

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI ANTIBAKTERI DAUN PUDING HITAM (*GRAPTOPHYLLUM PICTUM* L.) TERHADAP BAKTERI *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Agnia Safadini¹, Ardi Mustakim²

agniasafadini36@gmail.com¹

Universitas Adiwangsa Jambi

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antibakteri ekstrak daun puding hitam (*Graptophyllum pictum* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Metode yang digunakan adalah difusi cakram pada media Nutrient Agar (NA) dengan variasi konsentrasi ekstrak 20 g, 30 g, dan 50 g, serta kontrol negatif. Proses inkubasi dilakukan selama 7 hari dengan pengamatan bertahap pada hari ke-1, 3, 5, dan 7. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun puding hitam mampu menghambat pertumbuhan *S. Aureus*, ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar cakram, di mana konsentrasi 50 g menghasilkan zona hambat terbesar. Pewarnaan Gram menunjukkan bahwa bakteri uji merupakan Gram positif berbentuk kokus. Aktivitas antibakteri ini diduga berasal dari senyawa fitokimia seperti flavonoid, tanin, alkaloid, saponin, dan glikosida. Dengan demikian, *Graptophyllum pictum* L. Berpotensi sebagai sumber antibakteri alami yang efektif, khususnya terhadap infeksi kulit yang disebabkan oleh *S. Aureus*.

Kata Kunci: *Graptophyllum Pictum*, Antibakteri, *Staphylococcus Aureus*, Difusi Cakram, Zona Hambat.

ABSTRACT

*This study aims to test the antibacterial activity of black pudding leaf extract (*Graptophyllum pictum* L.) against *Staphylococcus aureus* bacteria. The method used is disc diffusion on Nutrient Agar (NA) media with variations in extract concentrations of 20 g, 30 g, and 50 g, as well as negative controls. The incubation process was carried out for 7 days with gradual observations on days 1, 3, 5, and 7. The results showed that black pudding leaf extract was able to inhibit the growth of *S. Aureus*, indicated by the formation of a clear zone around the disc, where a concentration of 50 g produced the largest inhibition zone. Gram staining showed that the test bacteria were Gram-positive in the form of cocci. This antibacterial activity is thought to come from phytochemical compounds such as flavonoids, tannins, alkaloids, saponins, and glycosides. Thus, *Graptophyllum pictum* L. Has the potential to be an effective source of natural antibacterials, especially against skin infections caused by *S. Aureus*.*

Keywords: *Graptophyllum Pictum*, Antibacterial, *Staphylococcus Aureus*, Disc Diffusion, Inhibition Zone.

PENDAHULUAN

Tanaman puding hitam (*Graptophyllum pictum* L.) adalah jenis tumbuhan liar yang kerap dijumpai di wilayah pedesaan, baik tumbuh secara alami maupun sengaja dibudidayakan sebagai tanaman hias atau tanaman obat. Bagian tanaman yang umum dimanfaatkan untuk mengobati luka adalah daunnya (Astryana, Dida., dan Annisa., 2022). Secara tradisional, masyarakat telah memanfaatkan daun puding hitam sebagai obat antiinflamasi untuk mengatasi pembengkakan, luka, dan bisul. Cara penggunaannya adalah dengan menumbuk daun tersebut bersama sedikit air hingga halus, lalu mengoleskannya pada area yang terluka, bengkak, atau terdapat bisul (Rikomah dan Elmitra, 2018).

Isolasi mikroorganisme merupakan proses pengambilan mikroorganisme dari habitat alaminya untuk kemudian ditumbuhkan pada media tertentu. Tujuan utama dari isolasi ini adalah memisahkan satu jenis mikroorganisme dari jenis lainnya yang terdapat dalam campuran berbagai mikroba. Untuk menyeleksi mikroorganisme dari lingkungan, salah satu

media yang digunakan adalah Medium Tauge Ekstrak Agar (TEA). (Taib, dkk. 2023).

Dalam melakukan isolasi, ada beberapa aspek penting yang perlu diperhatikan, antara lain: karakteristik mikroorganisme yang akan diisolasi, sumber atau tempat asal mikroba, pemilihan media pertumbuhan yang sesuai, teknik inokulasi, metode inkubasi, serta cara untuk memastikan bahwa mikroorganisme yang diperoleh merupakan kultur murni dan sesuai dengan yang diharapkan. Selain itu, penting juga untuk mengetahui cara menjaga kemurnian kultur tersebut agar tetap stabil (Jufri, 2020).

Salah satu metode dalam mengklasifikasikan bakteri adalah melalui pewarnaan Gram, yang membedakan bakteri menjadi dua jenis, yaitu Gram positif dan Gram negatif. Bakteri Gram positif akan tampak berwarna ungu, sedangkan Gram negatif berwarna merah (NauE et al., 2022). Teknik pewarnaan Gram merupakan prosedur yang sering digunakan dalam identifikasi bakteri, karena memungkinkan untuk mengetahui karakteristik sel seperti tipe Gram, bentuk morfologi, dan susunan sel (Yuniarty & Misbach, 2016).

Tujuan utama pewarnaan bakteri adalah untuk memberikan warna pada sel atau bagian tertentu agar lebih kontras dan mudah diamati. Pewarnaan Gram sendiri merupakan teknik pewarnaan yang sangat penting dalam proses identifikasi bakteri. Dalam metode ini, preparat bakteri yang telah difiksasi akan diberi larutan kristal violet, diikuti oleh yodium sebagai pengikat warna, kemudian dicuci menggunakan alkohol sebagai agen dekolorisasi, dan akhirnya diberi pewarna tandingan seperti safranin atau fuchsin. Bakteri Gram positif akan mempertahankan warna ungu dari kristal violet, sedangkan bakteri Gram negatif akan kehilangan warna tersebut dan menyerap pewarna tandingan sehingga tampak merah muda (Susanto, 2016).

Penelitian yang dilakukan oleh Fauzi (2016) membuktikan bahwa ekstrak etanol dari daun puding hitam pada konsentrasi 25 mg/ml mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Selain itu, secara ilmiah juga telah dibuktikan melalui penelitian bahwa daun puding hitam memiliki efek antiinflamasi pada hewan uji (Rikomah et al., 2017).

Salah satu tanaman yang dimanfaatkan sebagai agen antibakteri adalah daun puding hitam (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff), yang terbukti efektif melawan bakteri *Escherichia coli* dengan nilai KHM sebesar 0,23 µg/mL. Senyawa yang berperan dalam aktivitas antibakterinya meliputi alkaloid, saponin, tanin, flavonoid, dan glikosida (Rikomah., Yuska., dan Wahyu., 2017).

Staphylococcus aureus merupakan salah satu bakteri patogen yang paling dikenal dan tersebar luas, yang menyebabkan berbagai infeksi kulit ringan dalam jumlah besar, serta diperkirakan menimbulkan ratusan ribu hingga jutaan kasus infeksi invasif yang lebih serius di seluruh dunia setiap tahunnya (Cheung., Justin., and Michael., 2021).

Penyakit infeksi merupakan jenis penyakit yang ditimbulkan oleh mikroorganisme patogen, seperti bakteri atau jamur. Beberapa bakteri yang sering menginfeksi manusia antara lain *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*. *S. Aureus* sendiri merupakan bakteri Gram positif berbentuk bulat (kokus) dan tidak memiliki kemampuan bergerak (nonmotil), yang umumnya ditemukan pada infeksi kulit serta jaringan lunak (Bilung et al., 2018).

Pewarnaan Gram adalah salah satu metode pewarnaan yang sangat penting dalam proses identifikasi bakteri. Dalam teknik ini, bakteri yang terdapat dalam suspensi difiksasi pada kaca objek melalui pemanasan singkat, lalu diberi dua jenis pewarna yang membentuk kompleks pewarna berwarna biru besar di dalam setiap sel. Saat kaca objek dibilas menggunakan larutan alkohol, bakteri Gram positif akan tetap mempertahankan warna biru, sedangkan bakteri Gram negatif akan kehilangan warna tersebut. Setelah itu, pewarna merah muda yang lebih lemah ditambahkan, sehingga bakteri Gram negatif akan terlihat merah

muda, sementara bakteri Gram positif tetap berwarna biru. Proses pewarnaan Gram ini bergantung pada perbedaan struktur dinding sel bakteri, perbedaan yang dapat diamati melalui mikroskop elektron (Harahap, 2021).

METODE

Penelitian ini merupakan, penelitian kualitatif deskriptif yang dilakukan pada 21 Mei – 12 Juni 2025 dilaboratorium mikrobiologi, fakultas kedokteran dan ilmu kesehatan, Universitas Adiwangsa Jambi. Tujuannya adalah mengisolasi dan mengidentifikasi aktifitas antibakteri Daun Puding Hitam (*Graptophilumphyllum pictum* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus Aureus*.

Alat

Alat yang digunakan antara lain cawan petri, gelas ukur, kasa, mortal dan alu, pipet tetes, rak tabung reaksi, plastik wrap, spuit, tabung reaksi, dan timbangan.

Bahan

Bahan yang digunakan meliputi aquadest, etanol, kertas cakram, media NA dalam cawan petri, daun puding hitam.

Koloni yang berkembang diamati secara mikroskopis untuk menilai morfologinya. Beberapa koloni kemudian dipilih untuk dilakukan pewarnaan gram. Proses pewarnaan ini melibatkan penggunaan kristal violet, iodin, alkohol, dan safranin. Setelah itu, preparat diamati dibawah mikroskop menggunakan minyak emersi guna mengidentifikasi bentuk serta karakteristik gram dari mikroorganisme tersebut.

Pembuatan Ekstrak *Graptophilumphyllum pictum* L.

Langkah awal praktikum dimulai dengan memilih daun *Graptophilumphyllum pictum* L. yang masih segar, sebelum ditimbang dicuci terlebih dahulu hingga bersih, lalu daun dikeringkan menggunakan tisu. Setelah kering tulang tengah daun dipisahkan dengan daunnya, kemudian ditimbang terlebih dahulu menjadi tiga bagian yaitu dengan berat 50, 30, dan 20 gram. Setelah ditimbang kemudian digerus sampai halus menggunakan mortal dan alu.



Gambar 1: penimbangan sampel daun puding hitam

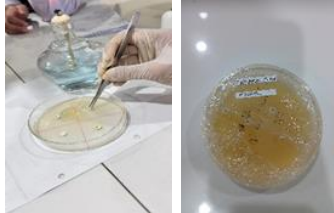
Setelah halus ditimbang kembali menjadi tiga bagian yaitu 50, 30, dan 20 gram. lalu dipisahkan menjadi tiga bagian. Hasil gerusan daun puding hitam tersebut di ambil sebanyak 50 gram daun pudding hitam yang sudah digerus, kemudian tambahkan etanol sebanyak 10 ml dan aquadest sebanyak 4 ml, selanjutnya daun pudding hitam dengan berat 30 gram yang sudah digerus, kemudian tambahkan etanol sebanyak 6 ml dan aquadest sebanyak 3 ml, dan yang terakhir untuk berat 20 gram yang sudah digerus tambahkan etanol sebanyak 3 ml dan aquadest sebanyak 1,5 ml. Setelah itu, sampel daun pudding hitam yang telah dicampur dengan etanol dan aquadest diaduk kemudian disaring menggunakan kasa, setelah itu dituangkan kedalam tabung reaksi.



Gambar2: Proses penghalusan dan pencampuran etanol dan aquadest

Proses Penanaman Kertas Cakram

Pada proses ini, permukaan cawan petri dibagi menjadi 4 bagian secara merata, lalu diberi label konsentrasi 50, 30, dan 20, dan kontrol. Cakram kertas direndam terlebih dahulu didalam ekstrak daun puding hitam selama beberapa menit, setelah itu letakkan masing-masing kertas cakram yang telah direndam dengan masing- masing konsentrasi di atas media NA dan cakram kertas sebagai kontrol diletakkan di atas media NA.



Gambar 3: Peletakan Blank Disk dan wrapping

Proses Inkubasi

Proses ini dimulai dengan menutup cawan petri yang telah diinokulasi dengan menggunakan Tahapan inkubasi diawali dengan menutup rapat cawan petri yang telah diinokulasi, kemudian dibungkus menggunakan plastik wrap untuk menjaga kondisi tetap steril. Setelah itu, cawan petri ditempatkan di dalam inkubator pada suhu ruang. Proses inkubasi dilakukan secara berkala guna mengevaluasi pengaruh ekstrak daun puding hitam terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada berbagai rentang waktu, yaitu setelah 24 jam, hari ke-3, hari ke-5, dan hari ke-7. Pada setiap periode pengamatan, pertumbuhan koloni bakteri diamati secara visual dan dicatat, termasuk perubahan warna media, tingkat kejernihan, serta pola penyebaran koloni. Selain itu, dokumentasi berupa foto juga dilakukan di setiap waktu pengamatan untuk mendukung hasil evaluasi terhadap efektivitas antibakteri dari ekstrak daun puding hitam.



Gambar 4: isolasi dan identifikasi mikroorganisme ekstrak daun puding hitam

Proses Pengecatan Dan Pengamatan Bakteri

Proses pengecatan diawali dengan memfiksasi preparat bakteri *Staphylococcus aureus* di atas kaca objek menggunakan nyala api bunsen untuk menempelkan sel bakteri secara permanen. Selanjutnya, sediaan ditetesi larutan kristal violet sebagai pewarna utama selama 1–3 menit, kemudian dibilas dengan air mengalir. Setelah itu, larutan iod digunakan selama sekitar satu menit sebagai zat pengikat (mordant) untuk membentuk kompleks pewarna yang lebih stabil dalam dinding sel.

Langkah berikutnya adalah proses dekolorisasi dengan menggunakan larutan alkohol-aseton selama kurang lebih 30 detik. Karena *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif yang memiliki dinding sel tebal dari peptidoglikan, kompleks pewarna tidak mudah larut sehingga warna ungu tetap bertahan. Pewarnaan ditutup dengan penambahan larutan safranin selama 1–3 menit sebagai pewarna sekunder, lalu preparat dibilas dan dikeringkan.



Gambar 5: Hasil pengamatan

Setelah semua tahapan selesai, preparat diamati di bawah mikroskop. Bakteri *Staphylococcus aureus* yang merupakan Gram positif akan tampak berwarna ungu karena mampu mempertahankan warna kristal violet meskipun telah melewati proses dekolorisasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari ekstrak daun puding hitam (*Graptophyllum pictum* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Uji dilakukan menggunakan metode difusi cakram pada media Nutrient Agar (NA), dengan tiga konsentrasi ekstrak berbeda yaitu 50 gram, 30 gram, dan 20 gram, serta satu cakram sebagai kontrol negatif yang tidak diberi perlakuan. Cakram kertas direndam ke dalam larutan ekstrak, lalu diletakkan di atas media yang telah diinokulasi bakteri uji.

Proses inkubasi berlangsung selama 7 hari, dengan pengamatan dilakukan pada hari pertama (24 jam), hari ke-3, ke-5, dan ke-7. Hasil menunjukkan adanya zona bening di sekitar cakram yang menandakan adanya hambatan pertumbuhan bakteri. Konsentrasi 50 gram menghasilkan zona hambat paling besar, disusul oleh 30 gram dan 20 gram. Sementara pada cakram kontrol tidak ditemukan zona hambat sama sekali.

Pewarnaan Gram terhadap koloni menunjukkan bahwa *Staphylococcus aureus* menyerap warna ungu, yang menunjukkan bahwa bakteri tersebut merupakan Gram positif dan berbentuk bulat (kokus). Temuan ini mendukung keberhasilan identifikasi bakteri serta efektivitas ekstrak daun puding hitam dalam menghambat pertumbuhannya.

Berdasarkan hasil penelitian, ekstrak daun puding hitam terbukti memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*. Adanya zona bening di sekitar cakram menunjukkan bahwa ekstrak mengandung senyawa bioaktif yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Senyawa fitokimia yang berperan dalam aktivitas ini kemungkinan meliputi flavonoid, tanin, saponin, alkaloid, dan glikosida yang diketahui memiliki efek antibakteri.

Variasi konsentrasi ekstrak memberikan pengaruh terhadap luasnya zona hambat, di mana konsentrasi tertinggi memberikan efek paling signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa efektivitas antibakteri meningkat seiring dengan bertambahnya jumlah senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak.

Efektivitas yang lebih tinggi pada *Staphylococcus aureus* juga berkaitan dengan struktur dinding sel bakteri Gram positif yang lebih mudah ditembus oleh senyawa antibakteri dibandingkan bakteri Gram negatif. Karena dinding sel *S. Aureus* bersifat lebih sederhana, bakteri ini lebih rentan terhadap pengaruh senyawa aktif dalam ekstrak daun puding hitam.

Secara keseluruhan, hasil ini menguatkan penelitian terdahulu yang menyatakan bahwa *Graptophyllum pictum* memiliki potensi sebagai sumber antibakteri alami. Di tengah meningkatnya resistensi bakteri terhadap antibiotik konvensional, tanaman ini dapat menjadi salah satu alternatif terapi alami.

KESIMPULAN

Hasil penelitian membuktikan bahwa ekstrak daun puding hitam (*Graptophyllum pictum* L.) memiliki kemampuan antibakteri yang signifikan terhadap *Staphylococcus aureus*. Hal ini terlihat dari terbentuknya zona jernih di sekitar cakram kertas yang direndam dalam ekstrak dan diletakkan pada media Nutrient Agar, yang menandakan terhambatnya pertumbuhan bakteri. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan (50 gram), semakin besar pula diameter zona hambat yang terbentuk, menunjukkan hubungan langsung antara peningkatan konsentrasi dan efektivitas antibakteri.

Pewarnaan Gram terhadap bakteri uji menunjukkan bahwa *Staphylococcus aureus* termasuk dalam kelompok bakteri Gram positif, yang memiliki dinding sel lebih mudah ditembus oleh senyawa antibakteri. Efek penghambatan tersebut kemungkinan besar dipengaruhi oleh kandungan senyawa fitokimia aktif dalam ekstrak daun seperti flavonoid, tanin, alkaloid, saponin, dan glikosida.

Dengan temuan ini, *Graptophyllum pictum* L. Memiliki potensi besar sebagai sumber antibakteri alami, khususnya sebagai solusi alternatif dalam mengatasi infeksi kulit akibat *Staphylococcus aureus*, di tengah meningkatnya resistensi terhadap antibiotik sintetis.

DAFTAR PUSTAKA

- Ali, I. et al. 2010. In vitro antifungal activity of hydroxychavicol isolated from Piper betle L. Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob. 9 (7).
- Andayani R. Umi, Y dan Dina. M., 2015. Uji Efektivitas Ekstrak Daun Ungu (*Graptophyllum pictum* L.) Sebagai Penyembuhan Luka. Jurnal Prosiding Penelitian Spesia Unisba. Vol 5. No 5. Hal 311-315.
- Ariyanti NK, Ida GD, Sang KS. Daya Hambat Ekstrak Kulit Daun Lidah Buaya (*Aloe barbadensis* Miller) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Atcc 25923 Dan *Escherichia coli* Atcc 25922. Jurnal Biologi XVI. 2012;(1):1–4.
- Bilung, L. M., Ahmad, S. T., Rosdi, K., Aina, A. M. R., & Kasing, A. (2018). High Occurrence of *Staphylococcus aureus* Isolated from Fitness Equipment from Selected Gymnasiums. Journal of Environmental and Public Health. 4592830.
- Cheung, G. Y. C., Bae, J. S. & Otto, M. 2021. Pathogenicity and virulence of *Staphylococcus aureus*. Virulence 12, 547–569
- Fauzi. D. 2016. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Ungu (*Graptophyllum pictum* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Skripsi. Universitas Atma Jaya Yogyakarta Fakultas Teknologi, Program Studi Biologi Yogyakarta
- Jufri, R. F. (2020). Microbial Isolation. Journal La Lifesci, 1(1), 18-23. <https://doi.org/10.37899/journallalifes ci.v1i1.33>.
- Harahap, D. G. S., Ariyani, N, Rudy, H., Nur, A. Y., & Endik, D., N. (2021). Dasardasar Mikrobiologi dan Penerapannya. Bandung: Widina Bhakti Persada Bandung.
- NauE, D. B., dkk. (2022). Buah BIT (*Beta vulgaris* L.) Sebagai Alternatif Safranin Pada Pewarnaan Gram. Husada Mahakam: Jurnal Kesehatan, Vol 24(12), 19-24.
- Rikomah,Yanti, Y. N., Juarsah, W. 2017. Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Puding Hitam (*Graptophyllum pictum* L.). Pada Pertumbuhan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Jurnal Sain dan Teknologi Farmasi. Vol.19 No.1 Hal 22-26.
- Rikomah S, E. Elmitra. 2018. Formulasi Sediaan Krim Ekstrak Etanol Puding Hitam (*Graptophyllum pictum* L.) Jurnal Katalisator Vol.3 No.1 Hal.43-52.
- Sari. A dan Amy. M. 2016. Formulasi Sediaan Salep Ekstrak Etanol Rimpang Kunyit (*Curcuma longa* Linn). Jurnal SEL. Vol.3 No.1 Hal 16-23.
- Susanto, H. (2016). Pemeriksaan Protozoa, Helminthes. Depok : PPPPTK Bisnis dan Pariwisata .

- Taib, E.N., dkk. 2023. Isolasi dan Identifikasi Mikroba pada Tanah Bekas Pertumbuhan Bawang Merah (*Allium cepa* L.). Jurnal Biologi Edukasi. Vol. 15, No. 2: 96-104.
- Yuniarty, T., & Misbach, S. R. (2016). Pemanfaatan Sari Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas* poitret) Sebagai Bahan Zat Pewarna Pada Pewarnaan *Staphylococcus aureus*. Jurnal Teknologi Laboratorium, Vol 5(2), 59-63.