

Antibacterial Effectiveness of Methanol Extract Combination Formula 3:2:1 of Tambora Leaf (*Ageratum conyzoides*), Sembalit Angin Leaf

by Astuti Amin

Submission date: 14-Apr-2023 04:50AM (UTC-0700)

Submission ID: 2064339434

File name: R1_Revisi_Ardi_3513-10221-1-RV_translate.docx (831.56K)

Word count: 2961

Character count: 15964

1
Antibacterial Effectiveness of Methanol Extract Combination Formula 3:2:1 of Tambora Leaf (*Ageratum conyzoides*), Sembalit Angin Leaf (*Mussaenda frondosa* L), Turmeric Rhizome (*Curcuma longa* L) on the growth of *Staphylococcus aureus*

Ardiansyah¹, Noor Hujjatusnaini^{1*}, Astuti Muh. Amin², Lilin Ika Nur Indahsari¹

¹Departement of Biology Education, FTIK, IAIN Palangka Raya, Central Kalimantan, Indonesia.

²Department of Biology Education, FTIK, IAIN Ternate, Ternate, North Maluku, Indonesia.

*Email: noor.hujjatusnaini@iain-palangkaraya.ac.id

Abstract

The research was a quantitative descriptive study using laboratory experimental methods. This research was conducted to analyze the combination formula of Tambora leaves, Sembalit Angin leaves, and turmeric rhizomes using 3: 2: 1 ratio and determine its effectiveness in-inhibiting the-growth of *Staphylococcus aureus* bacteria in vitro. The growth of *Staphylococcus aureus* was measured by the width of the inhibition zone from the outer side of the paper disc which has been immersed in methanol extract of Tambora leaves, Sembalit Angin leaves, and turmeric rhizomes in nutrient agar medium. Measurement was done by calipers. Measurements and observations were made during the incubation period of 24 hours, 48 hours, and 72 hours. The data obtained from the effect of a combination formula of 3:2:1 Tambora leaves, Sembalit Angin leaves, and turmeric rhizomes on the growth of *Staphylococcus aureus* were analyzed by Anava statistical test, and Duncan 1% test. The results found that the combination formula of 3:2:1 bioherbal methanol extract of Tambora leaves, Sembalit Angin leaves, and Turmeric rhizomes had a significant effect on the growth of *Staphylococcus aureus* at 1% significance, proven by the sig value. 0.00 <0.01, so the 3: 2: 1 combination formula can be recommended as the most effective combination extract formulation in inhibiting the growth of *Staphylococcus aureus*.

Keyword : *Combination Formula, Ageratum conyzoides, Mussaenda frondosa, Curcuma longa, Staphylococcus aureus*

INTRODUCTION

Indonesia has a high level of biodiversity, proven by its abundant natural wealth, for example medicinal plants. One of the reasons is the tropical climate and loose soil in Indonesia (Jalil, 2019). Indonesian people often use medicinal plants as clothing, food, shelter, and also use them as materials for treatment. An example of the use of medicinal plants is for the treatment of bacterial infections. Indonesia has a lot of forest that containing many medicinal plants, including forests in Central Kalimantan.

Central Kalimantan has forest areas that are rich in medicinal plants (Ardhany & Novaryatiin, 2019). Some of these medicinal plants are Tambora, Sembalit Angin, and Turmeric. The metabolic substances of Tambora leaves include flavonoids and saponins that have potential role as antibacterial (Saputra et al., 2019). Sembalit Angin leaves known could heal wounds and has a role as antibacteria for *Staphylococcus aureus*

(Garvita, 2015). Turmeric rhizome is a medicinal plant that can act as an antibacterial, because of the curcuminoids and essential oils contained in it (Jumiati et al., 2019). *S. aureus* is one of the bacteria that causes infection in the post-partum reproductive tract (Mas'udah, 2017).

Medicinal plants such as Tambora, Sembalit Angin, and Turmeric are very easy to find, for example on the roadside, in the yard, on the banks of the river, and can even be planted. Lack of knowledge and information about these medical plants makes people not know the efficacy of them. People nowadays do not know the benefits of the metabolic substances in these medicinal plants. The people also do not know how to process these medicinal plants, so that they can be used as medicines that are beneficial to health. Lack of information and documentation is one of the causes of this happening. The ethnobotanical experts explained that the body is more receptive to natural materials than synthetic

materials (Novaryatiin & University, 2011). The combination of several medicinal plants will provide a maximum impact for the treatment of diseases. The combination of several medicinal plant extracts was believe has effectiveness in healing diseases (Halimatussa'diah et al., 2014). Sudewi & Lolo (2016) reported that the combination of extracts of *Morinda citrifolia*, *Annona muricata*, *Piper crocatum* and *Moringa oleifera* was effective in preventing the pathogenicity of *E. coli* and *S. aureus*. Kholifah's (2018) also states that the combination of several medicinal plants has more optimal potential as certain antibacterials.

The results of the research above are used as a theoretical basis for combining bioherbs in certain formula, then exploring the ability of these plants in inhibiting the activity of *S. aureus*. Documentation and exploration was really needed for medicinal plants around, so the wider community, can know the efficacy and processing methods of these medicinal plants.

The results of interviews with the community stated that these medicinal plants were often used for post-partum medicine, for example, mix of Tambora leaves with turmeric can be used as herbal medicine. However, people do not yet know the right combination formula and the right way of processing plants for treatment. Based on the explanation above, it is necessary to explore the potential effect of the combination of these medicinal plants on the growth of *S. aureus* in certain formula, so the effectiveness of the 3:2:1 combination formula as an antibacterial is the findings in this paper..

RESEARCH METHODOLOGY

The research stages are (1) taking and handling medicinal plant samples, means taking or looking for as many medicinal plants in nature as samples (2) drying and making powders to become simplicia, this process takes several days until the medicinal plant samples are completely dry, then made it into a fine powder (3) simple extraction, means the extraction process is carried out without classifying or adjusting the chemical compounds contained in medicinal plants in detail (4) testing the extract with a 3:2:1 combination formula with a concentration level

of 30 %, 40%, 50%, 60%, 70%, and 80%, these tests are based on previous research and based on based on the habits used by the community in using the formula. This research was conducted at the Microbiology Laboratory of IAIN Palangka Raya, Central Kalimantan. The measurement of the inhibitory power was carried out between the clear zone between the *S. aureus* colonies and the outer side of the paper disc containing the extract on the Nutrien Agar (NA) plate medium.

Tools and Materials

This study used a beaker glass, test tube, measuring cup, 500 ml and 250 ml Erlenmeyer flask, petri dish, inoculation needle (hollow), iron stirrer, glass funnel, tweezers, magnetic stirrer, micropipette, autoclave, refrigerator, oven, pipette, laf, hot plate, digital balance, micropipette tip, scissors, cutter, spirit, blender, basin, tray, pan, gas stove, thermometer, scale, and evaporator.

The materials used include: Tambora leaves, Sembalit Angin, Turmeric, pure culture of *S. aureus*, NA medium, beef extract, becto peptone, aquadest, 70% alcohol, methanol, cotton, vaseline, filter paper, cover paper, gauze, paper labels, blotting paper, rubber bands, lysol, laundry soap, cotton buds, and aluminum foil. Preparation of extract combination formulation 3:2:1

The preparation of the extract combination formulation was designed in a 3:2:1 formula, on the Table 1.

Table 1. Preparation of Extract Combination Formulation 3:2:1

Kombinasi 3:2:1	Preparation
Control (+)	2 ml Chloramfenicol+198
0,1%	ml Aquades
Control (-)	Aquadest steril
30%	14 gram ekstrak kombinasi + 6 ml aquades
40%	12 gram ekstrak kombinasi + 8 ml aquades
50%	10 gram ekstrak kombinasi + 10 ml aquades
60%	8 gram ekstrak kombinasi + 12 ml aquades
70%	6 gram ekstrak kombinasi + 14 ml aquades
80%	4 gram ekstrak kombinasi + 16 ml aquades

Effectiveness Test of the 3:2:1 Combination Formula against *S. aureus*.

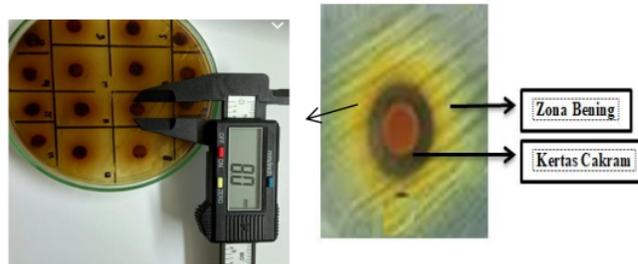
Liquid nutrients that have been planted with bacteria are incubated for 1x24 hours. After that, it was planted into NA media using a cotton bud as much as 1 ose in 10 petri dishes for 1x24 hours in order to adapt. A combination of 3:2:1 extract formula was made with a predetermined concentration level, and soaked the disc paper for 1 minute. After the incubation period of the media containing *S. aureus* was completed, the soaked disc paper was placed in the center of the media surface. After completion, all research units were incubated. *S. aureus* growth inhibition was observed during the incubation period.

Data analysis

The results of the observation of the inhibition zone formed were analyzed using the Anova statistical test and the Duncan 1% test.

RESULT AND DISCUSSION

¹³ The observation data was the width diameter of the inhibition zone measured from the outer side of the paper disc with the farthest colony. The clear zone is an indicator of inhibited growth of *S. aureus*. The following picture is the clear zone from the observations.



Gambar 1. Zona Hambat Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*

Mean of growth inhibition zone with the combination formula of 3:2:1 (Tabel 2).

Tabel 2. Recapitulation of DMRT 15 of the diameter of *S. aureus* growth inhibition at 24 hours, 48 hours, and 72 hours

Formulasi Kombinasi 3:2:1	Rerata Zona Hambat (mm)		
	24 hours	48 hours	72 hours
<i>Chloramfenicol</i> (+) 0,1%	0,96 b	1,11 b	0,62 ab
Aquades (-)	0 a	0 a	0 a
30% 14 gram combination extract + 6 ml aquades	2,56 d	2,59 c	3,26 c ⁹
40% 12 gram combination extract + 8 ml aquades	1,72 c	2,58 c	3,09 c
50% 10 gram combination extract + 10 ml aquades	0,70 b	1,03 b	1,01 ab
60% 8 gram combination extract + 12 ml aquades	0,71 b	1,15 b	0,99 ab
70% 6 gram combination extract + 14 ml aquades	0,88 b	1,32 b	1,58 b
80% 4 gram combination extract + 16 ml aquades	0,81 b	1,01 b	1,04 ab

¹² All data on the 3:2:1 combination were analyzed using ANOVA and followed by Duncan's 1% test to determine the optimal and

effective concentration in inhibiting the growth of *S. aureus*.

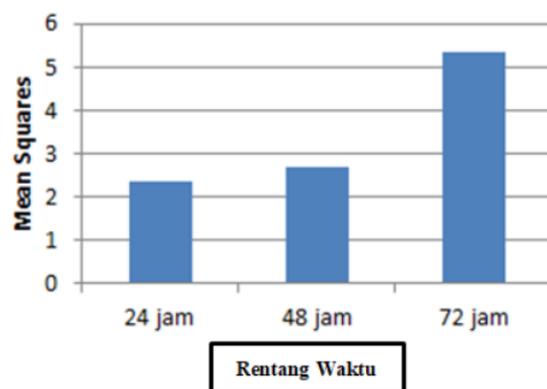


Figure 2. Mean Square 3:2:1 combination formula of *S. aureus*

Based on the data recapitulation, it can be seen that the results of the analysis of the research treatment had a significant effect on the growth of *S. aureus* with a significance of 1% during the entire incubation period. Furthermore, the optimal and effective extract concentration were displayed in Table 2..

Based on the results of Duncan's 1% test, the combination formula of P5, P6, P7, and P8 were not significantly different from P1, it was proven that the concentration had the same ability as 0.1% Chloramphenicol as the positive control of the study. However, these concentrations were significantly different when compared to P4 or concentrations of 40%, and P3 (30%). This indicates that the concentration of 30% is effective and optimum in inhibiting the growth of *S. aureus* in the 3:2:1 combination formula for 24 hours incubation. Observations were continued for an incubation period of 48 hours. (Table 2).

The results of Duncan's 1% test showed that the treatments P5 to P8 were not significantly different from the positive control (P1). This result proves that the concentration still has the same ability as 0.1% Chloramphenicol as a positive control of the study.

The effective and optimum concentration in inhibiting the growth of *S. aureus* during the 48-hour incubation period was 30% concentration. This shows that the effective and optimum concentration at 48 hours of incubation is almost the same as 24 hours of

incubation in the 3:2:1 combination formula. Furthermore, to confirm the data on the incubation period of 24 hours and 48 hours, observations were made at the incubation period of 72 hours (Table 2).

The treatments at P5, P6, and P8 were not significantly different from the positive control (P1). The Duncan 1% test results in the Table 4 show that those concentration still has the same ability. Based on the data from each incubation period, it proves that the 30% concentration was the most effective and optimum in inhibiting the growth of *S. aureus* using 3:2:1 combination formula.

Based on the data in Table 1, it can be seen that the concentration of 30% (P3) in the 3:2:1 combination formula is effective as an antibacterial agent for *S. aureus*. This is because the main composition in the 3:2:1 combination formula is 50% Tambora leaves. Tambora leaves are known containing secondary metabolites, namely flavonoids which are very effective in suppressing the growth of *S. aureus*.

The treatment level of 30% was the most effective concentration against the growth of *S. aureus*, supported by Duncan's test 1% which was interpreted as the effective concentration of P3 (30%). This is because P3 is significantly different from other concentrations. Tambora leaves have the ability to inhibit the growth of *S. aureus* which is stronger than Sembalit Angin leaves and Turmeric rhizome. This was proven because only in 30% concentration, it could be effective in inhibiting the growth of *S. aureus*.

In addition, the content of saponins and flavonoids in tambora leaves has antibacterial activity. This fact is in accordance with study by Hidayati & Harjon (2017) which explained that tambora leaf extract has the potential as an antibacterial, both gram-positive and gram-negative bacteria. Research by Safani et al. (2019) also mentions that the main compounds contained in Tambora leaves are flavonoids and alkaloids that have the potential effect to inhibit the growth of *S. aureus*.

The level of effectiveness and the optimum concentration of the 3:2:1 combination formula at 48 hours of observation was a concentration of 30% (P3). The test results showed that the concentration of 30% was still able to survive the incubation period of 48 hours as the most effective and optimum concentration. The content of tambora leaves as the main component in the 3:2:1 combination formula is still able to survive and still active at 48 hours. Some of the content of tambora leaves are flavonoids, alkaloids, essential oils, coumarins, and others. The content of these chemical compounds makes tambora leaves effective to

CONCLUSION

1. The results of the analysis showed that the 3:2:1 combination formula was able to inhibit the growth of *S. aureus*.
2. The 3:2:1 combination formulation with a concentration of 30% is effective and can be used to inhibit the growth of *S. aureus*.

DAFTAR PUSTAKA

- Ardhany, S. D., & Novaryatiin, S. (2019). Pendampingan Pembuatan Krim Bawang Dayak Khas Kalteng Sebagai Anti Acne di SMK Farmasi Muhammadiyah Palangka Raya. *PengabdianMu: Jurnal Ilmiah Pengabdian Kepada Masyarakat*, 4(2), 111–116.
- Garvita, R. V. (2015). Pemanfaatan Tumbuhan Obat Secara Tradisional untuk Memperlancar Persalinan oleh Suku Dayak Meratus di Kalimantan Selatan. *Warta Kebun Raya*, 13(2), 51–58.
- Halimatussa'diah, F., Fitriani, V. Y., & Rijai, L. (2014). Aktifitas Antioksidan Kombinasi Daun Cempedar (*Artocarpus champedan*) dan Daun Bandotan

use as an antibacterial. This is in accordance with two previous studies (Sugara et al., 2016; Hayati et al., 2020) that the content of tambora leaves has the potential role as an antibacterial.

The Duncan 1% test results showed that the concentration of 30% (P3) was effective and optimum in inhibiting the growth of *S. aureus* during the 72-hour incubation period. This proves that the concentration of 30% (P3) is still able to survive until the third day. This result is also supported by the larger mean square value at the 72 hour incubation period. Flavonoids in tambora leaves can damage bacterial cell walls to coagulate protoplasm, so the most effective concentration of 30% (P3) is still able to last up to an incubation period of 72 hours (Iqlima et al., 2017).

The concentration of 30% was concluded as the effective concentration in inhibiting the growth of *S. aureus* in the 3:2:1 combination formula, the lowest concentration was able to maximally inhibit the growth of *S. aureus*. The effectiveness of the growth inhibition of this 3:2:1 combination formula as an antibacteria of *S. aureus* becomes the finding of this study..

(*Ageratum conyzoides*). 2(5), 248–251.

- Hayati, D. D., Isa, M., & Harris, A. (2020). 12. Antibacterial Activity of Ethanol Extract of Siamih Leaf (*Ageratum conyzoides*) on *Staphylococcus aureus* bacteria. *Jurnal Medika Veterinaria*, 14(1), 88–98.
- Hidayati, & Harjono. (2017). Uji Aktivitas Antibakteri Krim Ekstrak Daun Babadotan (*Ageratum conyzoides*. L) dalam Pelarut Etanol. *Jurnal MIPA*, 40(1), 33–38.
- Iqlima, D., Ardiningsih, P., & Wibowo, M. A. (2017). Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Endofit B2D dari Batang Tanaman Yakon (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H. Rob.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella thypimurium*. *Jkk*, 7(1), 36–43.
- Jalil, M. (2019). Keanekaragaman dan Asas Manfaat Keluarga Zingiberaceae di Dusun Jamean Kabupaten Grobogan. *Life Science*, 8(1), 75–85.
- Jumiati, J., Ratnasari, D., & Sudianto, A.

- (2019). Pengaruh Penggunaan Ekstrak Kunyit (*Curcuma domestica*) Terhadap Mutu Kerupuk Cumi (*Loligo* sp.). *Jurnal Ilmiah Perikanan Dan Kelautan*, 11(1), 55.
- Kholifah, N. (2018). Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Etanol Rumpun Bambu (*Lophatherum gracile* Brongn) dan Rimpang Kunyit Putih (*Curcuma zedoaria* (Berg.) Roscoe) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. 1-26.
- Mas'udah, E. K. (2017). Pengaruh Ekstrak Daun Turi Merah Terhadap Penurunan Kadar Tnf- α , Il-1 β dan Jumlah Koloni Bakteri Pada Ovarium *Mus musculus* Nifas Yang Diinokulasi *Staphylococcus aureus*. 1-95.
- Novaryatiin, N. Q. R. H. S., & Universitas. (2011). Peningkatan Pengetahuan dan Keterampilan Ibu Rumah Tangga dalam Pengolahan Tanaman Obat Keluarga (Toga) Sebagai Ramuan Obat Tradisional Increased Knowledge and Skills of Housewives in Processing Family Medicinal Plants (Toga) As Traditional Medicines.
- Safani, E. E., Kunharjito, W. A. C., Lestari, A., & Purnama, E. R. (2019). Potensi Ekstrak Daun Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) Sebagai Spray Untuk Pemulihan Luka Mencit Diabetik yang Terinfeksi *Staphylococcus aureus*. *Biotropic: The Journal of Tropical Biology*, 3(1), 68-78.
- Saputra, H., Dermawan, Y., & Wati, S. L. (2019). Sabun Cair Berbahan Dasar Olein Kelapa Sawit dengan Penambahan Ekstrak Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.). *Jurnal Citra Widya Edukasi*, 11(3), 223-230.
- Sudewi, S., & Lolo, W. A. (2016). Kombinasi Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) dan Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dalam Menghambat Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Kartika Jurnal Ilmiah Farmasi*, 4(2), 36-42.
- Sugara, T. H., Irawadi, T. T., Suprpto, I. H., & Hanafi, M. (2016). Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat Daun Tanaman Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) Anti Bacteria Activity of Ethyl Acetate Fraction Bandotan leaf (*Ageratum conyzoides* L.). *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 1(1), 88-96.

Antibacterial Effectiveness of Methanol Extract Combination Formula 3:2:1 of Tambora Leaf (*Ageratum conyzoides*), Sembalit Angin Leaf

ORIGINALITY REPORT

10%

SIMILARITY INDEX

7%

INTERNET SOURCES

5%

PUBLICATIONS

1%

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	www.semanticscholar.org Internet Source	1%
2	repository.ub.ac.id Internet Source	1%
3	ojs3.unpatti.ac.id Internet Source	1%
4	ijisrt.com Internet Source	1%
5	Barrento, Sara, António Marques, Bárbara Teixeira, Patrícia Anacleto, Paulo Vaz-Pires, and Maria Leonor Nunes. "Effect of Season on the Chemical Composition and Nutritional Quality of the Edible Crab <i>Cancer pagurus</i> ", <i>Journal of Agricultural and Food Chemistry</i> , 2009. Publication	1%
6	digilib.uinsby.ac.id Internet Source	1%

7	www.ncbi.nlm.nih.gov Internet Source	1 %
8	Submitted to Kolej Mara Banting Student Paper	<1 %
9	ejournal.umm.ac.id Internet Source	<1 %
10	Barbara Gunawan. "Pendampingan Pengolahan dan Pengemasan Tanaman Obat Keluarga di Dusun Kemesu Kulon Progo Daerah Istimewa Yogyakarta", PengabdianMu: Jurnal Ilmiah Pengabdian kepada Masyarakat, 2020 Publication	<1 %
11	Ratih Anggara, - Munawar, - Elfita. "ANTIBACTERIAL ACTIVITY STUDY OF ACTIVE FRACTION FROM CHICK WEED PLANTS (Ageratum Conyzoides L.) AGAINST Bacillus Subtilis AND Vibrio Cholerae", BIOVALENTIA: Biological Research Journal, 2017 Publication	<1 %
12	farmasi.fmipa.untad.ac.id Internet Source	<1 %
13	journal.ipm2kpe.or.id Internet Source	<1 %
14	E R Nugraheni, G R Adriani, H Munawaroh. "Antibacterial Activity of Ethyl Acetate the	<1 %

Extract of Noni Fruit (L.) Against Bacterial Spoilage in Fish ", IOP Conference Series: Materials Science and Engineering, 2017

Publication

15

María Constanza von der Pahlen, Elizabeth Grinspoon. "Promoting Traditional Uses of Medicinal Plants as Efforts to Achieve Cultural and Ecological Sustainability", Journal of Sustainable Forestry, 2002

Publication

<1 %

16

Bambang Leo Handoko, Edo Kurniawan. "Analysis of Impact of Competency, Professionalism, and Audit Deadline on Remote Audit Effectiveness", Proceedings of the 2022 6th International Conference on E-Business and Internet, 2022

Publication

<1 %

17

Larasati Puspita Saridewi, Nur Prihatiningsih, Heru Adi Djatmiko. "CHARACTERIZATION OF EGGPLANT ENDOPHYTE BACTERIA AND RHIZOBACTERIA AS WELL AS THEIR ANTAGONISTIC ABILITY AGAINST *Ralstonia solanacearum*", Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan Tropika, 2020

Publication

<1 %

18

journal.wima.ac.id
Internet Source

<1 %

19

Iwona Szot, Tomasz Lipa, Alina Basak. "The influence of Atonik SL, Betokson Super 050 SL and InsolCa on yielding of strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) cv. 'Senga Sengana' and 'Kent'", *Acta Agrobotanica*, 2014
Publication

<1 %

Exclude quotes On

Exclude matches Off

Exclude bibliography On

Efektivitas Antibakteri Formulasi Kombinasi 3:2:1 Ekstrak Metanol Daun Tambora (*Ageratum conyzoides*), Daun Sembalit Angin (*Mussaenda frondosa* L), Rimpang Kunyit (*Curcuma longa* L) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*

Abstract: The research is a quantitative descriptive study using laboratory experimental methods. This research was conducted to analyze the combination formulation of Tambora leaves, Sembalit Angin leaves, and turmeric rhizomes with a ratio of 3: 2: 1 and determine its effectiveness in-inhibiting the-growth of *Staphylococcus aureus* bacteria in vitro. The growth of *Staphylococcus aureus* bacteria is known by measuring the width of the-inhibition zone from the outer side of the paper disc which has been immersed in methanol extract of Tambora leaves, Sembalit Angin leaves, and turmeric rhizomes in nutrient agar medium. Measurements using calipers. Measurements and observations were made during the incubation period of 24 hours, 48 hours, and 72 hours. The data obtained from the effect of a combination formulation of 3:2:1 Tambora leaves, Sembalit Angin leaves, and turmeric rhizomes on the growth of *Staphylococcus aureus* were analyzed by Anava statistical test, and Duncan 1% test. The results found that the combination formulation of 3:2:1 bioherbal methanol extract of Tambora leaves, Sembalit Angin leaves, and Turmeric rhizomes had a-significant effect on the growth of *Staphylococcus aureus* at 1% significance, as evidenced by the sig value. 0.00 <0.01, so the 3: 2: 1 combination formulation can be recommended as the most effective combination extract formulation in inhibiting the growth of *Staphylococcus aureus*.

Keyword : Combination Formulation. *Ageratum conyzoides*, *Mussaenda frondosa*. *Curcuma longa*. *Staphylococcus aureus*

PENDAHULUAN

Indonesia memiliki biodiversitas yang cukup tinggi, dibuktikan dengan kekayaan alam hayati yang banyak, contohnya adalah tumbuhan obat. Salah satu penyebab hal tersebut adalah iklim tropis dan tanah gembur yang ada di Indonesia (Jalil, 2019). Masyarakat Indonesia sering memanfaatkan tumbuhan obat sebagai sandang, pangan, papan, bahkan tidak sedikit yang menggunakannya sebagai bahan untuk pengobatan. Contoh dari pemanfaatan tumbuhan obat adalah untuk pengobatan infeksi bakteri. Indonesia memiliki hutan yang di dalamnya banyak terdapat tumbuhan yang berkhasiat obat, contohnya hutan di Kalimantan Tengah.

Kalimantan Tengah memiliki kawasan hutan yang kaya tumbuhan berkhasiat obat (Ardhany & Novaryati, 2019). Beberapa tanaman obat tersebut seperti Tambora, Sembalit Angin, dan Kunyit. Kandung zat metabolik dalam Daun Tambora diantaranya flavonoid dan saponin yang berpotensi sebagai antibakteri (Saputra et al., 2019). Daun Sembalit Angin dapat menyembuhkan luka dan sebagai antibakteri *Staphylococcus aureus* (Garvita, 2015). Rimpang Kunyit termasuk tumbuhan obat yang bisa sebagai antibakteri, hal itu karena *curcuminoid* dan minyak atsiri

yang terkandung didalamnya (Jumiati et al., 2019). Bakteri *S.aureus* merupakan salah satu penyebab infeksi pada saluran reproduksi pasca nifas (Mas'udah, 2017)

Tumbuhan obat seperti Tambora, Sembalit Angin, dan Kunyit sangat mudah ditemukan, contohnya seperti di pinggir jalan, di halaman rumah, di tepian sungai, bahkan bisa ditanam. Pengetahuan dan informasi yang kurang membuat banyak masyarakat yang tidak menyadari khasiat dari tumbuhan obat tersebut. Generasi muda seperti sekarang ini juga banyak yang tidak mengetahui kegunaan dari kandungan yang ada pada tumbuhan obat tersebut. Sebagian besar masyarakat tidak mengetahui cara pengolahan tumbuhan obat tersebut, sehingga bisa dijadikan obat yang bermanfaat bagi kesehatan. Informasi dan dokumentasi yang kurang menjadi salah satu penyebab hal itu terjadi. Para ahli melalui penelitian etnobotani menyebutkan bahwa tubuh lebih mudah menerima bahan-bahan alam dibandingkan bahan-bahan sintetik (Novaryati & Universitas, 2011).

Kombinasi dari beberapa tumbuhan obat akan memberikan dampak yang lebih maksimal untuk pengobatan penyakit. Kombinasi dari beberapa ekstrak tumbuhan obat diyakini para ahli akan lebih efektif dalam penyembuhan

Commented [a1]: TUJUAN:
1. ANALISIS KOMBINASI
2. EFEKTIVITAS

penyakit (Halimatussa'diah et al., 2014). Sudewi & Lolo (2016) melaporkan kombinasi dari ekstrak *Morinda citrifolia* dan *Annona muricata*, *Piper crocatum* dan *Moringa oleifera* ampuh mencegah patogenitas *E.coli* dan *S.aureus*. Penelitian Kholifah (2018) juga menyebutkan bahwa kombinasi beberapa tanaman obat lebih optimal potensinya sebagai antibakteri tertentu.

Hasil penelitian di atas dijadikan sebagai landasan teoritik untuk melakukan pengkombinasian bioherbal pada formulasi tertentu, dengan tujuan untuk mengetahui kemampuan dari tumbuhan-tumbuhan tersebut dalam menghambat aktivitas *Staphylococcus aureus*. Dokumentasi dan eksplorasi sangat perlu dilakukan terhadap tumbuhan-tumbuhan obat yang ada di sekitar, agar masyarakat luas khususnya generasi sekarang bisa mengetahui khasiat dan cara pengolahan dari tumbuhan obat tersebut. Wawancara dengan masyarakat bahwa tanaman obat tersebut sering digunakan untuk obat pasca nifas, contohnya daun Tambora dicampur dengan Kunyit untuk dijadikan jamu. Namun, masyarakat belum mengetahui formulasi kombinasi dan cara pengolahan tanaman yang tepat untuk pengobatan.

Berdasarkan penjelasan di atas perlu dilakukan eksplorasi tentang potensi kombinasi tanaman obat tersebut terhadap pertumbuhan *S.aureus* pada formulasi tertentu, sehingga efektifitas formulasi kombinasi 3:2:1 sebagai antibakteri menjadi temuan dalam tulisan ini.

METODE PENELITIAN

Tahapan penelitian yaitu (1) pengambilan dan penanganan sampel tanaman obat, (2) pengeringan dan pembuatan serbuk sampai menjadi simplisia, (3) ekstraksi secara sederhana, (4) pengujian ekstrak dengan formulasi kombinasi 3:2:1 dengan taraf konsentrasi 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, dan 80%. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi IAIN Palangka Raya, Kalimantan Tengah. Pengukuran daya hambat dilakukan antara dari zona bening antara koloni *S.aureus* dengan sisi terluar *paper disc* yang mengandung ekstrak pada medium lempeng Nutrien Agar (NA).

Alat dan Bahan

Penelitian ini menggunakan beaker glass, tabung reaksi, gelas ukur, labu erlenmeyer 500 ml, dan 250 ml, cawan petri, jarum inokulasi (berkolong), pengaduk besi, corong kaca, pinset, magnetik stirer, mikropipet, autoklaf, kulkas, open, pipet, laf, hot plate, neraca digital, tip mikropipet, gunting, cutter, spritus, blender, baskom, nampan, panci, kompor gas, termometer, timbangan, dan *evaporator*.

Bahan yang digunakan antara lain: daun Tambora, Sembalit Angin, Kunyit, kultur murni *S. aureus*, medium NA, *beef extract*, *becto pepton*, *aquadest*, alkohol 70%, metanol, kapas, vaselin, kertas saring, kertas sampul, kasa, kertas label, kertas pengisap, karet gelang, *lysol*, sabun cuci, *cotton buds*, dan aluminium foil.

Preparasi Formulasi Kombinasi Ekstrak 3:2:1

Preparasi formulasi kombinasi ekstrak dirancang dalam formula 3:2:1, dengan rancangan konsentrasi 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, dan 80% dijadikan sebagai taraf konsentrasi dalam penelitian ini. *Cloramfenicol* sebagai kontrol (+) dan aquades sebagai kontrol (-) penelitian.

Uji Efektifitas Formulasi Kombinasi 3:2:1 terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

Nutrien cair yang sudah ditanam bakteri diinkubasi selama 1x24 jam. Setelah itu, ditanam ke medium NA menggunakan cotton bud sebanyak 1 ose pada 10 cawan petri selama 1x24 jam agar dapat beradaptasi. Formulasi kombinasi 3:2:1 ekstrak disiapkan dengan taraf konsentrasi yang telah ditentukan, dan merendam kertas cakram selama 1 menit. Setelah masa inkubasi medium yang berisi *Staphylococcus aureus* selesai, kertas cakram yang sudah direndam diletakkan di bagian tengah permukaan medium. Setelah selesai, semua unit penelitian diinkubasikan. Penghambatan pertumbuhan *S.aureus* diamati pada seluruh masa inkubasi.

Analisis Data

Hasil pengamatan zona hambat yang terbentuk dianalisis menggunakan uji statistik *Anava* dan uji Duncan 1%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Data pengamatan berupa diameter lebar zona hambat, yang diukur dari sisi terluar

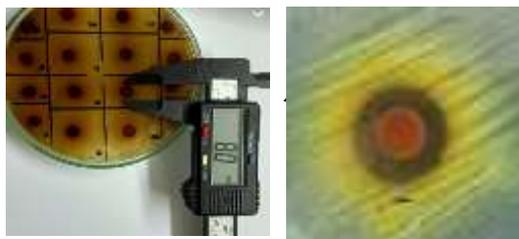
Commented [a3]: Ini perlu dicabarkan dalam bentuk tabel formula sehingga mudah dipahami

Commented [a2]: Thapan Ini dirinci lagi sehingga ketika peneliti lain ingin menguji ulang, bisa mereka lakukan dengan benar.

Commented [a4]: Karena tujuan penelitiannya ada dua, maka dihasil dan pembahasan ini juga dua poinnya yaitu 1. analisis formulasi kombinasi. 2. Efektifitasnya

Atau boleh digabung, saja tapi harus menguraikan 2 tujuan penelitian ini

paper disc dengan koloni terjauh. Zona bening merupakan indikator daya hambat pertumbuhan *S.aureus*. berikut gambar zona bening dari hasil pengamatan.



Gambar 1. Zona Hambat Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*

Commented [a5]: Gambar perlu diberi keterangan, Misal: a, menunjukkan zona bening, b, kertas cakram dll

Data rerata zona hambat pertumbuhan dengan formulasi kombinasi 3:2:1 (Tabel 1).

Tabel 1. Rekapitulasi Diameter Penghambatan Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*

Perlakuan Kombinasi	Rerata Zona Hambat (mm)		
	24 hours	48 hours	72 hours
<i>Chloramfenicol</i> (+)	0,96	1,11	0,62
Aquades (-)	0	0	0
30%	2,56	2,59	3,26
40%	1,72	2,58	3,09
50%	0,70	1,03	1,01
60%	0,71	1,15	0,99
70%	0,88	1,32	1,58
80%	0,81	1,01	1,04

Commented [a6]: Isi dari perlakuan kombinasi diganti, sesuai dengan tabel formulasi kombinasi di bagian metode

Seluruh data pada formulasi kombinasi 3:2:1 dianalisis menggunakan ANAVA dan dilanjutkan dengan uji Duncan 1% untuk

mengetahui konsentrasi optimal dan efektif dalam menghambat pertumbuhan *S.aureus*.

Tabel 2. Rekapitulasi Hasil Analisis Varians Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*

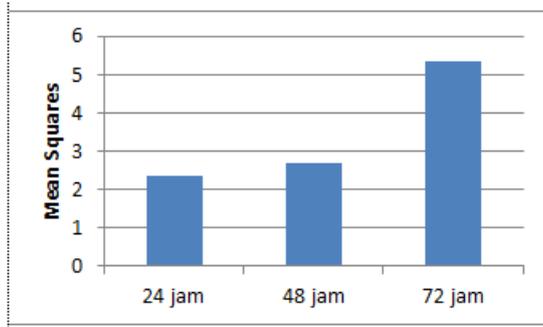
	24 jam		48 jam		72 jam	
	SS	Sig..	SS	Sig..	SS	Sig..
Between.. Groups	16,572	,000	20,719	,000	37,297	,000
Within Groups.	2,801		4,179		8,039	
Total	19,373		24,897		45,335	

SS: Sum of Square

Commented [a7]: Tidak perlu ditampilkan/dimuat (didelet saja)

Data hasil analisis statistik ANAVA di atas didukung dengan

diagram perbandingan *mean square* (Gambar 2).



Gambar 2 Mean Square Formula Kombinasi 3:2:1 *Staphylococcus aureus*

Commented [a8]: Gamabr harus dilengkapi keterangan sumbu x dan Y nya, (Intinya orang yg baca paham maksud diagram batang itu)

Berdasarkan rekapitulasi data, dapat diketahui bahwa hasil analisis perlakuan penelitian berpengaruh signifikan terhadap pertumbuhan *S.aureus* pada signifikansi 1%

pada seluruh waktu inkubasi. Selanjutnya, konsentrasi optimal dan efektif ekstrak (Tabel 3).

Tabel 3. Hasil Uji Duncan 1% Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Pada 24 Jam

Formulasi Kombinasi 3:2:1	N	Notasi Subset for alpha = 0.01			
		1	2	3	4
P2	4	a			
P5	4		b		
P6	4		b		
P8	4		b		
P7	4		b		
P1	4		b		
P4	4			c	
P3	4				d
Sig..		1,000	,346	1,000	1,000

Commented [a9]: Hasil tabel 3 ini digabungkan dengan tabel 1. Caranya Tempatkan notasi dibelakang angka diameter daya hambat sesuai perlakuan kombinasi dan jam

Berdasarkan hasil dari uji Duncan 1%, formulasi kombinasi P5, P6, P7, dan P8 tidak berbeda signifikan dengan P1, hal itu membuktikan konsentrasi tersebut memiliki kemampuan yang sama dengan *Chloramfenicol* 0.1% sebagai kontrol positif penelitian. Tetapi konsentrasi tersebut berbeda signifikan jika

dibandingkan dengan P4 atau konsentrasi 40%, dan P3 (30%). Hal tersebut menunjukkan bahwa konsentrasi 30% efektif dan optimum dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* pada formulasi kombinasi 3:2:1 masa inkubasi 24 jam. Pengamatan dilanjutkan pada masa inkubasi 48 jam (Tabel 4).

Tabel 4. Hasil Uji Duncan 1% Zona Hambat Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Pada 48 Jam

Formulasi Kombinasi 3:2:1	N	Notasi Subset for alpha = 0.01		
		1	2	3

Commented [a10]: Hasil tabel 4 ini digabungkan dengan tabel 1. Caranya Tempatkan notasi dibelakang angka diameter daya hambat sesuai perlakuan kombinasi dan jam

P2	4	a		
P8	4		b	
P5	4		b	
P1	4		b	
P6.	4		b	
P7	4		b	
P4.	4			c
P3.	4			c
Sig.		1,000	,357	,960

Hasil dari uji Duncan 1% menunjukkan bahwa perlakuan P5, sampai dengan P8 tidak berbeda signifikan dengan kontrol positif (P1), hal itu membuktikan bahwa konsentrasi tersebut masih memiliki kemampuan yang sama dengan *Chloramfenicol* 0.1% selaku kontrol positif penelitian. Konsentrasi efektif dan optimum dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* pada masa inkubasi 48

jam adalah konsentrasi 30%. Hal itu menunjukkan bahwa konsentrasi efektif dan optimum pada masa inkubasi 48 jam hampir sama dengan masa inkubasi 24 pada formulasi kombinasi 3:2:1. Selanjutnya, untuk mempertegas data pada masa inkubasi 24 jam dan 48, dilakukan pengamatan pada masa inkubasi 72 jam (Tabel 5).

Tabel 5. Hasil Uji Duncan 1% Zona Hambat Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Kombinasi 3:2:1 Pada 72 Jam

Formulasi Kombinasi 3:2:1	N	Notasi Subset for alpha = 0.01		
		1	2	3
P2	4	a		
P1	4	a	b	
P6	4	a	b	
P5	4	a	b	
P8	4	a	b	
P7	4		b	
P4	4			c
P3	4			c
Sig.		1,000	,357	,960

Perlakuan pada P5, P6, dan P8 tidak berbeda signifikan dengan kontrol positif (P1). Hasil uji Duncan 1% pada tabel di atas menunjukkan interpretasi data bahwa pada konsentrasi tersebut tetap memiliki kemampuan yang sama. Berdasarkan data dari masing-masing masa inkubasi di atas, membuktikan bahwa konsentrasi 30% efektif dan optimum menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* pada formulasi kombinasi 3:2:1.

Berdasarkan data di atas, dapat diketahui konsentrasi 30% (P3) pada formulasi kombinasi 3:2:1 efektif sebagai zat antibakteri *Staphylococcus aureus*. Hal itu disebabkan komposisi utama pada formulasi kombinasi 3:2:1 adalah 50% daun Tambora. Daun Tambora dikenal memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yaitu flavonoid yang sangat ampuh menekan pertumbuhan *S.aureus*.

Taraf perlakuan 30% menjadi konsentrasi yang paling efektif terhadap pertumbuhan *S.aureus*, didukung dengan uji Duncan 1% yang diinterpretasikan P3 (30%) adalah konsentrasi yang efektif. Hal itu karena P3 berbeda sangat nyata dengan konsentrasi yang lain. Daun Tambora memiliki kemampuan yang lebih kuat dalam menghambat pertumbuhan *S.aureus* dibandingkan daun Sembalit Angin dan rimpang Kunyit. Hal itu dibuktikan, karena hanya dengan konsentrasi 30%, sudah efektif dalam menghambat pertumbuhan *S.aureus*. Kandungan saponin dan flavonoid pada daun Tambora memiliki aktivitas antibakteri. Fakta tersebut sesuai dengan penelitian (Hidayati & Harjono, 2017) bahwa ekstrak daun Tambora potensial sebagai antibakteri, baik bakteri gram positif dan negatif. Penelitian (Safari et al., 2019) juga menyebutkan bahwa senyawa utama yang

Commented [a11]: Hasil tabel 5 ini digabungkan dengan tabel 1. Caranya Tempatkan notasi dibelakang angka diameter daya hambat sesuai perlakuan kombinasi dan jam

terkandung dalam daun Tambora yaitu flavonoid dan alkaloid berpotensi dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus*.

Taraf konsentrasi efektif dan optimum formulasi kombinasi 3:2:1 pada waktu pengamatan 48 jam adalah konsentrasi 30% (P3). Hasil uji tersebut menunjukkan bahwa konsentrasi 30% masih mampu bertahan pada masa inkubasi 48 jam sebagai konsentrasi yang paling efektif dan optimum. Kandungan daun Tambora sebagai komponen utama pada formulasi 3:2:1 masih mampu bertahan dan aktif pada masa 48 jam. Beberapa kandungan daun Tambora tersebut adalah flavonoid, alkaloid, minyak atsiri, kumarin, dan yang lainnya. Kandungan senyawa-senyawa kimia tersebut yang membuat daun Tambora kuat dan bisa digunakan sebagai antibakteri. Hal itu sesuai dengan penelitian (Sugara et al., 2016) bahwa kandungan daun Tambora berpotensi sebagai antibakteri. Demikian pula hasil penelitian yang sama potensi daun Tambora sebagai antibakteri, salah satunya bakteri *S. aureus* (Hayati et al., 2020).

Hasil dari uji Duncan 1% menunjukkan bahwa konsentrasi 30% (P3) efektif dan optimum dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus* pada masa inkubasi 72 jam. Hal itu membuktikan bahwa konsentrasi 30% (P3) masih mampu bertahan sampai hari ketiga. Hasil tersebut juga didukung dengan nilai *mean square* pada masa inkubasi 72 jam lebih besar. Flavonoid dalam daun tambora dapat merusak dinding sel bakteri sampai mengkoagulasi protoplasma, sehingga konsentrasi yang paling efektif yaitu 30% (P3) masih mampu bertahan sampai masa inkubasi 72 jam (Iqlima et al., 2017).

Konsentrasi 30% disimpulkan sebagai konsentrasi efektif dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus* pada formulasi kombinasi 3:2:1, konsentrasi terendah sudah mampu menghambat pertumbuhan *S. aureus* secara maksimal. Efektifitas kemampuan daya hambat pertumbuhan pada formulasi kombinasi 3:2:1 ini sebagai antibakteri *S. aureus* menjadi temuan penelitian ini.

KESIMPULAN

Formulasi kombinasi 3:2:1 efektif dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus* dengan konsentrasi efektif pada taraf 30%, sehingga temuan ini dapat direkomendasikan sebagai

formulasi kombinasi antibakteri *Staphylococcus aureus*.

DAFTAR PUSTAKA

- Ardhany, S. D., & Novaryatiin, S. (2019). Pendampingan Pembuatan Krim Bawang Dayak Khas Kalteng Sebagai Anti Acne di SMK Farmasi Muhammadiyah Palangka Raya. *PengabdianMu: Jurnal Ilmiah Pengabdian Kepada Masyarakat*, 4(2), 111–116.
- Garvita, R. V. (2015). Pemanfaatan Tumbuhan Obat Secara Tradisional untuk Memperlancar Persalinan oleh Suku Dayak Meratus di Kalimantan Selatan. *Warta Kebun Raya*, 13(2), 51–58.
- Halimatussa'diah, F., Fitriani, V. Y., & Rijai, L. (2014). Aktifitas Antioksidan Kombinasi Daun Cempedar (*Artocarpus champedan*) dan Daun Bandotan (*Ageratum conyzoides*). 2(5), 248–251.
- Hayati, D. D., Isa, M., & Harris, A. (2020). 12. Antibacterial Activity of Ethanol Extract of Siamih Leaf (*Ageratum conyzoides*) on *Staphylococcus aureus* bacteria. *Jurnal Medika Veterinaria*, 14(1), 88–98.
- Hidayati, & Harjono. (2017). Uji Aktivitas Antibakteri Krim Ekstrak Daun Babadotan (*Ageratum conyzoides*. L) dalam Pelarut Etanol. *Jurnal MIPA*, 40(1), 33–38.
- Iqlima, D., Ardiningsih, P., & Wibowo, M. A. (2017). Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Endofit B2D dari Batang Tanaman Yakon (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H. Rob.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella thypimurium*. *Jkk*, 7(1), 36–43.
- Jalil, M. (2019). Keanekaragaman dan Asas Manfaat Keluarga Zingiberaceae di Dusun Jamean Kabupaten Grobogan. *Life Science*, 8(1), 75–85.
- Jumiati, J., Ratnasari, D., & Sudianto, A. (2019). Pengaruh Penggunaan Ekstrak Kunyit (*Curcuma domestica*) Terhadap Mutu Kerupuk Cumi (*Loligo* sp.). *Jurnal Ilmiah Perikanan Dan Kelautan*, 11(1), 55.

Commented [a12]: Kesimpulan merupakan jawaban tujuan penelitian, maka sesuaikan dengan tujuan yang ditetapkan

- Kholifah, N. (2018). Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Etanol Rumpun Bambu (*Lophatherum gracile* Brongn) dan Rimpang Kunyit Putih (*Curcuma zedoaria* (Berg.) Roscoe) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. 1-26.
- Mas'udah, E. K. (2017). Pengaruh Ekstrak Daun Turi Merah Terhadap Penurunan Kadar Tnf- α , Il-1 β dan Jumlah Koloni Bakteri Pada Ovarium *Mus musculus* Nifas Yang Diinokulasi *Staphylococcus aureus*. 1-95.
- Novaryatiin, N. Q. R. H. S., & Universitas. (2011). Peningkatan Pengetahuan dan Keterampilan Ibu Rumah Tangga dalam Pengolahan Tanaman Obat Keluarga (Toga) Sebagai Ramuan Obat Tradisional Increased Knowledge and Skills of Housewives in Processing Family Medicinal Plants (Toga) As Traditional Medicines.
- Safani, E. E., Kunharjito, W. A. C., Lestari, A., & Purnama, E. R. (2019). Potensi Ekstrak Daun Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) Sebagai Spray Untuk Pemulihan Luka Mencit Diabetik yang Terinfeksi *Staphylococcus aureus*. *Biotropic : The Journal of Tropical Biology*, 3(1), 68-78.
- Saputra, H., Dermawan, Y., & Wati, S. L. (2019). Sabun Cair Berbahan Dasar Olein Kelapa Sawit dengan Penambahan Ekstrak Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.). *Jurnal Citra Widya Edukasi*, 11(3), 223-230.
- Sudewi, S., & Lolo, W. A. (2016). Kombinasi Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) dan Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dalam Menghambat Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Kartika Jurnal Ilmiah Farmasi*, 4(2), 36-42.
- Sugara, T. H., Irawadi, T. T., Suprpto, I. H., & Hanafi, M. (2016). Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat Daun Tanaman Bandotan (*Ageratum conyzoides* L) Anti Bacteria Activity of Ethyl Acetate Fraction Bandotan leaf (*Ageratum conyzoides* L). *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 1(1), 88-96.

Efektivitas Antibakteri Formulasi Kombinasi 3:2:1 Ekstrak Metanol Daun Tambora (*Ageratum conyzoides*), Daun Sembalit Angin (*Mussaenda frondosa* L), Rimpang Kunyit (*Curcuma longa* L) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*

Commented [A1]: terhadap

Abstract: The research is a quantitative descriptive study using laboratory experimental methods. This research was conducted to analyze the combination formulation of Tambora leaves, Sembalit Angin leaves, and turmeric rhizomes with a ratio of 3: 2: 1 and determine its effectiveness in-inhibiting the-growth of *Staphylococcus aureus* bacteria in vitro. The growth of *Staphylococcus aureus* bacteria is known by measuring the width of the-inhibition zone from the outer side of the paper disc which has been immersed in methanol extract of Tambora leaves, Sembalit Angin leaves, and turmeric rhizomes in nutrient agar medium. Measurements using calipers. Measurements and observations were made during the incubation period of 24 hours, 48 hours, and 72 hours. The data obtained from the effect of a combination formulation of 3:2:1 Tambora leaves, Sembalit Angin leaves, and turmeric rhizomes on the growth of *Staphylococcus aureus* were analyzed by Anava statistical test, and Duncan 1% test. The results found that the combination formulation of 3:2:1 bioherbal methanol extract of Tambora leaves, Sembalit Angin leaves, and Turmeric rhizomes had a-significant effect on the growth of *Staphylococcus aureus* at 1% significance, as evidenced by the sig value. $0.00 < 0.01$, so the 3: 2: 1 combination formulation can be recommended as the most effective combination extract formulation in inhibiting the growth of *Staphylococcus aureus*.

Keyword : **Combination Formulation**, *Ageratum conyzoides*, *Mussaenda frondosa*, *Curcuma longa*, *Staphylococcus aureus*

Commented [A2]:

Commented [A3]: miringkan

PENDAHULUAN

Indonesia memiliki biodiversitas yang cukup tinggi, dibuktikan dengan kekayaan alam hayati yang banyak, contohnya adalah tumbuhan obat. Salah satu penyebab hal tersebut adalah iklim tropis dan tanah gembur yang ada di Indonesia (Jalil, 2019). Masyarakat Indonesia sering memanfaatkan tumbuhan obat sebagai sandang, pangan, papan, bahkan tidak sedikit yang menggunakannya sebagai bahan untuk pengobatan. Contoh dari pemanfaatan tumbuhan obat adalah untuk pengobatan infeksi bakteri. Indonesia memiliki hutan yang di dalamnya banyak terdapat tumbuhan yang berkhasiat obat, contohnya hutan di Kalimantan Tengah.

Kalimantan Tengah memiliki kawasan hutan yang kaya tumbuhan berkhasiat obat (Ardhany & Novaryati, 2019). Beberapa tanaman obat tersebut seperti Tambora, Sembalit Angin, dan Kunyit. Kandung zat metabolik dalam Daun Tambora diantaranya flavonoid dan saponin yang berpotensi sebagai antibakteri (Saputra et al., 2019). Daun Sembalit Angin dapat menyembuhkan luka dan sebagai antibakteri *Staphylococcus aureus* (Garvita, 2015). Rimpang Kunyit termasuk tumbuhan obat yang bisa sebagai antibakteri, hal itu karena *curcuminoid* dan minyak atsiri

yang terkandung didalamnya (Jumiati et al., 2019). Bakteri *S.aureus* merupakan salah satu penyebab infeksi pada saluran reproduksi pasca nifas (Mas'udah, 2017)

Tumbuhan obat seperti Tambora, Sembalit Angin, dan Kunyit sangat mudah ditemukan, contohnya seperti di pinggir jalan, di halaman rumah, di tepian sungai, bahkan bisa ditanam. Pengetahuan dan informasi yang kurang membuat banyak masyarakat yang tidak menyadari khasiat dari tumbuhan obat tersebut. Generasi muda seperti sekarang ini juga banyak yang tidak mengetahui kegunaan dari kandungan yang ada pada tumbuhan obat tersebut. Sebagian besar masyarakat tidak mengetahui cara pengolahan tumbuhan obat tersebut, sehingga bisa dijadikan obat yang bermanfaat bagi kesehatan. Informasi dan dokumentasi yang kurang menjadi salah satu penyebab hal itu terjadi. Para ahli melalui penelitian etnobotani menyebutkan bahwa tubuh lebih mudah menerima bahan-bahan alam dibandingkan bahan-bahan sintetik (Novaryati & Universitas, 2011).

Kombinasi dari beberapa tumbuhan obat akan memberikan dampak yang lebih maksimal untuk pengobatan penyakit. Kombinasi dari beberapa ekstrak tumbuhan obat diyakini para ahli akan lebih efektif dalam penyembuhan

Commented [A4]: agar

penyakit (Halimatussa'diah et al., 2014). Sudewi & Lolo (2016) melaporkan kombinasi dari ekstrak *Morinda citrifolia* dan *Annona muricata*, *Piper crocatum* dan *Moringa oleifera* ampuh mencegah patogenitas *E.coli* dan *S.aureus*. Penelitian Kholifah (2018) juga menyebutkan bahwa kombinasi beberapa tanaman obat lebih optimal potensinya sebagai antibakteri tertentu.

Hasil penelitian di atas dijadikan sebagai landasan teoritik untuk melakukan pengkombinasian bioherbal pada formulasi tertentu, dengan tujuan untuk mengetahui kemampuan dari tumbuhan-tumbuhan tersebut dalam menghambat aktivitas *Staphylococcus aureus*. Dokumentasi dan eksplorasi sangat perlu dilakukan terhadap tumbuhan-tumbuhan obat yang ada di sekitar, agar masyarakat luas khususnya generasi sekarang bisa mengetahui khasiat dan cara pengolahan dari tumbuhan obat tersebut. Wawancara dengan masyarakat bahwa tanaman obat tersebut sering digunakan untuk obat pasca nifas, contohnya daun Tambora dicampur dengan Kunyit untuk dijadikan jamu. Namun, masyarakat belum mengetahui formulasi kombinasi dan cara pengolahan tanaman yang tepat untuk pengobatan.

Berdasarkan penjelasan di atas perlu dilakukan eksplorasi tentang potensi kombinasi tanaman obat tersebut terhadap pertumbuhan *S.aureus* pada formulasi tertentu, sehingga efektifitas formulasi kombinasi 3:2:1 sebagai antibakteri menjadi temuan dalam tulisan ini.

METODE PENELITIAN

Tahapan penelitian yaitu (1) pengambilan dan penanganan sampel tanaman obat, (2) pengeringan dan pembuatan serbuk sampai menjadi simplisia, (3) ekstraksi secara sederhana, (4) pengujian ekstrak dengan formulasi kombinasi 3:2:1 dengan taraf konsentrasi 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, dan 80%. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi IAIN Palangka Raya, Kalimantan Tengah. Pengukuran daya hambat dilakukan antara dari zona bening antara koloni *S.aureus* dengan sisi terluar *paper disc* yang mengandung ekstrak pada medium lempeng Nutrien Agar (NA).

Alat dan Bahan

Penelitian ini menggunakan beaker glass, tabung reaksi, gelas ukur, labu erlenmeyer 500 ml, dan 250 ml, cawan petri, jarum inokulasi (berkolong), pengaduk besi, corong kaca, pinset, magnetik stirer, mikropipet, autoklaf, kulkas, open pipet, laf, hot plate, neraca digital, tip mikropipet, gunting, cutter, spritus, blender, baskom, nampan, panci, kompor gas, termometer, timbangan, dan evaporator.

Bahan yang digunakan antara lain: daun Tambora, Sembalit Angin, Kunyit, kultur murni *S. aureus*, medium NA, *beef extract*, *becto pepton*, *aquadest*, alkohol 70%, metanol, kapas, vaselin, kertas saring, kertas sampul, kasa, kertas label, kertas pengisap, karet gelang, *lysol*, sabun cuci, *cotton buds*, dan aluminium foil.

Preparasi Formulasi Kombinasi Ekstrak 3:2:1

Preparasi formulasi kombinasi ekstrak dirancang dalam formula 3:2:1, dengan rancangan konsentrasi 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, dan 80% dijadikan sebagai taraf konsentrasi dalam penelitian ini. *Cloramfenicol* sebagai kontrol (+) dan aquades sebagai kontrol (-) penelitian.

Uji Efektifitas Formulasi Kombinasi 3:2:1 terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

Nutrien cair yang sudah ditanam bakteri diinkubasi selama 1x24 jam. Setelah itu, ditanam ke medium NA menggunakan cotton bud sebanyak 1 ose pada 10 cawan petri selama 1x24 jam agar dapat beradaptasi. Formulasi kombinasi 3:2:1 ekstrak disiapkan dengan taraf konsentrasi yang telah ditentukan, dan merendam kertas cakram selama 1 menit. Setelah masa inkubasi medium yang berisi *Staphylococcus aureus* selesai, kertas cakram yang sudah direndam diletakkan di bagian tengah permukaan medium. Setelah selesai, semua unit penelitian diinkubasikan. Penghambatan pertumbuhan *S.aureus* diamati pada seluruh masa inkubasi.

Analisis Data

Hasil pengamatan zona hambat yang terbentuk dianalisis menggunakan uji statistik *Anava* dan uji Duncan 1%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Data pengamatan berupa diameter lebar zona hambat, yang diukur dari sisi terluar

Commented [A7]: miringkan

Commented [A8]: hapus koma

Commented [A9]: ?

Commented [A10]: miring

Commented [A5]: hasil wawancara

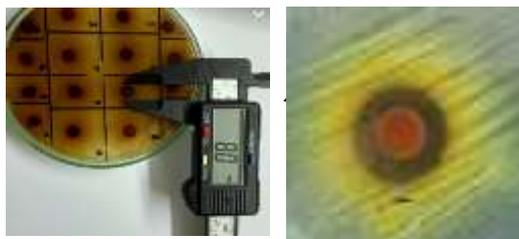
Commented [A6]: masyarakat menyatakan

Commented [A11]: delete koma

paper disc dengan koloni terjauh. Zona bening merupakan indikator daya hambat pertumbuhan *S.aureus*. berikut gambar zona bening dari hasil pengamatan.

Commented [A12]: miringkan

Commented [A13]: Berikut



Gambar 1. Zona Hambat Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*

Data rerata zona hambat pertumbuhan dengan formulasi kombinasi 3:2:1 (Tabel 1).

Tabel 1. Rekapitulasi Diameter Penghambatan Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*

Perlakuan Kombinasi	Rerata Zona Hambat (mm)		
	24 hours	48 hours	72 hours
<i>Chloramfenicol</i> (+)	0,96	1,11	0,62
Aquades (-)	0	0	0
30%	2,56	2,59	3,26
40%	1,72	2,58	3,09
50%	0,70	1,03	1,01
60%	0,71	1,15	0,99
70%	0,88	1,32	1,58
80%	0,81	1,01	1,04

Seluruh data pada formulasi kombinasi 3:2:1 dianalisis menggunakan ANAVA dan dilanjutkan dengan uji Duncan 1% untuk

mengetahui konsentrasi optimal dan efektif dalam menghambat pertumbuhan *S.aureus*.

Tabel 2. Rekapitulasi Hasil Analisis Varians Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*

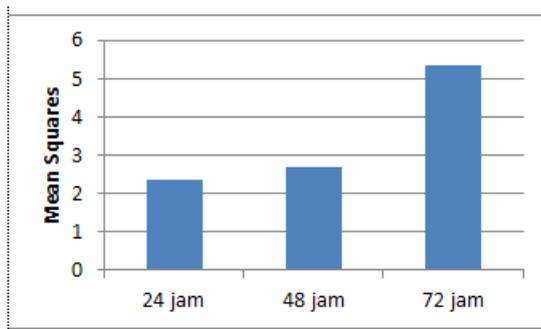
	24 jam		48 jam		72 jam	
	SS	Sig..	SS	Sig..	SS	Sig..
Between.. Groups	16,572	,000	20,719	,000	37,297	,000
Within Groups.	2,801		4,179		8,039	
Total	19,373		24,897		45,335	

SS: Sum of Square

Data hasil analisis statistik ANAVA di atas didukung dengan

diagram perbandingan *mean square* (Gambar 2).

Commented [A14]: Tidak perlu ditebalkan



Gambar 2 Mean Square Formula Kombinasi 3:2:1 *Staphylococcus aureus*

Commented [A15]: Gambar 2. Mean

Berdasarkan rekapitulasi data, dapat diketahui bahwa hasil analisis perlakuan penelitian berpengaruh signifikan terhadap pertumbuhan *S.aureus* pada signifikansi 1%

pada seluruh waktu inkubasi. Selanjutnya, konsentrasi optimal dan efektif ekstrak (Tabel 3).

Tabel 3. Hasil Uji Duncan 1% Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Pada 24 Jam

Formulasi Kombinasi 3:2:1	N	Notasi Subset for alpha = 0.01			
		1	2	3	4
P2	4	a			
P5	4		b		
P6	4		b		
P8	4		b		
P7	4		b		
P1	4		b		
P4	4			c	
P3	4				d
Sig..		1,000	,346	1,000	1,000

Commented [A16]: pada

Berdasarkan hasil dari uji Duncan 1%, formulasi kombinasi P5, P6, P7, dan P8 tidak berbeda signifikan dengan P1, hal itu membuktikan konsentrasi tersebut memiliki kemampuan yang sama dengan *Chloramfenicol* 0.1% sebagai kontrol positif penelitian. Tetapi konsentrasi tersebut berbeda signifikan jika

dibandingkan dengan P4 atau konsentrasi 40%, dan P3 (30%). Hal tersebut menunjukkan bahwa konsentrasi 30% efektif dan optimum dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* pada formulasi kombinasi 3:2:1 masa inkubasi 24 jam. Pengamatan dilanjutkan pada masa inkubasi 48 jam (Tabel 4).

Commented [A17]: namun

Tabel 4. Hasil Uji Duncan 1% Zona Hambat Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Pada 48 Jam

Formulasi Kombinasi 3:2:1	N	Notasi Subset for alpha = 0.01		
		1	2	3

P2	4	a		
P8	4		b	
P5	4		b	
P1	4		b	
P6	4		b	
P7	4		b	
P4	4			c
P3	4			c
Sig.		1,000	,357	,960

Hasil dari uji Duncan 1% menunjukkan bahwa perlakuan P5, sampai dengan P8 tidak berbeda signifikan dengan kontrol positif (P1). Hal itu membuktikan bahwa konsentrasi tersebut masih memiliki kemampuan yang sama dengan *Chloramfenicol* 0.1% selaku kontrol positif penelitian. Konsentrasi efektif dan optimum dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* pada masa inkubasi 48

jam adalah konsentrasi 30%. Hal itu menunjukkan bahwa konsentrasi efektif dan optimum pada masa inkubasi 48 jam hampir sama dengan masa inkubasi 24 pada formulasi kombinasi 3:2:1. Selanjutnya, untuk mempertegas data pada masa inkubasi 24 jam dan 48, dilakukan pengamatan pada masa inkubasi 72 jam (Tabel 5).

Commented [A18]: delete koma

Commented [A19]: ganti titik

Commented [A20]: Hal

Commented [A21]: 48 jam

Tabel 5. Hasil Uji Duncan 1% Zona Hambat Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Kombinasi 3:2:1 Pada 72 Jam

Formulasi Kombinasi 3:2:1	N	Notasi Subset for alpha = 0.01		
		1	2	3
P2	4	a		
P1	4	a	b	
P6	4	a	b	
P5	4	a	b	
P8	4	a	b	
P7	4		b	
P4	4			c
P3	4			c
Sig.		1,000	,357	,960

Perlakuan pada P5, P6, dan P8 tidak berbeda signifikan dengan kontrol positif (P1). Hasil uji Duncan 1% pada tabel di atas menunjukkan interpretasi data bahwa pada konsentrasi tersebut tetap memiliki kemampuan yang sama. Berdasarkan data dari masing-masing masa inkubasi di atas, membuktikan bahwa konsentrasi 30% efektif dan optimum menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* pada formulasi kombinasi 3:2:1.

Berdasarkan data di atas, dapat diketahui konsentrasi 30% (P3) pada formulasi kombinasi 3:2:1 efektif sebagai zat antibakteri *Staphylococcus aureus*. Hal itu disebabkan komposisi utama pada formulasi kombinasi 3:2:1 adalah 50% daun Tambora. Daun Tambora dikenal memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yaitu flavonoid yang sangat ampuh menekan pertumbuhan *S.aureus*.

Taraf perlakuan 30% menjadi konsentrasi yang paling efektif terhadap pertumbuhan *S.aureus*, didukung dengan uji Duncan 1% yang diinterpretasikan P3 (30%) adalah konsentrasi yang efektif. Hal itu karena P3 berbeda sangat nyata dengan konsentrasi yang lain. Daun Tambora memiliki kemampuan yang lebih kuat dalam menghambat pertumbuhan *S.aureus* dibandingkan daun Sembalit Angin dan rimpang Kunyit. Hal itu dibuktikan, karena hanya dengan konsentrasi 30%, sudah efektif dalam menghambat pertumbuhan *S.aureus*. Kandungan saponin dan flavonoid pada daun Tambora memiliki aktivitas antibakteri. Fakta tersebut sesuai dengan penelitian (Hidayati & Harjono, 2017) bahwa ekstrak daun Tambora potensial sebagai antibakteri, baik bakteri gram positif dan negatif. Penelitian (Safari et al., 2019) juga menyebutkan bahwa senyawa utama yang

Commented [A22]: Delete koma

Commented [A23]: Titik setelah antibakteri

terkandung dalam daun Tambora yaitu flavonoid dan alkaloid berpotensi dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus*.

Taraf konsentrasi efektif dan optimum formulasi kombinasi 3:2:1 pada waktu pengamatan 48 jam adalah konsentrasi 30% (P3). Hasil uji tersebut menunjukkan bahwa konsentrasi 30% masih mampu bertahan pada masa inkubasi 48 jam sebagai konsentrasi yang paling efektif dan optimum. Kandungan daun Tambora sebagai komponen utama pada formulasi 3:2:1 masih mampu bertahan dan aktif pada masa 48 jam. Beberapa kandungan daun Tambora tersebut adalah flavonoid, alkaloid, minyak atsiri, kumarin, dan yang lainnya. Kandungan senyawa-senyawa kimia tersebut yang membuat daun Tambora kuat dan bisa digunakan sebagai antibakteri. Hal itu sesuai dengan penelitian (Sugara et al., 2016) bahwa kandungan daun Tambora berpotensi sebagai antibakteri. Demikian pula hasil penelitian yang sama potensi daun Tambora sebagai antibakteri, salah satunya bakteri *S. aureus* (Hayati et al., 2020).

Hasil dari uji Duncan 1% menunjukkan bahwa konsentrasi 30% (P3) efektif dan optimum dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus* pada masa inkubasi 72 jam. Hal itu membuktikan bahwa konsentrasi 30% (P3) masih mampu bertahan sampai hari ketiga. Hasil tersebut juga didukung dengan nilai *mean square* pada masa inkubasi 72 jam lebih besar. Flavonoid dalam daun tambora dapat merusak dinding sel bakteri sampai mengkoagulasi protoplasma, sehingga konsentrasi yang paling efektif yaitu 30% (P3) masih mampu bertahan sampai masa inkubasi 72 jam (Iqlima et al., 2017).

Konsentrasi 30% disimpulkan sebagai konsentrasi efektif dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus* pada formulasi kombinasi 3:2:1, konsentrasi terendah sudah mampu menghambat pertumbuhan *S. aureus* secara maksimal. Efektifitas kemampuan daya hambat pertumbuhan pada formulasi kombinasi 3:2:1 ini sebagai antibakteri *S. aureus* menjadi temuan penelitian ini.

KESIMPULAN

Formulasi kombinasi 3:2:1 efektif dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus* dengan konsentrasi efektif pada taraf 30%, sehingga temuan ini dapat direkomendasikan sebagai

formulasi kombinasi antibakteri *Staphylococcus aureus*.

DAFTAR PUSTAKA

- Ardhany, S. D., & Novaryatiin, S. (2019). Pendampingan Pembuatan Krim Bawang Dayak Khas Kalteng Sebagai Anti Acne di SMK Farmasi Muhammadiyah Palangka Raya. *PengabdianMu: Jurnal Ilmiah Pengabdian Kepada Masyarakat*, 4(2), 111–116.
- Garvita, R. V. (2015). Pemanfaatan Tumbuhan Obat Secara Tradisional untuk Memperlancar Persalinan oleh Suku Dayak Meratus di Kalimantan Selatan. *Warta Kebun Raya*, 13(2), 51–58.
- Halimatussa'diah, F., Fitriani, V. Y., & Rijai, L. (2014). Aktifitas Antioksidan Kombinasi Daun Cempedar (*Artocarpus champedan*) dan Daun Bandotan (*Ageratum conyzoides*). 2(5), 248–251.
- Hayati, D. D., Isa, M., & Harris, A. (2020). 12. Antibacterial Activity of Ethanol Extract of Siamih Leaf (*Ageratum conyzoides*) on *Staphylococcus aureus* bacteria. *Jurnal Medika Veterinaria*, 14(1), 88–98.
- Hidayati, & Harjono. (2017). Uji Aktivitas Antibakteri Krim Ekstrak Daun Babadotan (*Ageratum conyzoides*. L) dalam Pelarut Etanol. *Jurnal MIPA*, 40(1), 33–38.
- Iqlima, D., Ardiningsih, P., & Wibowo, M. A. (2017). Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Endofit B2D dari Batang Tanaman Yakon (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H. Rob.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella thypimurium*. *Jkk*, 7(1), 36–43.
- Jalil, M. (2019). Keanekaragaman dan Asas Manfaat Keluarga Zingiberaceae di Dusun Jamean Kabupaten Grobogan. *Life Science*, 8(1), 75–85.
- Jumiati, J., Ratnasari, D., & Sudianto, A. (2019). Pengaruh Penggunaan Ekstrak Kunyit (*Curcuma domestica*) Terhadap Mutu Kerupuk Cumi (*Loligo* sp.). *Jurnal Ilmiah Perikanan Dan Kelautan*, 11(1), 55.

Commented [A24]: alkaloid yang

Commented [A25]: dan (hayati et al., 2020)

Commented [A26]: delete

Commented [A27]: jam yang

- Kholifah, N. (2018). Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Etanol Rumpun Bambu (*Lophatherum gracile* Brongn) dan Rimpang Kunyit Putih (*Curcuma zedoaria* (Berg.) Roscoe) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. 1-26.
- Mas'udah, E. K. (2017). Pengaruh Ekstrak Daun Turi Merah Terhadap Penurunan Kadar Tnf- α , Il-1 β dan Jumlah Koloni Bakteri Pada Ovarium *Mus musculus* Nifas Yang Diinokulasi *Staphylococcus aureus*. 1-95.
- Novaryatiin, N. Q. R. H. S., & Universitas. (2011). Peningkatan Pengetahuan dan Keterampilan Ibu Rumah Tangga dalam Pengolahan Tanaman Obat Keluarga (Toga) Sebagai Ramuan Obat Tradisional Increased Knowledge and Skills of Housewives in Processing Family Medicinal Plants (Toga) As Traditional Medicines.
- Safani, E. E., Kunharjito, W. A. C., Lestari, A., & Purnama, E. R. (2019). Potensi Ekstrak Daun Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) Sebagai Spray Untuk Pemulihan Luka Mencit Diabetik yang Terinfeksi *Staphylococcus aureus*. *Biotropic : The Journal of Tropical Biology*, 3(1), 68-78.
- Saputra, H., Dermawan, Y., & Wati, S. L. (2019). Sabun Cair Berbahan Dasar Olein Kelapa Sawit dengan Penambahan Ekstrak Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.). *Jurnal Citra Widya Edukasi*, 11(3), 223-230.
- Sudewi, S., & Lolo, W. A. (2016). Kombinasi Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) dan Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dalam Menghambat Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Kartika Jurnal Ilmiah Farmasi*, 4(2), 36-42.
- Sugara, T. H., Irawadi, T. T., Suprpto, I. H., & Hanafi, M. (2016). Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat Daun Tanaman Bandotan (*Ageratum conyzoides* L) Anti Bacteria Activity of Ethyl Acetate Fraction Bandotan leaf (*Ageratum conyzoides* L). *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 1(1), 88-96.