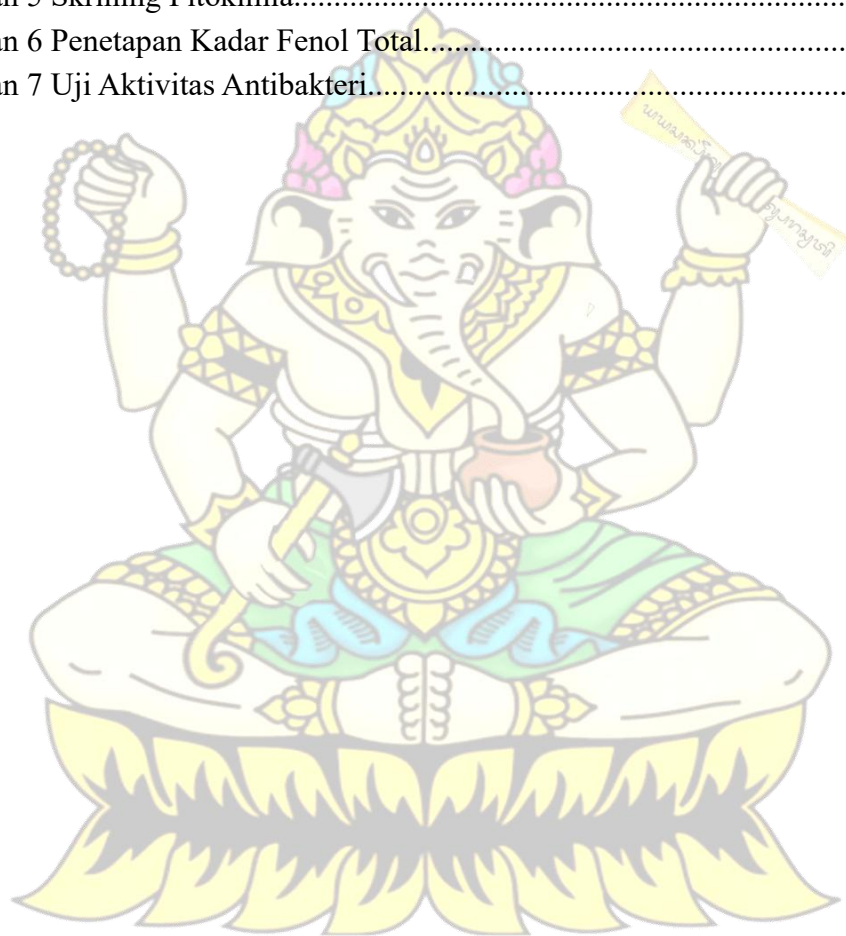


DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 Uji Determinasi.....	64
Lampiran 2 Surat Peminjaman Laboratorium.....	66
Lampiran 3 Penyiapan Simplisia.....	67
Lampiran 4 Proses Ekstraksi Maserasi dan Fraksinasi.....	68
Lampiran 5 Skrining Fitokimia.....	72
Lampiran 6 Penetapan Kadar Fenol Total.....	76
Lampiran 7 Uji Aktivitas Antibakteri.....	83



UNMAS DENPASAR

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit infeksi akibat bakteri masih menjadi salah satu penyebab utama tingginya angka kesakitan dan kematian di seluruh dunia. Permasalahan ini semakin diperburuk dengan meningkatnya resisten antibiotik, yang sering kali disebabkan oleh penggunaan antibiotik yang tidak tepat, seperti konsumsi tanpa resep dokter, penghentian terapi sebelum waktunya, serta pemberian dosis antibiotik yang tidak sesuai (Dongoran *et al.*, 2024). Menanggapi kondisi tersebut, pada tahun 2024, World Health Organization (WHO), merilis daftar 15 bakteri patogen prioritas global yang menjadi fokus penelitian dimana salah satunya adalah bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). MRSA termasuk dalam kelompok patogen prioritas karena memiliki tingkat resistensi yang tinggi terhadap berbagai antibiotik dan menjadi penyebab infeksi yang sulit diobati (WHO, 2024). Pada tahun 2023, World Health Organization (WHO) juga menyatakan sekitar 35% isolat *Staphylococcus aureus* yang dilaporkan dari 76 negara merupakan MRSA, menandakan tingginya penyebaran global bakteri ini (WHO, 2023). Kondisi ini sejalan dengan situasi di Indonesia, dimana tinjauan sistematis menunjukkan prevalensi MRSA pada isolat klinis di berbagai rumah sakit berkisar antara 0,3% hingga 52%, yang menandakan penyebaran luas serta tingginya tingkat resistensi (Syahniar *et al.*, 2020). Hal ini mendorong perlunya upaya pengembangan agen antibakteri alternatif untuk menekan laju resistensi dan meningkatkan keberhasilan terapi.

Pendekatan yang dapat dikembangkan adalah melalui pemanfaatan bahan alam, yang mengandung berbagai metabolit sekunder dengan potensi antibakteri. Senyawa-senyawa tersebut bekerja melalui berbagai mekanisme, termasuk merusak struktur sel dan menghambat proses vital bakteri (Wardani & Ajizah, 2025). Salah satu tanaman yang berpotensi dikembangkan sebagai sumber antibakteri alami adalah kenop (*Gomphrena globosa* L.). Di Bali, tanaman kenop

lebih banyak dikenal sebagai tanaman hias maupun bunga upacara keagamaan umat Hindu. Secara empiris, bagian bunganya telah dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional untuk membantu meredakan sesak nafas akibat asma, bronkitis kronis, panas pada anak, radang mata, alergi hingga disentri (Rohmah *et al.*, 2022). Selain bagian bunga, penelitian yang dilakukan oleh Maramis *et al.* (2020) juga melaporkan bahwa daun kenop mengandung berbagai senyawa bioaktif, antara lain fenol, flavonoid, saponin, alkaloid dan tanin, yang diketahui memiliki aktivitas antibakteri. Lebih lanjut, ekstrak daun kenop telah terbukti menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli*. Hal tersebut menunjukkan bahwa daun kenop berpotensi untuk dieksplorasi lebih lanjut sebagai sumber antibakteri alternatif berbasis bahan alam, khususnya terhadap bakteri patogen prioritas global seperti *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).

Diantara berbagai metabolit sekunder yang terkandung dalam tanaman, fenol menjadi salah satu senyawa penting, yang diketahui berperan besar dalam aktivitas antibakteri dengan mekanisme seperti merusak membran sel bakteri, menginaktivasi enzim, serta mengganggu proses metabolisme sel (Marfuah *et al.*, 2018). Penelitian sebelumnya juga menunjukkan adanya hubungan positif antara kadar fenol total dengan aktivitas antibakteri, dimana peningkatan kandungan fenol pada ekstrak dan fraksi *Abelmoschus manihot* L. terbukti meningkatkan daya hambat terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* (Kambey *et al.*, 2019). Aktivitas antibakteri tersebut berkaitan erat dengan struktur kimia fenol yang memiliki gugus hidroksil (-OH) yang terikat pada cincin benzena aromatik. Gugus ini memungkinkan fenol berinteraksi dengan dinding dan membran sel bakteri melalui ikatan hidrogen, sehingga menyebabkan koagulasi protein dan kerusakan membran sel yang berujung pada kematian bakteri (Januarti *et al.*, 2019). Temuan ini memperkuat bahwa semakin tinggi kadar fenol dalam suatu ekstrak atau fraksi, maka semakin besar pula kemampuan antibakterinya.

Proses ekstraksi memiliki peranan penting dalam memperoleh metabolit sekunder, termasuk senyawa fenol, karena efektivitas proses ini sangat mempengaruhi jumlah dan kualitas senyawa bioaktif yang dihasilkan (Sasudara & Wiranata, 2022). Dengan demikian, penetapan kadar fenol serta pengujian aktivitas

antibakterinya menjadi langkah penting untuk mengoptimalkan potensi antibakteri dari daun kenop (*Gomphrena globosa* L.). Metode maserasi dengan pelarut etanol 80% merupakan salah satu teknik ekstraksi yang sederhana namun efektif untuk memperoleh senyawa fitokimia dari bahan alam, terutama senyawa polar dan semi-nonpolar seperti fenolik (Makalunsenge *et al.*, 2022). Etanol 80% dikenal sebagai pelarut yang bersifat universal, aman, serta ramah lingkungan dibandingkan dengan pelarut organik lainnya. Pada konsentrasi tersebut, etanol memiliki kemampuan optimal dalam mengekstraksi berbagai senyawa bioaktif dengan tingkat kepolaran berbeda, baik nonpolar, semi-polar, maupun polar. Dengan demikian, penggunaan etanol 80% dianggap sesuai untuk memperoleh metabolit sekunder penting seperti fenol dari daun kenop (Haresmita & Pradani, 2022).

Senyawa aktif dapat diperoleh melalui keberhasilan proses fraksinasi. Fraksinasi adalah proses pemisahan senyawa dalam ekstrak berdasarkan perbedaan polaritas pelarut yang digunakan (Kiyato *et al.*, 2022). Proses fraksinasi bertujuan memisahkan senyawa metabolit sekunder berdasarkan tingkat polaritasnya, sehingga memungkinkan identifikasi fraksi yang paling berkontribusi terhadap aktivitas biologis (Amaliah *et al.*, 2024). Pada hasil penelitian Qur'an *et al.* (2020) terhadap daun eceng gondok melaporkan bahwa fraksi etanol memiliki aktivitas antibakteri yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak etanol kasarnya. Temuan tersebut menegaskan bahwa fraksinasi dapat meningkatkan efektivitas antibakteri melalui pemisahan senyawa bioaktif sehingga aktivitasnya lebih tinggi dibandingkan ekstrak. Dengan demikian, fraksinasi menjadi tahap penting untuk mengidentifikasi fraksi yang memberikan kontribusi terbesar terhadap aktivitas antibakteri.

Tingginya prevalensi infeksi akibat *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) serta meningkatnya resistensi terhadap antibiotik sintetis, diperlukannya pengembangan alternatif antibakteri berbasis bahan alam yang lebih aman dan efektif. Meskipun tanaman kenop (*Gomphrena globosa* L.) diketahui memiliki kandungan senyawa fenol yang berpotensi sebagai antibakteri, penelitian mengenai penetapan kadar fenol total dan pengujian aktivitas antibakterinya masih terbatas, khususnya melalui proses fraksinasi dengan tiga pelarut. Berdasarkan latar

belakang tersebut, maka dilakukan penelitian untuk menetapkan kadar fenol total serta menguji aktivitas antibakteri fraksi ekstrak daun kenop (*Gomphrena globosa* L.) terhadap bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA), sehingga diharapkan dapat memberikan kontribusi ilmiah dalam pengembangan sumber antibakteri alami sebagai alternatif terhadap resistensi antibiotik yang terus meningkat.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang permasalahan yang telah dipaparkan, dapat diambil suatu rumusan masalah yaitu :

1. Apakah setiap fraksi ekstrak daun kenop (*Gomphrena globosa* L.) memiliki kadar fenol total yang berbeda?
2. Bagaimanakah aktivitas antibakteri setiap fraksi ekstrak daun kenop (*Gomphrena globosa* L.) terhadap bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah diatas, tujuan dari penelitian dapat dijabarkan sebagai berikut :

1. Untuk mengetahui kadar fenol total pada setiap fraksi ekstrak daun kenop (*Gomphrena globosa* L.) hasil ekstraksi etanol 80% dari Desa Ketewel, Gianyar yang di uji dengan metode spektrofotometri UV-Vis.
2. Untuk mengevaluasi aktivitas antibakteri setiap fraksi ekstrak daun kenop (*Gomphrena globosa* L.) terhadap bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).

1.4 Manfaat Penelitian

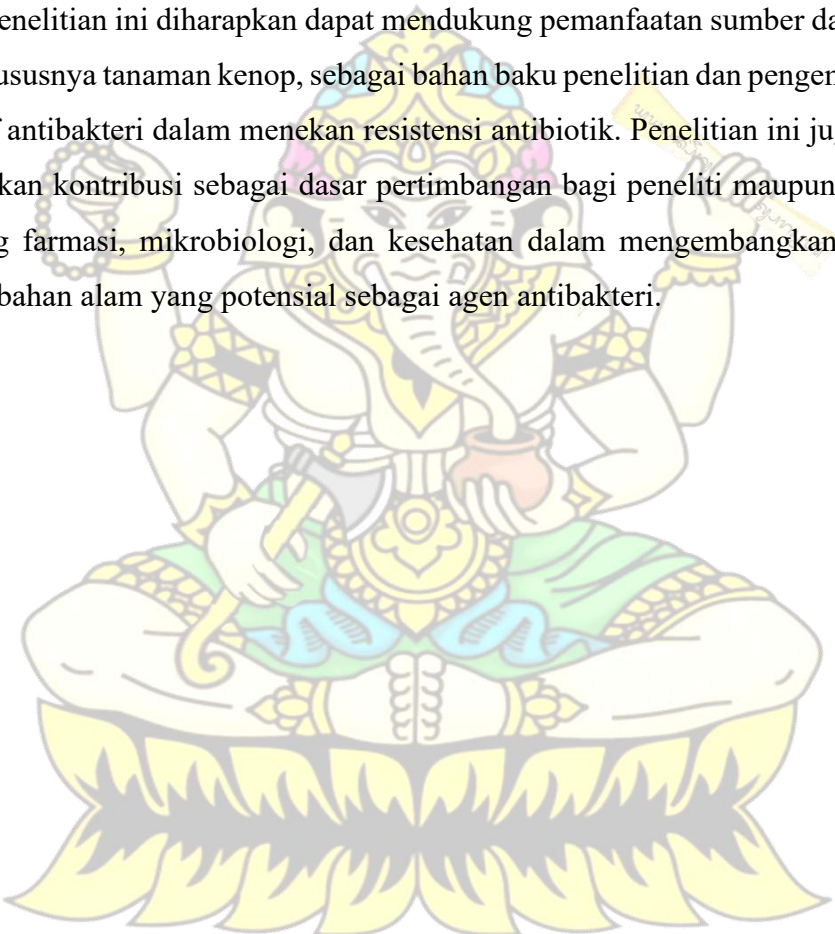
1.4.1 Manfaat Teoritis

Penelitian ini diharapkan dapat memperkaya informasi ilmiah mengenai kandungan fenol total pada fraksi daun kenop (*Gomphrena globosa* L.) hasil

ekstraksi etanol 80% dari Desa Ketewel, Gianyar serta aktivitas antibakterinya terhadap bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Selain itu, penelitian ini dapat menjadi referensi ilmiah dalam pengembangan kajian lebih lanjut terkait pemanfaatan metabolit sekunder tanaman kenop sebagai agen antibakteri alami.

1.4.2 Manfaat Praktis

Penelitian ini diharapkan dapat mendukung pemanfaatan sumber daya alam lokal, khususnya tanaman kenop, sebagai bahan baku penelitian dan pengembangan alternatif antibakteri dalam menekan resistensi antibiotik. Penelitian ini juga dapat memberikan kontribusi sebagai dasar pertimbangan bagi peneliti maupun praktisi di bidang farmasi, mikrobiologi, dan kesehatan dalam mengembangkan produk berbasis bahan alam yang potensial sebagai agen antibakteri.



UNMAS DENPASAR

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Deskripsi Tanaman Kenop (*Gomphrena globosa* L.)

Tanaman kenop (*Gomphrena globosa* L.) merupakan tumbuhan hias semusim yang umum ditemukan di daerah tropis dan subtropis seperti Indonesia. Tanaman ini tergolong semak tahunan (*annual herb*) dengan tinggi antara 20-60 cm (Lolita, 2023). Batangnya tegak beralur, dengan permukaan agak kasar serta ditutupi rambut halus, serta memiliki akar tunggang atau serabut (Putra *et al.*, 2025). Bunga kenop (*Gomphrena globosa* L.) tersusun rapat membentuk bonggol (*capitulum*) dengan warna bervariasi dari putih hingga ungu, sedangkan bijinya berbentuk ginjal dan berwarna coklat (Nugrahaeni *et al.*, 2023).



Sumber: Dokumentasi Pribadi, 2025

Gambar 2.1: Daun Kenop (*Gomphrena globosa* L.) Varietas Ungu

Daun tanaman kenop tersusun berpasangan secara berlawanan (*opposite*), berbentuk elips atau bulat telur memanjang, dengan panjang sekitar 4–8 cm. Permukaan daun biasanya sedikit berbulu halus dan berwarna hijau muda hingga hijau tua. Struktur daunnya tipis dan mudah layu saat kekurangan air, sehingga meskipun toleran terhadap kekeringan ringan, tanaman ini tetap membutuhkan penyiraman yang cukup secara teratur (Elfianis, 2022). Ukuran daun berkisar antara 2–10 cm panjang dan 0,5–5 cm lebar, dengan tangkai daun sepanjang 1–15 mm. Bentuk pangkal daun cenderung membulat hingga menyempit, sedangkan tepinya

rata tanpa gerigi. Tulang daun bertipe menyirip dengan tulang utama yang jelas terlihat di bagian tengah. Warna daun bervariasi dari hijau muda hingga hijau tua, tergantung usia daun dan kondisi lingkungan (World Flora Online, 2025). Ciri-ciri tersebut menjadikan daun kenop memiliki nilai penting baik secara estetika maupun fungsional.

2.1.1 Kandungan Kimia Daun Kenop (*Gomphrena globosa* L.)

Tanaman kenop (*Gomphrena globosa* L.) merupakan tumbuhan tropis yang tidak hanya memiliki nilai estetika sebagai tanaman hias, tetapi juga nilai terapeutik yang cukup tinggi. Beberapa senyawa metabolit sekunder utama yang telah teridentifikasi dalam daun kenop meliputi: flavonoid, fenol, saponin, alkaloid, tanin, terpenoid. Masing-masing memiliki mekanisme kerja dan kontribusi farmakologis yang berbeda-beda (Esmat & Mittapally, 2020).

Flavonoid dan fenol bertindak sebagai antioksidan serta antibakteri melalui kerusakan dinding sel, penghambatan enzim, dan gangguan permeabilitas membran (Yadav & Ali, 2023; Tang *et al.*, 2022). Saponin bekerja dengan meningkatkan permeabilitas membran mikroba dan merusak kestabilan sel (Safitri, 2022), sedangkan alkaloid berkontribusi terhadap aktivitas antibakteri, anti jamur, dan analgesik (Sitorus & Hutabarat, 2024). Tanin bersifat astringen yang dapat mengendapkan protein dan menghambat pertumbuhan bakteri, sementara terpenoid menunjukkan efek antibakteri dan antiinflamasi melalui penghambatan mediator peradangan (Satria, 2021).

2.1.2 Manfaat Daun Kenop (*Gomphrena globosa* L.)

Daun kenop (*Gomphrena globosa* L.) diketahui memiliki manfaat bagi kesehatan karena kandungan metabolit sekundernya. Ekstrak etanol daun kenop terbukti memiliki aktivitas antioksidan, antiglikasi, serta dapat menghambat enzim α -amilase sehingga berpotensi sebagai antidiabetes (Sherif, 2021). Selain itu, daun kenop juga memiliki potensi sebagai agen antiemetik yang mampu menekan mual dan muntah, sehingga dapat digunakan sebagai terapi pendukung pada pasien kanker yang menjalani kemoterapi (Anisa *et al.*, 2021). Daun kenop juga memiliki manfaat sebagai antibakteri karena mengandung senyawa aktif seperti saponin,

alkaloid, tanin, dan fenol yang dapat menghambat pertumbuhan berbagai bakteri. Mekanisme kerja senyawa antibakteri ini meliputi penghambatan metabolisme dan gangguan permeabilitas dinding sel bakteri, sehingga menghambat pertumbuhan bakteri tersebut. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kenop dengan konsentrasi 20% dapat menghambat *Escherichia coli* dengan diameter zona hambat 3,33 mm. Temuan tersebut menegaskan bahwa daun kenop memiliki potensi luas sebagai sumber bahan alami yang dapat dikembangkan lebih lanjut dalam bidang kesehatan (Maramis *et al.*, 2020).

2.2 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan senyawa aktif dari simplisia menggunakan pelarut cair yang sesuai, sehingga metabolit sekunder dapat larut dan terpisah dari komponen lain yang tidak diinginkan (Triyanti *et al.*, 2025). Tujuan utamanya adalah memperoleh kandungan senyawa aktif secara optimal dengan mempertimbangkan sifat bahan dan jenis pelarut yang digunakan (Candra *et al.*, 2021). Metode ekstraksi dibedakan menjadi dua, yaitu cara dingin, seperti maserasi dan perkolasi, yang digunakan untuk senyawa termolabil, serta cara panas, seperti refluks, sokletasi, dan dekokta, yang sesuai untuk senyawa stabil terhadap panas (Huda *et al.*, 2022).

Maserasi merupakan metode ekstraksi sederhana dengan merendam serbuk simplisia dalam pelarut organik pada suhu kamar. Pelarut menembus sel, melarutkan senyawa aktif, dan proses berlanjut hingga tercapai kesetimbangan konsentrasi (Mutripah & Badriyah, 2024). Metode ini dipilih karena tidak menggunakan pemanasan, sehingga cocok untuk senyawa yang sensitif terhadap suhu tinggi. Selain sederhana dan mudah dilakukan, maserasi tetap efektif menghasilkan ekstrak berkandungan senyawa aktif optimal bila prosedurnya tepat (Ulfa *et al.*, 2023). Setelah perendaman, pelarut dipisahkan dari sampel melalui penyaringan. Keberhasilan proses ekstraksi sangat dipengaruhi oleh faktor eksternal seperti suhu, ukuran bahan, waktu, jenis pelarut, dan pengadukan, serta faktor internal seperti jenis dan kandungan senyawa aktif. Kombinasi keduanya

menentukan kelarutan dan rendemen ekstrak yang dihasilkan (Wahyuningsih *et al.*, 2024).

2.3 Fraksinasi

Fraksinasi merupakan teknik pemisahan dan pengelompokan kandungan kimia dari ekstrak tanaman berdasarkan tingkat kepolaran senyawanya menggunakan lebih dari satu pelarut yang tidak saling campur (Shina *et al.*, 2024). Tujuannya untuk memperoleh fraksi yang lebih murni, memudahkan analisis, serta meningkatkan peluang isolasi komponen bioaktif. Metode ini umumnya dilakukan melalui teknik ekstraksi cair-cair atau kromatografi. Fraksinasi pelarut banyak digunakan karena efektif dan dapat dilakukan pada berbagai skala (Suhaenah *et al.*, 2023). Pelarut yang umum dipakai antara lain n-heksana (nonpolar), etil asetat (semipolar), dan metanol atau air (polar), sehingga diperoleh fraksi sesuai tingkat kepolarannya (Makalunsenge *et al.*, 2022).

Ekstraksi Cair-Cair (ECC) merupakan salah satu metode fraksinasi yang menggunakan dua pelarut tidak saling campur, seperti fase air dan pelarut organik (etil asetat atau n-heksana), berdasarkan perbedaan kelarutan senyawa (Herdiana & Aji, 2020). Proses ini dilakukan dengan mengocok campuran dalam corong pisah hingga terbentuk dua lapisan terpisah yang masing-masing mengandung senyawa berbeda untuk analisis lebih lanjut (Reyhanitash *et al.*, 2018). Keberhasilan (ECC) ditentukan oleh pemilihan pelarut yang memiliki kapasitas ekstraksi tinggi, selektivitas baik, tidak toksik, mudah dipisahkan, dan dapat digunakan kembali. Metode ini unggul karena mampu menghasilkan fraksi dengan kemurnian tinggi dan efisien dalam isolasi senyawa bioaktif (Wahyuningsih *et al.*, 2024).

2.4 Bakteri *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)



Sumber : Windria *et al.*, 2023

Gambar 2.2: Koloni Bakteri *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*

Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) merupakan bakteri gram positif dari genus *Staphylococcus* yang memiliki kemampuan bertahan terhadap berbagai antibiotik, terutama golongan β -laktam, sehingga menjadi ancaman serius di dunia medis (Nandhini *et al.*, 2022). MRSA biasanya ditemukan pada pasien rumah sakit, terutama yang menjalani prosedur invasif atau terapi antibiotik jangka panjang, serta dapat muncul pada individu sehat di luar rumah sakit dan sering menyebabkan infeksi kulit dan jaringan lunak (Rahman *et al.*, 2023). Infeksi yang disebabkan MRSA bervariasi dari kasus ringan, seperti abses kulit, hingga berat seperti pneumonia, meningitis, endokarditis, dan bakteremia (Basmia *et al.*, 2025).

Secara morfologis, MRSA berbentuk bulat (*kokus*) dengan diameter 0,8-1,0 μm , berwarna kekuningan akibat pigmen khas, dan berkoloni menyerupai susunan buah anggur. Bakteri ini bersifat anaerob fakultatif, non-motil, serta tidak membentuk spora (Kaunang & Sihombing, 2022). Secara biokimia, MRSA menghasilkan enzim katalase yang memecah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen, serta enzim koagulase yang berperan dalam virulensi dengan membentuk gumpalan fibrin untuk melindungi diri dari sistem imun inang (Kaushik *et al.*, 2024).

2.4.1 Klasifikasi Bakteri *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*(MRSA)

Berikut klasifikasi bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) menurut sistem taksonomi mikrobiologi (Amalia *et al.*, 2018) :

Domain	: Bacteria
Filum	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Ordo	: Bacillales
Famili	: Staphylococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i>
Strain	: <i>Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus</i> (MRSA)

2.5 Antibakteri

Antibakteri merupakan zat atau senyawa yang berfungsi untuk menghambat pertumbuhan maupun membunuh bakteri dengan cara mengganggu proses metabolisme yang esensial bagi kelangsungan hidup mikroba. Senyawa ini digunakan terutama untuk mencegah dan mengatasi infeksi yang disebabkan oleh bakteri. Mekanisme kerjanya dapat berlangsung melalui berbagai cara, antara lain merusak struktur dinding sel bakteri, mengubah permeabilitas membran sel, merusak molekul protein dan asam nukleat, menghambat kerja enzim penting, hingga menghambat sintesis asam nukleat maupun protein (Seko *et al.*, 2021).

Berdasarkan aktivitasnya, antibakteri dibedakan menjadi dua, yaitu bakterisida yang mampu mematikan bakteri secara langsung, dan bakteriostatik yang hanya menghambat pertumbuhan serta perkembangannya (Nazar *et al.*, 2023). Beberapa senyawa fitokimia seperti fenol, flavonoid, dan alkaloid diketahui mampu merusak dinding sel bakteri. Senyawa-senyawa tersebut berpotensi menjadi agen antibakteri alami yang efektif melawan bakteri patogen, sehingga memberikan peluang besar dalam pengembangan terapi alternatif berbasis bahan alam (Zahrani *et al.*, 2025).

2.6 Uji Aktivitas Antibakteri

Untuk menguji aktivitas antibakteri dapat menggunakan beberapa metode, yaitu metode dilusi, metode difusi agar, dan metode difusi dilusi. Metode difusi adalah metode yang sering digunakan untuk analisis aktivitas antibakteri. Terdapat 3 cara dari metode difusi yang dapat dilakukan yaitu metode sumuran, metode cakram, dan metode silinder (Nurhayati *et al.*, 2020). Prinsip kerja dari metode difusi adalah terdifusinya senyawa antibakteri ke dalam media padat dimana mikroba uji telah diinokulasikan. Hasil pengamatan yang diperoleh berupa ada atau tidaknya daerah bening yang terbentuk di sekeliling kertas cakram yang menunjukkan zona hambat pada pertumbuhan bakteri (Goetie *et al.*, 2022).

Kategori kekuatan antibakteri ditentukan berdasarkan diameter zona bening yang terbentuk, sebagaimana ditunjukkan pada tabel berikut:

Tabel 2.1 Kategori Kekuatan Daya Antibakteri

Diameter Zona Bening (mm)	Kategori
≥ 20	Sangat kuat
10 – 20	Kuat
5 – 10	Sedang
≤ 5	Lemah

Sumber : Pabundu *et al.*, 2024

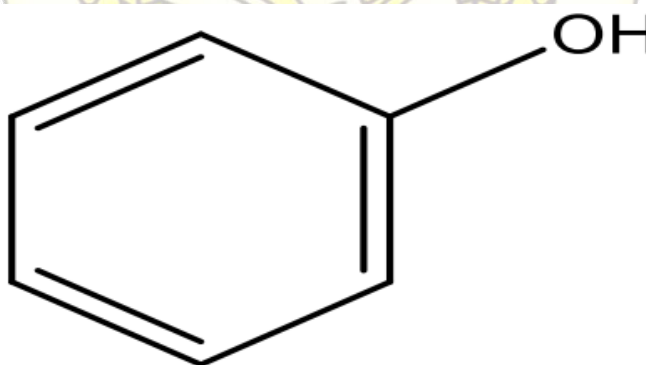
2.6.1 Metode Sumuran

Metode sumuran merupakan salah satu teknik uji aktivitas antibakteri berbasis difusi, di mana larutan uji dimasukkan ke dalam lubang kecil pada media agar yang telah diinokulasi bakteri di inkubasi pada suhu 35–37°C selama 18–24 jam, senyawa aktif akan berdifusi ke dalam media dan menghasilkan zona hambat berupa area bening di sekitar sumuran yang menunjukkan adanya aktivitas antibakteri (Primadiamanti *et al.*, 2021). Kelebihan metode difusi sumuran yaitu lebih mudah mengukur luas zona hambat yang terbentuk karena isolat beraktivitas tidak hanya di permukaan atas media agar tetapi juga sampai ke bagian bawah (Alouw *et al.*, 2022).

2.6.2 Metode Cakram

Metode cakram merupakan teknik uji aktivitas antimikroba yang banyak digunakan karena sederhana, cepat, murah, dan cukup konsisten (Fransisca *et al.*, 2020). Prinsip pengujiannya adalah cakram kertas steril yang telah direndam larutan uji diletakkan pada media agar yang berisi mikroorganisme, kemudian diinkubasi 18–24 jam pada suhu 35 °C. Senyawa aktif akan berdifusi dari cakram ke dalam media sehingga terbentuk zona hambat di sekitar cakram, dan diameter zona tersebut diukur untuk menentukan efektivitas antimikroba. Selain itu, metode ini juga memiliki keunggulan karena memungkinkan pengujian beberapa sampel sekaligus dalam satu tahap analisis (Nurhayati *et al.*, 2020).

2.7 Fenolik



Sumber: Koirewoa & Raunsay, 2016

Gambar 2.3: Struktur Fenol

Senyawa fenol merupakan kelompok besar dari metabolit sekunder yang banyak ditemukan pada tumbuhan dan dikenal memiliki aktivitas biologis yang luas (Alara *et al.*, 2021). Struktur dasar senyawa fenol yang paling sederhana adalah fenol itu sendiri (C_6H_5OH), yang ditandai dengan adanya gugus hidroksil (-OH) yang terikat langsung pada cincin hidrokarbon aromatik. Aktivitas biologis senyawa fenol terutama dipengaruhi oleh jumlah gugus hidroksil yang melekat pada cincin benzena. Berdasarkan klasifikasinya, senyawa fenol yang terkandung dalam tumbuhan meliputi fenol sederhana, benzokuinon, asam fenolat, asetofenon,

naftokuinon, xanton, bioflavonoid, kumarin, stilbene, turunan tirosin, asam hidroksi sinamat, flavonoid, lignan, dan tanin (Pallawagau *et al.*, 2019).

Fenol ditemukan tersebar luas dalam jaringan tumbuhan, terutama pada bagian daun, bunga, buah dan batang (Nurmalasari *et al.*, 2019). Senyawa fenol berperan dalam perlindungan tanaman terhadap serangan patogen, serangga, dan tekanan lingkungan seperti sinar ultraviolet dan kekeringan (Dehghanian *et al.*, 2022). Dalam bidang farmakologi, fenol dikenal memiliki berbagai aktivitas biologis, seperti antioksidan, antibakteri, antijamur, antiinflamasi, hingga antikanker, sehingga banyak dimanfaatkan dalam pengembangan obat herbal maupun pangan fungsional (Abdul Qadir *et al.*, 2017). Aktivitas antibakteri fenol terutama disebabkan oleh kemampuannya merusak dinding sel bakteri, mendenaturasi protein, serta mengganggu permeabilitas membran sel, sehingga pertumbuhan bakteri dapat terhambat (Sudjana *et al.*, 2024).

Secara karakteristik, fenol umumnya berupa senyawa padat tidak berwarna hingga putih, namun dapat berubah menjadi kecoklatan akibat proses oksidasi oksidasi, serta memiliki sifat larut dalam pelarut polar. Sifat khas fenol ini juga dapat diamati melalui uji kualitatif menggunakan pereaksi FeCl_3 yang menghasilkan reaksi positif berupa perubahan warna larutan menjadi ungu, merah, hijau, biru, atau hitam, tergantung pada jenis fenol yang terkandung (Wilujeng & Anggarani, 2021). Selain itu, senyawa fenol juga mempunyai sifat asam lemah, mudah dioksidasi, mudah menguap, serta sensitif terhadap panas, cahaya, dan oksigen, sehingga bersifat tidak stabil apabila di simpan atau di proses pada kondisi yang kurang tepat (Firdaus *et al.*, 2021).

2.8 Penetapan Kadar Fenol Total

Penetapan kadar fenol total dalam bidang farmasi umumnya dilakukan dengan metode spektrofotometri UV-Vis menggunakan reagen *Folin-Ciocalteu*. Prinsip metode ini adalah terjadinya reaksi oksidasi-reduksi, di mana gugus hidrosil fenolik mereduksi kompleks fosfomolibdat-fosfotungstat dalam reagen *Folin-Ciocalteu* sehingga terbentuk warna biru. Tahap awal dilakukan dengan melarutkan sampel ekstrak, kemudian ditambahkan reagen *Folin-Ciocalteu* yang akan bereaksi dengan

senyawa fenolik dilanjutkan dengan penambahan larutan natrium karbonat untuk mempertahankan reaksi dalam kondisi basa, lalu campuran diinkubasi pada suhu kamar selama kurang lebih 90 menit. Absorbansi hasil reaksi kemudian diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang sekitar 765 nm. Kadar fenol total dihitung berdasarkan kurva standar asam galat, sehingga hasil pengukuran dinyatakan dalam ekuivalen asam galat (mg GAE/g ekstrak) (Agustin *et al.*, 2022).

Metode spektrofotometri UV-Vis dengan reagen *Folin-Ciocalteu* banyak digunakan karena prosedurnya sederhana, cepat, biaya relatif rendah, dapat di aplikasikan pada laboratorium biasa, serta bersifat sensitif terhadap senyawa fenolik meskipun dalam jumlah kecil. Selain itu, metode ini membutuhkan standar baku untuk menentukan konsentrasi total dari gugus hidroksil fenolat dalam ekstrak tanaman, dengan pereaksi *Folin-Ciocalteu* sebagai salah satu pereaksi redoks yang bereaksi spesifik dengan polifenol sehingga menghasilkan perubahan warna yang kemudian dapat diukur secara kuantitatif (Salim *et al.*, 2020). Namun demikian, metode ini memiliki keterbatasan karena reagen *Folin-Ciocalteu* juga dapat bereaksi dengan senyawa pereduksi lain seperti reduksi, asam askorbat, maupun asam amino tertentu, sehingga hasil pengukuran berpotensi memberikan estimasi berlebih terhadap kadar fenol total (Lawag *et al.*, 2023).

2.9 Spektrofotometri UV-Visible

Spektrofotometri merupakan metode analisis instrumental yang digunakan baik secara kualitatif maupun kuantitatif untuk menentukan konsentrasi zat dalam suatu sampel. Prinsip dasar metode ini adalah penyerapan cahaya molekul pada panjang gelombang tertentu, sehingga interaksi cahaya dengan materi dapat digunakan untuk mengetahui keberadaan dan jumlah senyawa. Pada spektrofotometri UV-Vis, pengukuran dilakukan pada daerah sinar ultraviolet dengan rentang 200-400 nm dan cahaya tampak dalam rentang 400-800 nm dari spektrum elektromagnetik (Abriyani *et al.*, 2024).

Spektrofotometri UV-Vis bekerja berdasarkan kemampuan molekul dengan gugus kromofor menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu, yang

menyebabkan terjadinya transisi elektron dari keadaan dasar ke tingkat energi tereksitasi (Zirlyvera *et al.*, 2024). Instrumen ini terdiri dari sumber cahaya (lampu deuterium untuk sinar UV dan tungsten untuk cahaya tampak), monokromator untuk memilih panjang gelombang, serta detektor untuk merekam intensitas cahaya yang diteruskan (Khokrale *et al.*, 2024). Berdasarkan hukum Lambert-Beer, absorbansi yang diperoleh berbanding lurus dengan konsentrasi zat, sehingga metode ini banyak digunakan untuk penentuan kadar senyawa, termasuk bahan aktif obat maupun metabolit sekunder dari ekstrak tumbuhan. Keunggulan spektrofotometri UV-Vis adalah analisis yang cepat, sensitif, sederhana, serta aplikatif di berbagai bidang seperti kimia, farmasi, biokimia, dan lingkungan (Setyaningrum & Susanti, 2022).

2.10 Uji Statistik

2.10.1 Uji Normalitas

Uji normalitas adalah metode statistik yang digunakan untuk menentukan apakah data terdistribusi normal atau tidak. Pengambilan kesimpulan hasil uji normalitas dapat dilihat, jika nilai signifikansi $> 0,05$, maka dinyatakan data berdistribusi normal. Sedangkan jika nilai signifikansi $< 0,05$, maka dinyatakan data berdistribusi tidak normal (Pratama & Permatasari, 2021).

2.10.2 Uji Homogenitas

Uji homogenitas merupakan metode statistik yang digunakan untuk mengetahui apakah varians dari beberapa populasi memiliki kesamaan atau tidak. Pengujian dilakukan dengan membandingkan varians dari dua atau lebih kelompok data. Jika kelompok data tersebut memiliki varians yang sama, maka data dianggap homogen sehingga uji tambahan tidak diperlukan. Uji homogenitas hanya dapat dilakukan pada data yang berdistribusi normal. Tujuan utama dari uji ini adalah memastikan bahwa perbedaan yang ditemukan pada analisis parametrik benar-benar mencerminkan perbedaan antar kelompok, bukan akibat perbedaan dalam kelompok (Sianturi, 2022). Dasar atau pedoman pengambilan keputusan dalam uji homogenitas, jika nilai signifikan atau Sig. $< 0,05$, maka dikatakan bahwa varians

dari dua atau lebih kelompok populasi data adalah tidak sama (tidak homogen). Sedangkan jika signifikan atau $\text{Sig.} > 0,05$, maka dikatakan bahwa varians dari dua atau lebih kelompok populasi data adalah sama (homogen) (Sari *et al.*, 2024).

2.10.3 Uji *One Way ANOVA*

Uji *ANOVA* (*Analysis of Variance*) merupakan metode statistik untuk mengetahui perbedaan rata-rata pada tiga kelompok atau lebih dengan cara membandingkan varians antar kelompok dan dalam kelompok (Nainggolan *et al.*, 2025). Apabila variasi antar kelompok lebih besar secara signifikan dibandingkan variasi dalam kelompok, maka dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan rata-rata yang nyata antar kelompok. Uji ini memiliki beberapa asumsi yang harus dipenuhi, yaitu data berdistribusi normal, varians antar kelompok homogen, serta sampel bersifat independent. Dilanjutkan dengan uji *Post Hoc* dengan *Tukey* untuk membandingkan pasangan rata-rata antar kelompok. Pengambilan keputusan dilakukan dengan menghitung nilai F-hitung kemudian membandingkannya dengan nilai F-tabel pada taraf signifikansi = 0,05 atau dengan melihat nilai signifikansi (p-value). Jika nilai $p < 0,05$, maka hipotesis nol (H_0), yang menyatakan tidak ada perbedaan rata-rata antar kelompok, ditolak sehingga dapat disimpulkan terdapat perbedaan yang signifikan. Sebaliknya, jika nilai $p > 0,05$, maka H_0 diterima, artinya tidak ada perbedaan rata-rata yang signifikan antar kelompok (Aziza *et al.*, 2024).

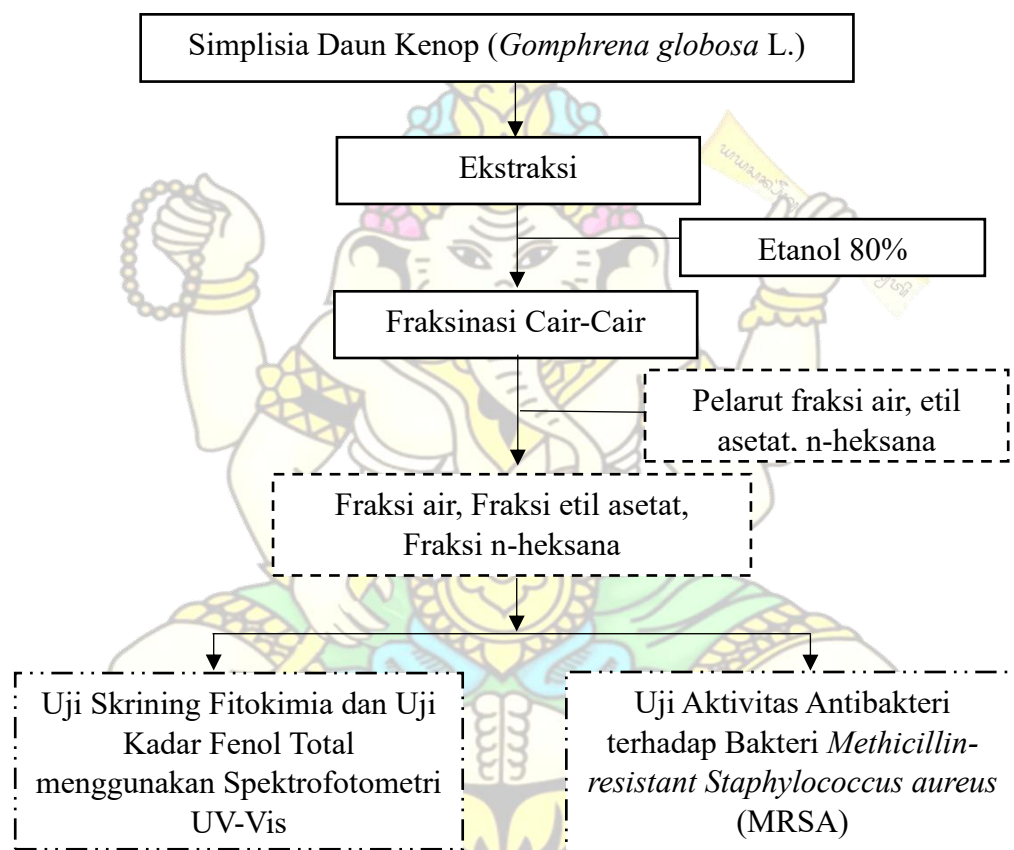
2.10.4 Uji *Kruskal Wallis*

Uji *Kruskal-Wallis* merupakan metode statistik non-parametrik berbasis peringkat yang digunakan untuk membandingkan tiga kelompok atau lebih yang independen. Uji ini digunakan ketika data tidak memenuhi asumsi parametrik, seperti distribusi normal atau homogenitas varians, sehingga menjadi alternatif dari uji *One Way ANOVA*. Dilanjutkan dengan uji *Post Hoc* dengan *Mann Whitney*. Variabel dependen yang dianalisis dapat berupa data berskala ordinal maupun interval/rasio. Hasil uji ditunjukkan oleh nilai signifikansi (p-value), dengan kriteria keputusan $p < 0,05$ berarti hipotesis nol (H_0) ditolak dan dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok, sedangkan $p > 0,05$

menunjukkan H_0 diterima sehingga tidak ada perbedaan signifikan (Monoarfa *et al.*, 2022).

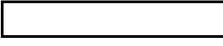
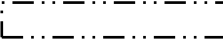
2.11 Kerangka Konseptual

2.11.1 Kerangka Konsep

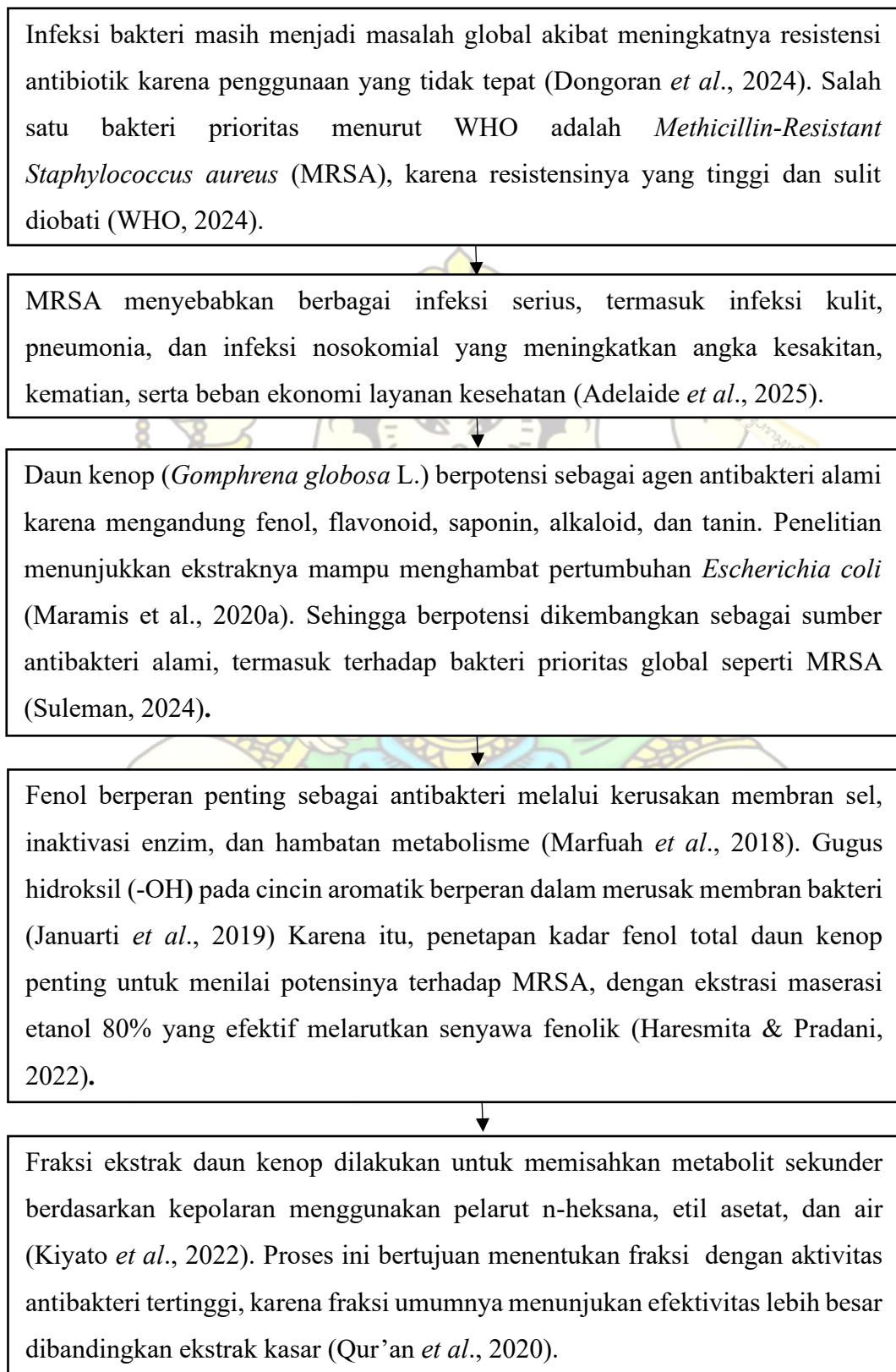


Gambar 2.4: Skema Kerangka Konsep

Keterangan

Variable bebas = 
 Variable terkontrol = 
 Variable terikat = 

2.11.2 Kerangka Teori



↓

Fraksi ekstrak daun kenop dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).

Gambar 2.5: Skema Kerangka Teori

2.11.3 Hipotesis

1. Diduga fraksi ekstrak daun kenop (*Gomphrena globosa* L.) memiliki kadar fenol total yang berbeda pada setiap jenis fraksi.
2. Diduga fraksi ekstrak daun kenop (*Gomphrena globosa* L.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).

