dua bagian yaitu kelompok ekstraksi dingin dan panas. Kelompok ekstraksi dingin terdiri dari maserasi dan perkolasi. Kelompok ekstraksi panas terdiri dari pemanfaatan refluks, infus, dan distilasi uap air (Depkes, 2016). Pelarut ekstraksi yang baik harus mudah menguap, aman digunakan, mampu menyerap zat dengan baik, dan tidak mempunyai karakteristik yang menyebabkan ekstrak dan pelarut membentuk kompleks (Susanti, 2015).

2.3 Pelarut Etanol

Etanol atau etil alkohol adalah cairan tidak berwarna yang mudah terbakar dan menguap. Etanol memiliki rumus kimia C_2H_5OH atau CH_3CH_2OH dan titik didih $78,4\text{ }^{\circ}C$ (Gambar 4). Etanol adalah pelarut organik yang umum digunakan dalam proses ekstraksi, karena toksisitasnya relatif rendah dibandingkan aseton dan metanol, murah, dapat digunakan dalam berbagai

metode ekstraksi, dan ekstraknya aman sebagai ekstrak untuk digunakan untuk pengobatan dan bahan makanan. Etanol juga merupakan pelarut yang mudah didapatkan, efisien, dan aman bagi lingkungan dengan tingkat ekstraksi yang tinggi. Konsentrasi etanol mempunyai pengaruh yang signifikan terhadap hasil ekstrak yang dihasilkan. Kombinasi etanol dan air menghasilkan pelarut ekstraksi dengan konsentrasi dan polaritas yang bervariasi. Kombinasi etanol dan air sangat menentukan kekuatan ikatan hidrogen dan gaya van der Waals dan hidrofobisitas, komponen target pada saat proses pelarutan atau ekstraksi. Menurut teori kesamaan dan ketercampuran, semakin mirip polaritas pelarut dengan zat pelarut, semakin cepat proses ekstraksi berlangsung. Meningkatnya konsentrasi etanol dapat meningkatkan laju disolusi dan ekstraksi. Ketika konsentrasi etanol melebihi 70 %, laju ekstraksi komponen target sedikit menurun, yang diduga disebabkan oleh peningkatan resistensi difusi akibat denaturasi protein (Hakim dan Saputri, 2020).



Gambar 4. Struktur Kimia Pelarut Etanol (Wusnah dkk., 2016)

2.4 Bakteri *Staphylococcus aureus*

2.4.1 Karakteristik dan Taksonomi *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus adalah bakteri Gram positif, berbentuk bulat dengan diameter 0,7-1,2 µm, berkelompok tidak teratur seperti buah anggur, tidak membentuk spora, bersifat anaerobik fakultatif, dan tidak bergerak (Gambar 5). Suhu pertumbuhan optimalnya adalah 37 °C, namun pigmen juga dapat terbentuk pada suhu kamar (20 °C hingga 25 °C), dan pada pH 4,2-9,3. Pigmen yang terbentuk warnanya bervariasi dari abu-abu hingga kuning keemasan, dengan koloni bulat, halus, menonjol, dan berkilau. Lebih dari 90 % isolat klinik menunjukkan morfologi *Staphylococcus aureus* dengan kapsul

polisakarida atau lapisan tipis yang berperan dalam virulensi bakteri (Karimela dkk., 2017).



Gambar 5. Koloni Bakteri *Staphylococcus aureus* (Hayati dkk., 2019)

Klasifikasi *Staphylococcus aureus* menurut Gibson (1996), adalah sebagai berikut:

Kingdom: Bacteria

Phylum : Firmicutes

Class : Bacilli

Order : Bacillales

Family : Staphylococcaceae

Genus : *Staphylococcus*

Species : *Staphylococcus aureus*

2.4.2 Patogenitas *Staphylococcus aureus*

Sebagian bakteri *Staphylococcus aureus* adalah flora normal pada kulit, saluran pernapasan, dan saluran pencernaan pada manusia. *Staphylococcus aureus* juga ditemukan di udara dan lingkungan sekitar. Infeksi *Staphylococcus aureus* dapat terjadi ketika ditemukan titik lemah pada inangnya, seperti kulit yang terluka, misalnya pada infeksi luka operasi. *Staphylococcus aureus* juga dapat masuk melalui membran mukosa, seperti pada kasus pneumonia yang disebabkan oleh penggunaan ventilator.

Staphylococcus aureus memiliki banyak faktor virulensi sehingga dapat bertahan hidup dan menimbulkan berbagai gejala klinis. *Staphylococcus aureus* menghasilkan peptidoglikan yang merupakan polimer pembentuk dinding sel bakteri, peptidoglikan berfungsi menghambat respon inflamasi. Patogenitas *Staphylococcus aureus* disebabkan oleh produksi toksin yang hanya efektif jika bakteri berhasil menyerang dan bertahan dalam tubuh inang. Pada tahap awal ini, koagulase bertindak sebagai faktor virulensi dengan melindungi bakteri dari fagositosis sehingga bakteri dapat menimbulkan infeksi dan melakukan multiplikasi (Utaminingsih, 2015).

2.5 Bakteri *Escherichia coli*

2.5.1 Karakteristik dan Taksonomi *Escherichia coli*

Escherichia coli merupakan bakteri Gram negatif yang ditandai dengan morfologinya, berbentuk batang pendek dan berwarna merah setelah proses pewarnaan (Rahayu dkk., 2017) (Gambar 6).

Escherichia coli merupakan organisme berbentuk batang pendek berukuran 0,4 hingga 0,7 μm x 1,4 μm , bersifat motil (mampu bergerak), tidak membentuk spora, dan tidak memiliki nukleus, organel luar, maupun sitoskeleton. Namun organel luarnya terdapat 12 buah, yaitu vili yang berbentuk filamen tipis dan panjang.

Escherichia coli merupakan bakteri anaerob fakultatif yang dapat tumbuh dalam kondisi aerobik dan anaerobik. Bakteri *Escherichia coli* yang tergolong bakteri anaerob fakultatif umumnya merupakan bakteri patogen yang optimalnya tumbuh pada suhu 37 °C (Soegijanto, 2016).

Escherichia coli merupakan bagian dari mikroflora yang biasa ditemukan pada saluran pencernaan manusia dan hewan berdarah panas. *Escherichia coli* merupakan bakteri heterotrofik yang memperoleh nutrisi dari lingkungannya berupa zat organik dari sisa

organisme lainnya. *Escherichia coli* menguraikan zat organik dalam makanan menjadi zat anorganik, yaitu CO₂, H₂O, energi, dan mineral (Siwi dan Moge, 2022).



Gambar 6. Koloni Bakteri *Escherichia coli* (Anggraeni, 2015)

Klasifikasi *Escherichia coli* menurut Songer dan Post (2005), adalah sebagai berikut:

Kingdom: Bacteria

Phylum : Proteobacteria

Class : Gammaproteobacteria

Order : Enterobacteriales

Family : Enterobacteriaceae

Genus : *Escherichia*

Species : *Escherichia coli*

2.5.2 Patogenitas *Escherichia coli*

Salah satu jenis utama bakteri Gram negatif secara umum adalah bakteri yang ditemukan oleh Theodore Escherch. *Escherichia coli* adalah bakteri indikator yang berada di air dan menunjukkan bahwa air tersebut terkontaminasi, yang kemungkinan juga mengandung mikroorganisme patogen lainnya. *Escherichia coli* adalah bakteri yang secara alami ada di dalam usus manusia, berfungsi untuk membantu proses pembuangan sisa makanan melalui usus besar, dan akhirnya dikeluarkan dalam bentuk feses. Meskipun *Escherichia coli* dapat menyebabkan sejumlah infeksi yang merugikan, bakteri ini

juga memiliki peran positif sebagai flora yang normal bagi sistem pencernaan manusia. Penularan infeksi oleh *Escherichia coli* dapat terjadi melalui dua cara, yaitu langsung dan tidak langsung. Penularan secara langsung terjadi melalui interaksi antar manusia, sedangkan penularan tidak langsung terjadi melalui konsumsi daging, buah, dan sayuran yang terkontaminasi oleh feses. Berbagai jenis penyakit infeksi yang disebabkan oleh *Escherichia coli* meliputi infeksi pada sistem pencernaan (seperti diare), infeksi saluran kemih, dan meningitis (Fariani dkk., 2022). Di alam, bakteri *Escherichia coli* berperan sebagai pengurai dan penyedia nutrisi bagi tanaman (Siwi dan Moge, 2022).

2.6 Antibakteri

Antibakteri merupakan zat yang dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri patogen penyebab infeksi (Magani dkk., 2020). Zat antibakteri merupakan senyawa metabolit sekunder yang dapat diisolasi dari mikroba, hewan, atau tumbuhan (Sulistyaningsih dkk., 2016). Zat antibakteri yang diisolasi dari tumbuhan umumnya digunakan sebagai pengobatan alternatif (Damayanti dkk., 2022). Berdasarkan sifat toksisitasnya, antibakteri dapat bersifat membunuh bakteri (bakterisidal) dan menghambat pertumbuhan bakteri (bakteriostatik). Konsentrasi tinggi dari zat yang bersifat bakteriostatik dapat juga menunjukkan sifat bakterisidal.

Sebuah antibakteri diklasifikasikan sebagai spektrum luas jika dapat membunuh bakteri Gram positif dan Gram negatif, spektrum sempit jika hanya efektif terhadap satu jenis bakteri, dan spektrum terbatas jika hanya bekerja pada satu spesies bakteri tertentu (Purnamaningsih dkk., 2017). Mekanisme senyawa aktif menghambat pertumbuhan bakteri adalah dengan merusak dinding sel, mengubah permeabilitas sel, mengubah protein dan molekul asam nukleat, menghambat fungsi enzim, serta menghambat sintesis asam nukleat dan protein bakteri (Seko dkk., 2021). Salah satu jenis senyawa antibakteri yang umum digunakan adalah antibiotik. Antibiotik

merupakan zat kimia yang dihasilkan atau diturunkan dari makhluk hidup, termasuk varian yang dibuat secara sintetis, yang dapat menghambat proses-proses penting dalam kehidupan satu atau lebih mikroorganisme pada kadar yang rendah (Siswodihardjo dan Siswandono, 2016).

Kloramfenikol adalah antibakteri yang memiliki spektrum luas terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif. Kloramfenikol dapat mengganggu sintesis protein dalam ribosom manusia. Walaupun kloramfenikol lebih sering dikenali karena kemampuannya dalam menghambat sintesis protein pada bakteri, obat ini juga dapat mempengaruhi ribosom sel manusia, meskipun prosesnya sedikit berbeda. Kloramfenikol bekerja dengan berikatan pada subunit 50S ribosom bakteri dan menghalangi enzim peptidil transferase yang terlibat dalam pembentukan ikatan peptida selama proses sintesis protein pada bakteri. Sementara itu, dalam sel manusia, kloramfenikol mengikat subunit 60S ribosom, tetapi dampaknya tidak sebesar pada bakteri. Dampak kloramfenikol terhadap ribosom manusia dapat menimbulkan efek samping, seperti penurunan produksi sel darah (leukopenia atau anemia), meskipun jika dosis yang diberikan tepat, risiko terjadinya efek samping ini cenderung rendah (Jamilah, 2015).

2.7 Metode Pengujian Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan menggunakan uji sensitivitas. Uji sensitivitas antibakteri merupakan suatu metode uji yang digunakan untuk menentukan tingkat kepekaan bakteri terhadap zat antibakteri dan mengetahui senyawa aktif dari zat antibakteri (Khusuma, 2019). Berikut adalah metode yang umum digunakan dalam uji antibakteri.

2.7.1 Metode Difusi

Metode ini terdiri dari:

a. Metode Difusi Cakram (*Disk Diffusion*)

Metode ini menggunakan kertas cakram sebagai media untuk menyerap bahan antimikroba. Cakram umumnya diletakkan pada permukaan media uji yang telah diinokulasikan mikroba uji, kemudian dilakukan inkubasi selama 18-24 jam dengan suhu 35 °C. Zona hambat di sekitar kertas cakram yang terbentuk menunjukkan ada tidaknya pertumbuhan mikroba. Diameter zona hambat sebanding dengan konsentrasi senyawa yang diserap oleh kertas cakram (Nurhayati, 2020). Kelebihan dari metode difusi cakram adalah proses pengujian yang cepat, biaya yang relatif terjangkau, serta kemudahan dalam pelaksanaan tanpa memerlukan keahlian khusus. Namun, kelemahan dari metode ini adalah kesulitan dalam penerapan pada mikroorganisme yang pertumbuhannya lambat, dan zona bening yang terbentuk sangat dipengaruhi oleh kondisi inkubasi, inokulum, serta ketebalan media (Handayani dkk., 2018).

b. Metode Parit (*Ditch Plate*)

Metode parit dilakukan dengan membuat parit pada media uji yang telah diinokulasi mikroba uji. Parit kemudian diisi dengan zat antimikroba dan diinkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai dengan kondisi optimum setiap mikroba uji. Terbentuk atau tidaknya zona hambat di sekitar parit diamati untuk melihat resistensi mikroba terhadap zat antibakteri (Khusuma dkk., 2019).

c. Metode Sumuran (*Cup/Hole Plate*)

Metode ini dilakukan dengan membuat lubang pada media uji yang telah diinokulasi mikroba uji. Lubang tersebut diisi dengan zat antibakteri yang akan diuji. Kemudian, dilakukan inkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai dengan kondisi optimum setiap mikroba yang akan diuji (Khusuma dkk., 2019). Zona hambat yang terbentuk diukur dengan menggunakan jangka sorong dalam satuan milimeter (mm) dengan cara mengukur zona hambat vertikal dan zona hambat horizontal yang ditambahkan kemudian dibagi dua. Perhitungan menggunakan jangka sorong dengan ketelitian 0,05 cm (Soleha dkk., 2015). Metode sumuran memiliki keunggulan dalam hal pengukuran luas zona hambat yang terbentuk, karena isolat tidak hanya beraktivitas pada di permukaan agar tetapi juga hingga ke bagian bawah. Di sisi lain, kelemahan metode ini adalah media rentan terkontaminasi pada saat pembuatan lubang dan pemberian sampel, karena sering kali cawan harus dibuka dibandingkan dengan metode difusi cakram (Retnaningsih dkk., 2019).

2.7.2 Metode Dilusi

Metode ini terdiri dari:

a. Metode Pengenceran Serial dalam Tabung

Metode dilusi dengan pengenceran serial dalam tabung reaksi dilakukan dengan membuat seri pengenceran agen antimikroba pada medium cair, lalu diinokulasi dengan mikroba patogen dan diinkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai untuk pertumbuhan mikroba uji. Aktivitas zat ditentukan berdasarkan Kadar Hambat Minimal (KHM) (Fitriana, 2019).

b. Metode Lempeng Agar

Metode dilusi dengan lempeng agar dilakukan dengan menginokulasi mikroba uji pada media agar yang mengandung agen antimikroba, lalu diinkubasi pada waktu dan suhu yang sesuai dengan mikroba uji. Kadar Hambat Minimal (KHM) ditentukan oleh kadar terendah larutan zat antimikroba yang masih memberikan hambatan terhadap pertumbuhan mikroba (Fitriana, 2019). Metode dilusi memiliki kelebihan dalam menentukan tingkat resistensi secara kuantitatif, sedangkan kekurangan yang dimiliki adalah kompleksitas dalam pelaksanaannya (Rahmah dkk., 2024).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari-Mei 2025 di Laboratorium Botani dan Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

3.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan adalah *rotary vacuum evaporator*, blender, corong *buchner*, *beaker glass*, cawan petri, batang pengaduk, gelas kaca, labu erlenmeyer, autoklaf, mikropipet, tabung reaksi, neraca analitik, tabung reaksi, rak tabung reaksi, *Biological Safety Cabinet* (BSC) sebagai tempat untuk bekerja secara aseptis, lampu spiritus, inkubator, gelas ukur, lemari pendingin, *vortex*, *plastik* tahan panas, sendok, pinset, bunsen, jarum ose, oven, gelas ukur, *hotplate*, dan jangka sorong.

Bahan-bahan yang digunakan adalah daun dan batang pakis sayur (*Diplazium esculentum*) yang diperoleh dari pasar tradisional yang terletak di Tangerang Banten, mikroba yang digunakan untuk uji antibakteri adalah *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, media *Nutrient Agar* (NA), media *Mueller-Hinton Agar* (MHA), H_2SO_4 0,36 N, $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, alkohol 70 %, spiritus, etanol 96 %, akuades steril, *paper disk*, kertas saring, garam fisiologis (NaCl) 0,9 %, kloramfenikol, aluminium foil, tisu, karet, kertas label, plastik tahan panas, kertas minyak, sarung tangan, dan masker.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan menggunakan Rancangan Acak Kelompok Lengkap (RAKL) dengan dua perlakuan. Perlakuan yang pertama ekstrak etanol pakis sayur dengan tingkat perlakuan kontrol positif menggunakan kloramfenikol (K^+), kontrol negatif menggunakan akuades (K^-), ekstrak etanol pakis sayur 20 % (K_{20}), 33 % (K_{33}), 43 % (K_{43}), dan 50 % (K_{50}). Perlakuan yang kedua adalah jenis mikroba yaitu: *Staphylococcus aureus* (B_s) dan *Escherichia coli* (B_E). Setiap unit perlakuan diulang 3 kali (Tabel 1). Variabel yang diukur adalah zona hambat yang terbentuk pada media.

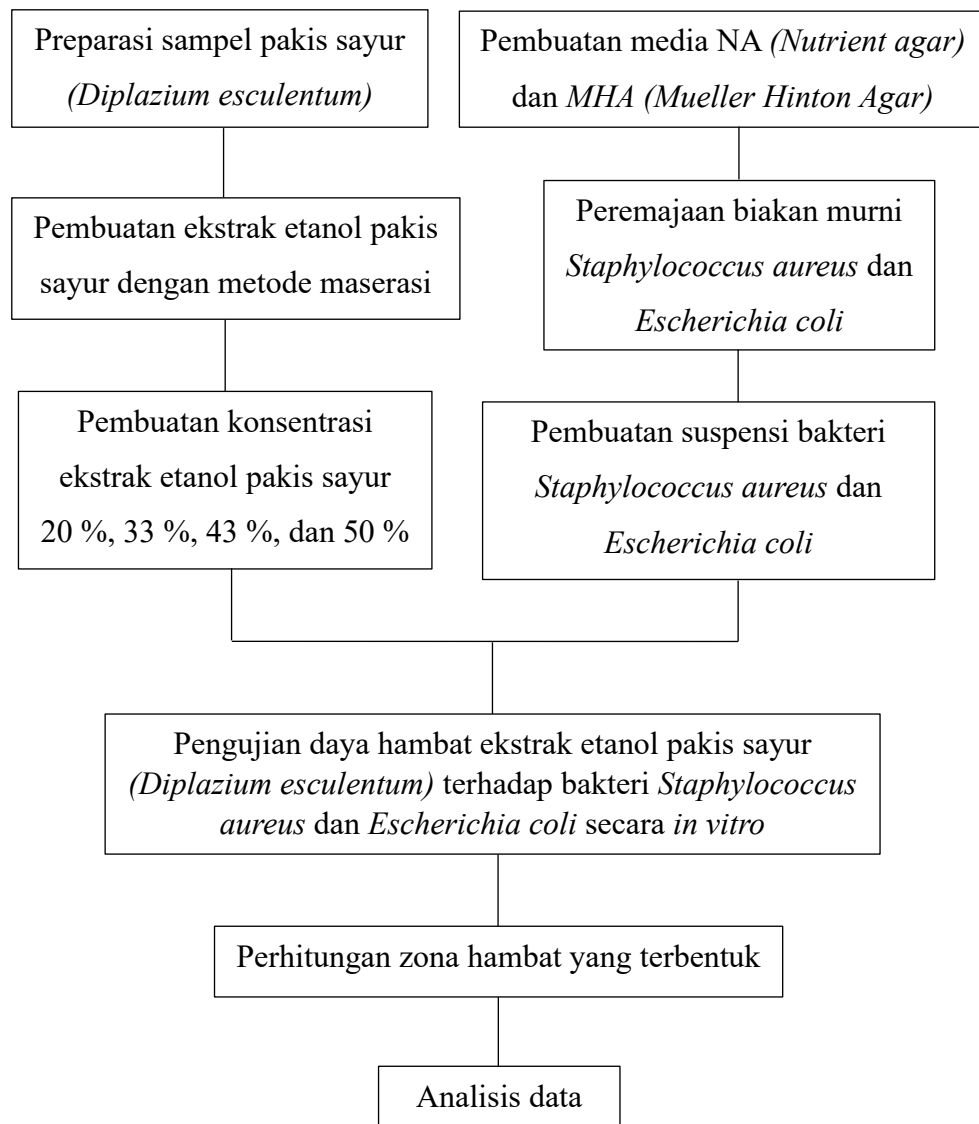
Tabel 1. Tata Letak Unit Percobaan Pengaruh Ekstrak Etanol *Diplazium esculentum* sebagai Antibakteri terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Kombinasi Perlakuan		
I	II	III
$B_E K^- U_1$	$B_s K_{50} U_2$	$B_E K_{50} U_3$
$B_s K^+ U_1$	$B_E K_{33} U_2$	$B_s K_{33} U_3$
$B_E K^+ U_1$	$B_s K^+ U_2$	$B_E K_{33} U_3$
$B_E K_{43} U_1$	$B_s K^- U_2$	$B_s K_{50} U_3$
$B_s K_{20} U_1$	$B_E K_{50} U_2$	$B_E K^- U_3$
$B_E K_{20} U_1$	$B_E K^+ U_2$	$B_s K^+ U_3$
$B_s K_{33} U_1$	$B_E K_{43} U_2$	$B_s K_{43} U_3$
$B_E K_{50} U_1$	$B_s K_{20} U_2$	$B_E K_{20} U_3$
$B_s K_{50} U_1$	$B_s K_{43} U_2$	$B_s K_{20} U_3$
$B_s K^- U_1$	$B_s K_{33} U_2$	$B_E K^+ U_3$
$B_E K_{33} U_1$	$B_E K^- U_2$	$B_E K_{43} U_3$
$B_s K_{43} U_1$	$B_E K_{20} U_2$	$B_s K^- U_3$

Keterangan: B_s = *Staphylococcus aureus*; B_E = *Escherichia coli*;
K= Konsentrasi; U= Ulangan

3.4 Diagram Alir

Diagram alir penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Diagram Alir Penelitian

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Persiapan Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun dan batang pakis sayur yang diperoleh dari pasar tradisional yang ada di Tangerang, Banten. Sebanyak 5 kg daun dan batang pakis sayur

dibersihkan dengan air bersih mengalir hingga semua kotoran hilang. Daun dan batang pakis sayur yang telah bersih dikering anginkan hingga tidak ada air yang tersisa. Daun dan batang pakis sayur yang telah kering dimasukkan ke dalam oven pada suhu 40 °C selama 60 menit dan ditunggu hingga benar-benar kering. Setelah kering, daun dihaluskan menggunakan blender hingga menjadi serbuk dan diletakkan ke dalam wadah (Armansyah, 2022).

3.5.2 Pembuatan Ekstrak *Diplazium esculentum*

Serbuk (simplisia) pakis sayur sebanyak 300 g dilarutkan dalam 1500 mL etanol 96 % dan dimaserasi selama 1 x 24 jam sebanyak 3 kali kemudian dilakukan remaserasi sebanyak 2 kali pada suhu ruang agar maserat yang dihasilkan lebih optimal dalam menarik senyawa metabolit sekunder dari jaringan tumbuhan yang diteliti. Kemudian disaring menggunakan corong *buchner* dan filtrat diuapkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* dengan suhu 40 °C. Kemudian ekstrak dipanaskan menggunakan *waterbath* hingga diperoleh ekstrak kental. Hasil yang diperoleh ditimbang dan disimpan dalam wadah tertutup (Khotijah, 2020).

3.5.3 Uji Aktivitas Antibakteri

3.5.3.1 Sterilisiaasi Alat

Seluruh peralatan yang akan digunakan dicuci bersih dan dikeringkan. Sterilisasi dilakukan menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit agar terbebas dari pengaruh mikroorganisme lain yang dapat memengaruhi hasil penelitian. Tabung reaksi dan labu erlenmeyer ditutup mulutnya menggunakan sumbat kapas, sedangkan cawan petri dibungkus dengan kertas HVS kemudian dimasukkan ke dalam oven. Pinset dan jarum ose disterilkan dengan cara memijarkannya pada api bunsen (Armansyah, 2022).

3.5.3.2 Pembuatan Media Bakteri

Media yang digunakan untuk mengkultur bakteri pada penelitian ini adalah media *Nutrient Agar* (NA) dan media *Mueller Hinton Agar* (MHA). Media *Nutrient Agar* (NA) dibuat dengan melarutkan serbuk media sebanyak 0,4 g (Komposisi kemasan 20 gr/1000 mL) serbuk media ke dalam *beaker glass* yang berisi akuades sebanyak 20 mL. Media *Mueller Hinton Agar* (MHA) dibuat dengan memasukkan 11,4 g MHA ke dalam *beaker glass* yang berisi akuades sebanyak 300 mL. Komposisi MHA pada kemasan adalah: 2 g *beef extract*; 17,5 g *casein hydrolysate*; 1,5 g *starch*; dan 17 g agar. Setelah itu, kedua media tersebut dipanaskan di atas *hotplate* hingga mendidih dan terlihat bening. Selanjutnya, media disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121 °C selama 20 menit. Media *Mueller Hinton Agar* (MHA) dituangkan pada cawan petri steril dan *Nutrient Agar* (NA) dituangkan pada tabung reaksi steril dalam posisi miring dan didiamkan pada suhu ruang dalam *Biological Safety Cabinet* hingga padat. Kemudian disimpan pada suhu 4 °C (dalam lemari es) (Utomo, 2018).

3.5.3.3 Peremajaan Biakan Murni Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Peremajaan biakan murni bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dilakukan dengan mengkulturkan 1 atau 2 ose dengan cara digoreskan pada medium *Nutrient Agar* (NA) miring secara aseptis, kemudian diinkubasi selama 1 x 24 jam pada suhu 37 °C. Setelah inkubasi selesai, bakteri yang tumbuh dapat digunakan sebagai mikroba uji (Jasmiadi, 2023).

3.5.3.4 Pembuatan Suspensi Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Sebanyak 9 mL larutan NaCl 0,9 % steril dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Bakteri diambil dengan jarum ose steril, kemudian disuspensikan ke dalam 9 mL larutan NaCl 0,9 % steril (Badan Standardisasi Nasional, 2016).

Suspensi bakteri diencerkan hingga diperoleh kekeruhan bakteri yang sesuai dengan standar kekeruhan 0,5 *McFarland* (sekitar $1,5 \times 10^8$ CFU/mL) (Nurhayati dkk., 2020). Larutan *McFarland* dibuat dengan mencampurkan larutan H₂SO₄ 0,36 N sebanyak 99,5 mL dengan larutan BaCl₂.2H₂O 1.175 % sebanyak 0,5 mL dalam erlenmeyer. Kemudian dihomogenkan hingga larutan menjadi keruh. Kekeruhan larutan *McFarland* digunakan sebagai standar kekeruhan suspensi bakteri (Aviany dan Pujiyanto, 2020).

3.5.3.5 Pembuatan Konsentrasi Larutan Uji

Untuk mendapatkan konsentrasi larutan yang akan diujikan, dilakukan pengenceran menggunakan akuades steril dengan rumus pengenceran sebagai berikut:

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

Keterangan:

M_1 : Konsentrasi ekstrak yang akan diencerkan (%)

V_1 : Volume ekstrak yang akan diambil (mL)

M_2 : Konsentrasi ekstrak yang akan dibuat (%)

V_2 : Volume ekstrak yang akan dibuat (mL)

Konsentrasi ekstrak etanol pakis sayur yang akan digunakan yaitu 20 %, 33 %, 43 %, dan 50 %. Pengenceran ekstrak etanol dilakukan dengan akuades steril kemudian di *vortex* hingga tercampur merata (Husna dkk., 2016).

Tabel 2. Konsentrasi Ekstrak Etanol Pakis Sayur yang diujikan

Stok ekstrak etanol pakis sayur	Ditambah akuades	Konsentrasi ekstrak yang diujikan
0,75 gr	3 mL	20 %
1,5 gr	3 mL	33 %
2,25 gr	3 mL	43 %
3 gr	3 mL	50 %

Sebagai kontrol positif digunakan kloramfenikol. Sebanyak 0,06 g kloramfenikol dilarutkan dalam 10 mL akuades steril untuk memperoleh larutan kloramfenikol dengan konsentrasi 0,6 %. Kontrol negatif dibuat menggunakan akuades steril (Kumayas dkk., 2015).

3.5.3.6 Uji Aktivitas Antibakteri secara *in Vitro*

Uji *in vitro* aktivitas ekstrak etanol pakis sayur dilakukan dengan metode difusi cakram *Kirby Bauer (Disk-Diffusion method)*. Pengujian ini dilakukan dengan menggunakan kertas saring yang dipotong menggunakan pembolong kertas dengan diameter 5 mm sebagai kertas cakram. Kertas cakram yang sudah steril kemudian di rendam dengan berbagai konsentrasi ekstrak dan kontrol selama 24 jam. Selanjutnya, suspensi biakan pada larutan NaCl 0,9 % yang sudah sama tingkat kekeruhannya, diambil sebanyak 100 mikron ke cawan petri berisi media *Mueller Hinton Agar* (MHA). Suspensi di usap menggunakan *cotton bud* steril pada seluruh permukaan media sampai inokulum merata. Biarkan sampai inokulum menyerap pada media. Kemudian kertas cakram diletakkan pada permukaan media dengan berbagai perlakuan. Cawan petri yang telah diinokulasi dan diletakkan kertas cakram kemudian di inkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Kemudian zona bening yang terbentuk disekitar cakram diukur

menggunakan jangka sorong dengan satuan milimeter (mm) (Husna dkk., 2016).

3.5.3.7 Perhitungan Zona Hambat yang Terbentuk

Pengamatan zona hambat pada media dilakukan setelah 24 jam inkubasi. Diameter zona hambat atau zona bening di sekitar kertas cakram merupakan petunjuk kepekaan bakteri terhadap bahan antibakteri yang digunakan sebagai bahan uji. Zona hambat yang terbentuk diukur diameter vertikal, diameter horizontal, dan diameter diagonalnya menggunakan jangka sorong (Toy dkk., 2015). Diameter zona hambat diukur dengan rumus:

$$D = \frac{(D_v - D_c) + (D_h - D_c) + (D_d - D_c)}{3}$$

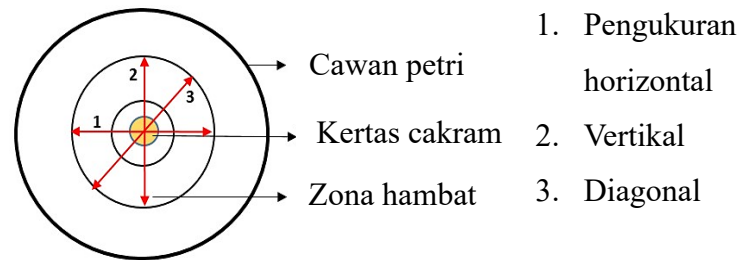
Keterangan:

- D : Diameter zona hambat
- D_v : Diameter zona hambat vertikal
- D_h : Diameter zona hambat horizontal
- D_d : Diameter zona hambat diagonal
- D_c : Diameter kertas cakram

Hasil perhitungan zona hambat kemudian ke dalam kriteria klasifikasi efektivitas zat antibakteri (Davis dan Stout, 1971) sebagai berikut:

- a. Diameter < 5 mm : Daya hambat lemah
- b. Diameter 5-10 mm : Daya hambat sedang
- c. Diameter 11-20 mm : Daya hambat kuat
- d. Diameter > 20 mm : Daya hambat sangat kuat

Ilustrasi pengukuran zona hambat dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Ilustrasi Perhitungan Diameter Zona Hambat Bakteri (Bauer dkk., 1966)

3.6 Analisis Data

Data yang diperoleh tidak normal dan tidak homogen sehingga dilakukan uji non parametrik *Kruskal Wallis* kemudian analisis perbandingan antar kelompok dilakukan menggunakan uji *Post Hoc Mann Whitney*.

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. ekstrak etanol pakis sayur (*Diplazium esculentum*) memiliki pengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.
2. konsentrasi ekstrak yang diujikan tidak efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

5.2 Saran

Adapun saran dari penelitian ini sebagai berikut:

1. perlu dilakukan identifikasi senyawa aktif yang bertanggung jawab atas aktivitas antibakteri.
2. perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efektivitas ekstrak *Diplazium esculentum* dengan konsentrasi yang lebih tinggi.
3. perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efektivitas ekstrak *Diplazium esculentum* menggunakan metode lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Akbar, M., D. J. Santri, dan Ermayanti. 2018. Morfologi Perkembangan Jenis Paku *Davalia denticulata*, *Microsorium scolopendria*, *Nephrolepis biserrata* dan Sumbangnya Pada Pembelajaran Biologi SMA. *Jurnal Pembelajaran Biologi*. 5(1): 56-73.
- Anggraeni, R. 2015. Analisis Cemaran Bakteri *Escherichia Coli* (E. coli) 0157:H7 pada Daging Sapi D Kota Makasar. *Skripsi Prodi Kedokteran Hewan*. Makasar: Universitas Hasanudin Makasar.
- Armansyah, T., A. Sutriana, dan M. Hanif. 2022. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak *n*-Heksana, Etil Asetat, dan Etanol Daun Sirih Merah terhadap Bakteri *Escherichia coli* secara in Vitro. *Buletin Veteriner Udayana*. 14(4): 382-390.
- Aviany, H. B., dan D. S. Pujiyanto. 2020. Analisis Efektivitas Probiotik di Dalam Produk Kecantikan sebagai Antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus epidermis*. *Jurnal Berkala Bioteknologi*. 3(2).
- Badan Standardisasi Nasional. 2016. *Uji Sensitivitas Bakteri yang Diisolasi Dari Ikan dan Lingkungan Terhadap Antimikroba Dengan Menggunakan Metode Difusi Cakram*, SNI: 8234. Badan Standardisasi Nasional, Jakarta.
- Bauer, A. W., W. M. M. Kirby, J. C. Sherris, dan M. Turck. 1966. Antibiotic Susceptibility testing by a Standardized Single disc Method. *Amer. J. Clin. Pathol.* 45. 493-496.
- Bawamenewi, F., M. Bintang, M. Safithri, dan F. H. Pasaribu. 2016. Aktivitas Antimikroba dan Identifikasi Senyawa Bioaktif Ekstrak Etanol Daun Söfö-söfö (*Acmella cf*) Menggunakan GC-MS. *Current Biochemistry*. 3(2): 102-111.
- Benigna, M. 2015. Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Keji Beling (*Srobilanthes crisp* Bl.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Salmonella typhi* secara in vitro. *Skripsi*. Yogyakarta: Universitas Sanata Dharma.
- Brooks, G. F., J. S. Butel, dan S. A. Morse. 2008. *Mikrobiologi Kedokteran Jawetz. Melnick Adelberg: EGC*. Jakarta.

- Cronquist, A. 1981. *An Integrated System of Classification of Flowering Plants*. Columbia University Press. New York.
- Damayanti, E., F. Hamid, dan R. Sjahril. 2022. Isolasi Antimikroba Baru dari Bakteri Tanah. *JUMANTI*. 7(2): 176-181.
- Davis, W. W., dan T. R. Stout. 1971. Disc Plate Method of Microbiological Assay. *Journal of Microbiology*. 22(4): 659-665.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2016. *Farmakope Indonesia. Edisi VI*. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. Jakarta.
- Egra, S., Mardhiana, R. Patriawan, Kartina, S. Sirait, dan H. Kuspradini. 2019. Aktivitas Antimikroba Tanaman Paku (*Stenochlaena palustris* dan *Pteridium caudatum*) Terhadap Bakteri (*Ralstonia solanacearum* dan *Streptococcus sobrinus*). *Jurnal Jamu Indonesia*. 4(1): 28-36.
- Fandini, S. 2023. Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Pakis Sayur (*Diplazium esculentum* (Retz.) Sw.) Terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus epidermidis*. *Skripsi*. Padang: Universitas Andalas.
- Fariani, A., dan L. Advinda. 2022. Pengaruh Berbagai Konsentrasi Sabun Padat Antiseptik Terhadap *Escherichia coli*. *Serambi Biologi*. 7(8): 229-234.
- Fitriana, Y. A. N., V. A. N. Fatimah, dan A. S. Fitri. 2019. Aktivitas Anti Bakteri Daun Sirih: Uji Ekstrak KHM (Kadar Hambat Minimum) dan KBM (Kadar Bakterisidal Minimum). *Jurnal Sainteks*. 16(2):101-108.
- Gibson, J. M. 1996. *Mikrobiologi dan Patologi Modern Untuk Perawat*. Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Hakim, A. R., dan R. Saputri. 2020. Narrative Review: Optimasi Etanol Sebagai Pelarut Senyawa Flavonoid dan Fenolik. *Jurnal Surya Medika (JSM)*. 6(1): 177-180.
- Handayani, R., N. Qamariah, dan S. A. Mardova. 2018. Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Batang Saluang Belum terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *Borneo Journal of Pharmacy*. 1(1): 16-18.
- Hayati, L. N., W. Tyaningsih, R. N. Praja, S. Chusniati, M. N. Yunita, dan P. A. Wibawati. 2019. Isolasi dan Identifikasi *Staphylococcus aureus* pada Susu Kambing Peranakan Etawah Penderita Mastitis Subklinis di Kelurahan Kalipuro, Banyuwangi. *Jurnal Medik Veteriner*. 2(2): 76-82.
- Hepni, H. 2019. Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Dalam Daun Kumak (*Lactuca indica* L.). *Jurnal Dunia Farmasi*. 4(1): 17-22.
- Hermawan, L. Purwanti, dan U. A. Dasuki. 2017. Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Daun Pakis Sayur (*Diplazium esculentum* (Retz.) Swartz). *Prosiding Farmasi*. 3(2): 642-650. Universitas Islam Bandung.

- Husna, F. A., E. S. Sulasmi, dan A. Witjoro. 2016. Uji Aktifitas Antibakteri Ekstrak Metanol Ental Muda *Diplazium Esculentum* (Retz.) Swartz terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* secara in Vitro. *Journal of Chemical Information and Modeling*. 53(9): 1689-1699.
- Jamilah. 2015. Evaluasi Keberadaan Gen catP terhadap Resistensi Kloramfenikol Pada Penderita Demam Tifoid. *Prosiding Seminar Nasional Mikrobiologi Kesehatan dan Lingkungan*. 1(1): 146-152. UIN Alauddin Makassar.
- Jasmiadi, H. Rante, dan A. A. Assabila. 2021. Antibacterial Activity of Ethanol Extract of Basil Leaves (*Ocimum sanctum* L.) Against the Growth of *Escherichia coli* Bacteria. *Jurnal Novem Medika Farmasi*. 2(2): 60-66.
- Jumania, E. Sukmawati, C. Muthiadin, dan S. R. Sari. 2020. Skrining Fitokimia Ekstrak Tanaman Tambalepen dan Pengaruh Penghambatannya Terhadap Bakteri *Salmonella thypi*. *Prosiding Seminar Nasional Biotik*. 347-354.
- Karimela, E. J., F. G. Ijong, dan H. A. Dien. 2017. Characteristics of *Staphylococcus aureus* isolated smoked fish pinekuhe from traditionally processed from Sangihe District. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 20(1): 188-198.
- Kartikasari, N., dan Y. A. Purwestri. 2021. Kemampuan Antibakteri Senyawa Metabolit Sekunder Bakteri Endofit Tanaman Purwoceng terhadap *Escherichia coli*. *Jurnal Ilmu Hayat*. 5(1): 17-24.
- Khairunnisa, N., L. Yuniati, A. St. F. Aarsal, Hermiaty, dan R. S. Syamsu. 2023. Efektifitas Ekstrak Daun Kemangi dan Ekstrak Daun Sirih Merah sebagai Antimikroba *Staphylococcus aureus* Penyebab Frunkle. *Fakumi Medical Journal: Jurnal Mahasiswa Kedokteran*. 3(2): 106-111.
- Khotijah, S., D. I. Laily, B. N. Widodo, dan S. Sutoyo. 2020. Aktivitas Mukolitik Ekstrak *n*-Heksana Tumbuhan Paku *Nephrolepis radicans*. *Unesa Journal of Chemistry*. 9(2): 121-127.
- Khotimah, K. 2016. Skrining Fitokimia dan Identifikasi Metabolit Sekunder Senyawa Karpain pada Ekstrak Metanol Daun *Carica pubescens* Lenne & K. Koch dengan LC/MS (*Liquid Chromatograph-tandem Mass Spectrometry*). *Skripsi*. Malang: UIN Malang.
- Khusuma, A., Y. Safitri, A. Yuniarni, dan K. Rizki. 2019. Uji Teknik Difusi Menggunakan Kertas Saring Media Tampung Antibiotik dengan *Escherichia Coli* Sebagai Bakteri Uji. *Jurnal Kesehatan Prima*. 13(2): 151-155.
- Kumar, A., H. K. Sadhya, E. Ahmad, dan S. Dulawat. 2020. Application of bioenzyme in wastewater (greywater) treatment. *International Research. Journal of Engineering and Technology*. 7(5): 2886-2890.

- Kumayas, A. R., D. S. Wewengkan, dan S. Sudewi. 2015. Aktivitas Antibakteri Dan Karakteristik Gugus Fungsi Dari Tunikata Polycarpa Aurata. *Pharmacon Jurnal Ilmiah Farmasi*. 4(1).
- Kurnianto, M. A., dan F. Syahbanu. 2023. Resistensi Antibiotik Pada Rantai Pasok Pangan: Tren, Mekanisme Resistensi, dan Langkah Pencegahan. *Agrointek: Jurnal Teknologi Industri Pertanian*. 17(3): 608-621.
- Lestari, M. P., dan Marchaban. 2023. Upaya Pencegahan Resistensi Antibiotik dengan Edukasi Penggunaan Obat yang Rasional. *Journal of Innovation in Community Empowerment (JICE)*. 5(2): 86-90.
- Magani, A. K., T. E. Tallei, dan B. J. Kolondam. 2020. Uji Antibakteri Nanopartikel Kitosan terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Bios Logos*. 10(1): 7-12.
- Marfu'ah, N., S. Luthfiana, dan Ichwanuddin. 2021. Uji Potensi Antibakteri *Staphylococcus aureus* dari Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.). *PHARMASIPHA: Pharmaceutical Journal of Islamic Pharmacy*. 5(2): 1-10.
- Mariaflaya. 2018. <https://www.istockphoto.com/id/vektor/siklus-hidup-siklushidup-tanaman-dengan-pergantian-fase-sporophytic-dan-haploidgm989907902-268335844>. Diakses pada Hari Rabu, tanggal 13 November 2024.
- Muhlis, M. A. P., S. Hadi, Rasfayanah, H. Nasruddin, dan Z. Murfat. 2022. Efektivitas Ekstrak Rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *Fakumi Medical Journal: Jurnal Mahasiswa Kedokteran*. 2(7): 450-459.
- Muldianah, D., D. A. Nurdimayanthi, D. S. Rahmawati, dan H. Fadhillah. 2021. Teknik Isolasi dan Identifikasi Senyawa Glikosida dari Berbagai Tanaman. *PharmaCine: Journal of Pharmacy, Medical and Health Science*. 2(1): 11-21.
- Ningsih, I. S., M. Chatri, L. Advinda, dan Violita. 2023. Senyawa Aktif Flavonoid yang Terdapat Pada Tumbuhan. *Serambi Biologi*. 8(2): 126-132.
- Novard, M. F. A., N. Suharti, dan R. Rasyid. 2019. Gambaran Bakteri Penyebab Infeksi Pada Anak Berdasarkan Jenis Spesimen dan Pola Resistensinya di Laboratorium RSUP Dr. M. Djamil Padang Tahun 2014-2016. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 8(2): 26-32.
- Nurhayati, L. S., N. Yahdiyani, dan A. Hidayatullah. 2020. Perbandingan Pengujian Aktivitas Antibakteri Starter Yoghurt Dengan Metode Difusi Sumuran dan Metode Difusi Cakram. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*. 1(2): 41-46.

- Pradipta, A. R., S.A. Hariani, dan L. Novenda. 2023. Identifikasi Tumbuhan Paku Berdasarkan Letak dan Posisi Sorus dengan Ketinggian Berbeda di Kabupaten Bondowoso. *Jurnal Biologi Edukasi*. Edisi 30. 15(1): 18-28.
- Purnamaningsih, N., H. Kalor, dan S. Atun. 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* ATCC 11229 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. *Jurnal Penelitian Saintek*. 22(2): 140-147.
- Purnawati, U., M. Turnip, dan I. Lovadi. 2014. Eksplorasi Paku Pakuan (*Pteridophyta*) Di Kawasan Cagar Alam Mandor Kabupaten Landak. *Jurnal Protobiont*. 3(2): 155-165.
- Putra, A. R. S., M. H. Effendi, S. Koesdarto, Suwarno, W. Tyasningsih, dan A. T. S. Estoe pangestie. 2019. Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* Penghasil *Extended Spectrum β -lactamase* dari Swab Rectal Sapi Perah Menggunakan Metode Vitek-2 Di Kud Tani Wilis Sendang Kabupaten Tulungagung. *Journal of Basic Medicine Veterinary*. 8(2): 108-114.
- Putri, S. A. 2015 Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder dari Kulit Batang *Garcinia balica*. *Skripsi*. Surabaya: Institut Teknologi Sepuluh November.
- Putri, M. 2016. Keanekaragaman Spesies Tumbuhan Paku Epifit dan Pohon Inangnya di Kawasan Hutan Gunung Bunder Taman Nasional Gunung Halimun Salak (TNGHS). *Skripsi*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Rahayu, S. A., dan M. M. H. Gumilar. 2017. Uji Cemarkan Air Minum Masyarakat Sekitar Margahayu Raya Bandung Dengan Identifikasi Bakteri *Escherichia coli*. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*. 4(2): 50-56.
- Rahmah, N. W., A. Hidayani, F. H. Ramdhani, dan A. F. Rozi. 2024. Gambaran Hasil Uji Sensitivitas Antibiotik Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dengan Metode *Disc* dan Sumuran. *Jurnal Surya Medika*. 10(2): 344-348.
- Retnaningsih, A., A. Primadimanti, dan I. Marisa. 2019. Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Biji Pepaya Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae*. *Jurnal Analisis Farmasi*. 4(2): 122-129.
- Rompas, S. A. T., D. S. Wewengkang, dan D. A. Mpila. 2022. Uji Antibakteri Organisme Laut Unikata *Polycarpa aurata* terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *PHARMACON*. 11(1): 1271-1278.
- Sari, D. L. 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirsak Muda dan Tua (*Annona muricata*) terhadap *Staphylococcus aureus* *Skripsi*. Medan: Universitas Sumatera Utara.

- Saptowo, A., R. Supriningrum, dan Supomo. 2022. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Sekilang (*Embeliaborneensis Scheff*) terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*. *Al Ulum Sains dan Teknologi*. 7(2): 93-98.
- Seko, M. H., A. C. Sabuna, dan J. Ngginak. 2021. Ekstrak Etanol Daun Ajeran Sebagai Antibakteri Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Biosains*. 7(1): 1-9.
- Setiawan, M. H., S. Mursiti, dan E. Kusumo. 2016. Isolasi dan Uji Daya Antimikroba Ekstrak Kulit Nanas (*Ananas comosus L. Merr*). *Jurnal MIPA*. 39(2): 128-134.
- Shinta, G. D. 2021. Uji Daya Hambat Ekstrak Biji Buah Durian (*Durio zibethinus Murray*) terhadap Pertumbuhan Jamur *Candida albicans*. *Skripsi*. Universitas Sumatera Utara.
- Siswodihardjo dan Siswandono. 2016. *Kimia Medisinal 2, Edisi Kedua*. Airlangga University Press. Surabaya.
- Siwi, V., dan A. R. Moge. 2022. Bakteri *Escherichia coli* pada Saus Kacang Jajanan Cilok di Kota Manado. *Majalah InfoSains*. 3(2): 90-94.
- Soedarto. 2015. *Mikrobiologi Kedokteran*. Sagung Seto. Jakarta.
- Soegijanto, S. 2016. *Kumpulan Makalah Penyakit Tropis dan Infeksi di Indonesia Jilid 8*. Airlangga University Press. Surabaya.
- Soleha, T. U., N. Carolina, dan S. W. Kurniawan. 2015. The Inhibition Test of Red Betel Leaves (*Piper crocatum*) Towards *Staphylococcus aureus* and *Salmonella typhi*. *Majority*: 4(5): 117-122.
- Songer J. G., dan K. W. Post. 2005. *Veterinary Microbiology: Bacterial and Fungal Agent of Animal Disease*. Elsevier Saunders. USA.
- Souhaly, Y., M. N. Matdoan, dan S. I. A. Salmanu. 2018. Analisis Kandungan Vitamin A Pada Daun Paku-Paku (*Diplazium esculentum* (Retz.)Sw.) Berdasarkan Proses Pemasakan. *Biopendix*. 4(2): 63-70.
- Sujana, K. V., D. G. Katja, dan H. S. J. Koleangan. 2024. Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Kulit Batang *Chisocheton* sp. (C.DC) Harms terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Chem Prog*. 17(1): 87-97.
- Sulistyaningsih, R., Firmansyah, dan A. Tjitraresmy. 2016. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Bayam Duri (*Amaranthus spinosus*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* dengan Metode Difusi Agar. *Farmaka* 14(1): 93-102.

- Sumito, R. J., S. Khotimah, dan R. Linda. 2016. Uji Bioaktivitas Fraksi Metanol dan Etil Asetat Tumbuhan Paku Sisik Naga (*Drymoglossum piloselloides* (L.) pressl.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*. *Jurnal Protobiont*. 5(1): 30-38.
- Susanti, A. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol, Fraksi N-Heksan, Dan Fraksi Etil Asetat Daun *Artemisia californica* Less terhadap *Escherichia coli* ATCC 35218 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara in Vitro. *Skripsi*. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
- Taufiq, S., U. Yuniarni, dan S. Hazar. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Buah Pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*. *Prosiding Penelitian SPeSIA Unisba*. 2(1): 654-661.
- Tilarso, D. P., A. Muadifah, W. Handaru, P. I. Pratiwi, dan M. L. Khusna. 2021. Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Daun Sirih dan Belimbing Wuluh Dengan Metode Hidroekstraksi. *Chempublish Journal*. 6(2): 63-74.
- Toy, T., S. Lampus, dan S. P. Hutagalung. 2015. Uji Daya Hambat Ekstrak Rumput Laut *Gracilaria* sp. terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal e-GiGi (eG)*. 3(1): 153-159.
- Utaminingsih, B. V. M. 2015. *Pengaruh Pemberian Minyak Nigella sativa Dan Kombinasinya Dengan Seftriakson Terhadap Jumlah Kuman Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) Pada Kultur Otak Mencit BABL/c*. Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro, Semarang.
- Utomo, S. B., M. Fujiyanti., W, H. Lestari, dan S. Mulyani. 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa C-4- Metoksifenilkaliks[4]Resorsinarena Termofikasi Hexadecyltrimethylammonium-Bromide Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jkpk (Jurnal Kimia Dan Pendidikan Kimia)*. 3(3): 201-209.
- Wahyuni, F. I. Ramadhani, dan M. Widasari. 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Secara In Vivo Ekstrak Etanol Daun Pakis Sayur (*Diplazium esculentum* Swartz) pada Mencit Jantan Galur BALB/C yang Diinfeksi *Salmonella typhi* ATCC 14028. *Jurnal Farmasi UIN Alauddin*. 4(2): 4-11.
- World Health Organization (WHO). 2023. Buku Antibiotik WHO AWaRe (Access, Watch, Reserve). [https://www.who.int/indonesia/id/news/detail/05-07-2023-buku-antibiotik-who-aware-\(-access--watch--reserve\)](https://www.who.int/indonesia/id/news/detail/05-07-2023-buku-antibiotik-who-aware-(-access--watch--reserve)). Diakses pada Hari Selasa, tanggal 01 Oktober 2024.
- Wusnah, S. Bahri, dan D. Hartono. 2016. Proses Pembuatan Bioetanol dari Kulit Pisang Kepok (*Musa acuminata* B.C) secara Fermentasi. *Jurnal Teknologi Kimia Unimal*. 5(1): 57-65.

- Yusran, A., dan Kevin. 2009. Uji Daya Hambat Anti Jamur Ekstrak Minyak Atsiri *Cinnamomun burmanii* terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*. *Dentofasial*. 8(2):104-110.
- Zannah, F., M. Amin, H. Suwono, dan B. Lukiati. 2017. Phytochemical Screening of *Diplazium esculentum* As Medicinal Plant from Central Kalimantan, Indonesia. *In AIP Conference Proceedings*. 1844(1).