

## UJI DAYA HAMBAT DAUN *Harrisonia perforata* Merr. TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Escherichia coli* DAN *Salmonella typhi*

Irna Olvaliani Aimang<sup>1</sup>, Ramadhanil Pitopang<sup>2</sup>, Syariful Anam<sup>3</sup> dan Ivan<sup>4</sup>

<sup>1), 2)</sup> Jurusan Biologi Fakultas MIPA, Universitas Tadulako Kampus Bumi Tadulako Tondo Palu, Sulawesi Tengah 94117

<sup>3), 4)</sup> Laboratorium Fitokimia-Farmakognosi Program Sudi Farmasi Fakultas MIPA, Universitas Tadulako Kampus Bumi Tadulako Tondo Palu, Sulawesi Tengah 94117

### ABSTRACT

Research of inhibition test of leaves extract of *Harrisonia perforata* Merr. against to the growth of *Escherichia coli* and *Salmonella thypi* had been conducted during period of March to May 2014. The aim of this research was to gain the effectivity of leaves extract to inhibit the growth of *E. coli* dan *S.thypi*. Maceration method was used as the extraction method and Agar Diffusion method. The research was design by Completely Randomized Design with four(4) treatments and three(3) replications (for both bacterias). The treatments were leaves extract concentrate 15% 10%, 15%, and positive control (2 mg of Ciprofloxacin for *E.coli* and 2 mg Cloramfenikol for *S.thypi*). The result showed that leaves extract of *H. perforata* Merr. had inhibition effect to the growth of bacterias. The extract concentrate 15% produced the biggest inhibition zone for both *E. coli* and *S. thypi* (20,9 mm and 19,3 mm respectively) than other concentrates.

*Keywords* : Extract concentration, *Harrisonia perforata* Merr., Bacterial inhibition zone, *Escherichia coli*, *Salmonella thypi*.

### PENDAHULUAN

Infeksi merupakan masalah yang sering dijumpai dalam kehidupan sehari-hari. Kondisi ini disebabkan oleh mikroba patogen, contohnya *Salmonella typhi* dapat menyebabkan penyakit demam typhus, sedangkan *Escherichia coli* dapat menyebabkan diare akut, serta penyebab utama infeksi saluran kemih (Jawetz dkk., 1996). Penyakit yang disebabkan oleh infeksi ini biasanya diatasi dengan menggunakan antibiotik. Pemakaian obat sintesis seperti antibiotik ini memiliki banyak efek samping seperti alergi dan

gangguan pencernaan, sehingga penggunaan obat-obatan berbahan baku herbal lebih disarankan (Oktora dkk., 2006).

Penyakit diare masih merupakan jenis penyakit dengan angka yang tinggi di masyarakat pada Negara berkembang seperti di Indonesia. Data terakhir yang diperoleh dari departemen kesehatan yaitu pada tahun 2010 terjadi KLB (Kejadian Luar Biasa) diare di 33 kecamatan dengan jumlah penderita 4204 dengan kematian 73 orang (Departemen Kesehatan, 2011).

Untuk tifoid di Indonesia jarang dijumpai secara epidemis tetapi bersifat endemis serta banyak dijumpai di kota-kota besar. Tidak ada perbedaan yang nampak jelas untuk tifoid pada pria dan wanita. Namun kejadian tertinggi didapatkan pada remaja dan dewasa muda. Simajuntak (1993) mengatakan bahwa penyakit tifoid di Indonesia masih sangat tinggi yaitu berkisar 350-810 orang per 10.000 penduduk. Begitu pula dari data yang diterima di rumah sakit besar di Indonesia, menunjukkan angka penderita cenderung meningkat setiap tahunnya dengan rata-rata 500/100.000 penduduk. Angka kematian diperkirakan sekitar 0,6-5% sebagai akibat dari keterlambatan pengobatan serta tingginya biaya pengobatan (Departemen Kesehatan, 2011).

Salah satu manfaat dari tumbuhan obat adalah dapat digunakan sebagai antibakteri, yang memiliki kemampuan untuk melawan bakteri. Di daerah tropis seperti Indonesia, penyakit yang disebabkan oleh bakteri pathogen memiliki peringkat yang cukup tinggi dalam urutan penyakit yang diderita masyarakat (Sjoekoer dkk., 2003).

*Harrisonia perforata* Merr. Merupakan salah satu jenis tumbuhan yang sangat banyak hidup di daerah tropis seperti di Sulawesi Tengah (Palu). Tumbuhan ini dapat digunakan sebagai antimalaria (Bremner, 1992). Sedangkan pada Negara berkembang yaitu Afrika, sebagian besar masyarakat disana menggunakan organ tumbuhan mulai dari daun sebagai anti diare dan rebusan kulit batang hingga akar dijadikan sebagai anti diare, disentri dan kolera (Nooteboom, 1972). Namun pemanfaatan

akan tumbuhan ini masih kurang di masyarakat khususnya Sulawesi Tengah (Palu), hal ini mendorong perlu dilakukan penelitian uji daya hambat ekstrak daun tumbuhan *H. perforata* Merr. terhadap bakteri *E. Coli* dan *S. Typhi* untuk penyakit gangguan system pencernaan.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Fitokimia-Farmakognosi Prodi Farmasi FMIPA UNTAD dan UPT Laboratorium Kesehatan Provinsi Sulawesi Tengah. Metode yang digunakan yaitu eksperimental, yang didesain dengan model Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan (3 konsentrasi ekstrak daun yang sama untuk kedua jenis bakteri dan 1 kontrol positif yang berbeda untuk kedua bakteri *E. Coli* menggunakan Ciprofloxacin 2 mg dan *S. Typhi* menggunakan Cloramfenikol 2 mg. Perlakuan diulangi sebanyak 3 kali ulangan dari masing-masing bakteri *E. coli* dan *S. typhi*.

### a. Pengambilan Sampel Daun Tumbuhan *H. perforata* Merr.

Pengambilan dan pengumpulan daun tumbuhan *H. perforata* Merr. diperoleh di Kelurahan Tondo, Palu (Sulawesi Tengah).

### b. Metode Ekstraksi Sampel Batang Tumbuhan *H. perforata* Merr.

Daun muda *H. perforata* Merr. yang telah diambil ditimbang sebanyak 800 g guna mengetahui berat basah dari simplisia dan dibersihkan terlebih dahulu (sortasi basah), kemudian dicuci pada air yang mengalir sampai bersih, selanjutnya daun tersebut kemudian

dirobek-robek sampai berukuran kecil dan dikeringkan dengan menggunakan oven. Daun yang telah kering dihaluskan dengan menggunakan blender dan diayak menggunakan mesh 40 maka diperoleh bentuk struktur daun yang sangat halus. Setelah itu simplisia ditimbang kembali dan diperoleh berat kering 472 g. Simplisia tersebut langsung di rendam dengan menggunakan pelarut etanol 96 % dan didiamkan selama 5 hari. Setelah 5 hari, hasil ekstraksi di saring dan langsung dipisahkan antara pelarut dengan ekstrak yang menggunakan alat rotari evaporator sehinggalah hasil ekstrak sebanyak 50 g. Adapun waktu dan suhu yang diperlukan dalam pengeringan di dalam oven yaitu selama 8 jam pada suhu 40°C dengan jumlah kadar air kurang lebih 5 % (Ajizah, 2004).

### c. Skrining Fitokimia

#### 1. Alkaloid

Ekstrak sebanyak 0,5 g dimasukkan ke dalam gelas piala, ditambah dengan HCl 2M dan dipanaskan selama 5 menit di atas penangas air. Kemudian aduk saring dan dinginkan hingga suhu kamar. NaCl serbuk ditambahkan, diaduk dan disaring, kemudian filtrat ditambah HCl 2M setelah itu ditambahkan pereaksi Wagner. Jika terbentuk warna coklat, terjadi kekeruhan dan endapan menunjukkan hasil positif (Astuti, 2006).

#### 2. Uji Flavonoid

Ekstrak sebanyak 0,5 g ditambahkan aquades dan dilarutkan dengan serbuk Mg

sebanyak 0,1 mg, lalu ditambahkan HCl. Adanya flavonoid, diindikasikan dari terbentuknya warna pink atau merah bata dalam waktu 3 menit (Resi & Surgani, 2009).

#### 3. Saponin

Ekstrak 0,5 g dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambahkan air dan dipanaskan di *water bath*. Adanya saponin ditandai dengan terbentuknya buih (Figen, 2006).

#### 4. Tanin

Ekstrak sebanyak 0,5 g diaduk dengan 10 ml aquadest, disaring dan ditambahkan reagen FeCl<sub>3</sub>. Warna hijau kehitaman menunjukkan positif adanya tanin (Astuti, 2006).

#### 5. Fenolik

Ekstrak sebanyak 0,5 g ditambahkan larutan FeCl<sub>3</sub> 1%. Adanya senyawa kelompok fenol ditandai dengan munculnya warna hijau, merah, ungu, atau hitam (Astuti, 2006).

### d. Pembuatan Stok Ekstrak

Penelitian ini dilakukan pembuatan stok ekstrak 10 ml pada masing-masing konsentrasi ekstrak 5%, 10%, dan 15%. Pada konsentrasi 5% menggunakan 0,5 g ekstrak kental dan ditambahkan 10 ml aquades. Untuk konsentrasi 10% menggunakan 1 g ekstrak kental dan ditambahkan 10 ml aquades, sedangkan pada konsentrasi 15% menggunakan 1,5 g ekstrak kental dan ditambahkan 10 ml aquades.

### e. Pembuatan Suspensi Bakteri

Prosedur kerja pembuatan suspensi bakteri pada penelitian ini

bakteri *E. coli* dan *S. typhi* yang telah dibiakkan pada medium NA miring diambil sekitar 3 hingga 5 koloni dengan menggunakan jarum ose steril dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisikan 10 ml larutan NaCl fisiologi. Kemudian dilakukan proses inkubasi selama 2 jam menit pada suhu 37°C dan terbentuk kekeruhan. Kekeruhan suspensi bakteri diukur menggunakan turbidimeter hingga terbentuk larutan yang kekeruhannya setara dengan larutan standart Mc Farland 1 dengan konsentrasi bakteri  $3 \times 10^8$  CFU/ ml. Jumlah bakteri telah memenuhi syarat untuk uji kepekaan yaitu :  $10^5 - 10^8$  CFU/ ml (Biesher, 1983; Kingscote, 1989; Carter dan Cole, 1990).

#### f. Uji Daya Hambat

Konsentrasi ekstrak pada pengujian daya hambat ini ialah 5%, 10%, dan 15% dan setiap perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Adapun langkah-langkahnya adalah sebagai berikut :

1. sebanyak 1 ml Suspensi bakteri *E. coli* dan *S. thypipada* larutan NaCl 0,9% dimasukkan ke dalam cawan petri steril.
2. Mediun NA dicairkan dengan proses pemanasan, lalu dituangkan sebanyak 20 ml ke dalam cawan petri yang telah berisikan suspensi bakteri, dan digoyang-goyangkan membentuk angka 8. Tujuannya ialah agar suspensi dan medium NA tersebut tercampur hingga merata.
3. Setelah padat, dilakukan uji ekstrak daun dengan metode sumur. Pada metode sumur ini, media yang telah

padat dilubangi menyerupai sumur dengan menggunakan alat pelubang steril.

4. Ekstak daun dimasukkan ke dalam lubang sebanyak 100 µl dengan beberapa konsentrasi yaitu 5%, 10%, dan 15% pada tiap cawan yang berbeda. Dan langsung dimasukkan ke dalam inkubator untuk proses inkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C.
5. Cawan petri yang dimasukkan ke dalam inkubator harus berhati-hati dan semua perlakuan yang dilakukan harus selalu dalam keadaan steril.

#### g. Pengamatan Zona Hambat

Pengamatan zona hambat dilakukan dengan cara mengukur diameter zona hambat dari masing-masing perlakuan dengan menggunakan jangka sorong. Pengukuran dilakukan pada tiap cawan yang masing-masing dari pengujian ekstrak daun terdapat 3 konsentrasi yaitu 5 %, 10 %, dan 15 % dengan tambahan kontrol positif.

#### h. Analisis Data

Data kuantitatif yang diperoleh dari pengukuran, kemudian dianalisis secara statistik menggunakan software statistik *Two way Analisis Of Varian (Two way ANOVA)*. Data yang diperoleh menunjukkan perbedaan yang nyata dilanjutkan dengan uji lanjut Duncan's Multiple Range Test (DMRT).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

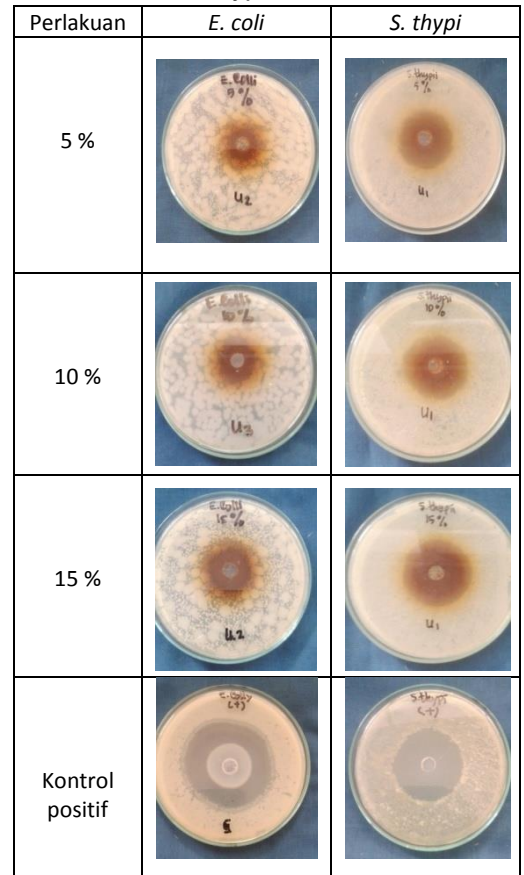
Pemberian ekstrak daun tumbuhan *H. Perforata* Merr. dengan berbagai konsentrasi (5%, 10%, 15%) dan kontrol

positif, Ciprofloxacin 2 mg untuk *E. coli* dan *S. Typhi* menggunakan Cloramfenikol 2 mg, menunjukkan adanya daya hambat ekstrak terhadap pertumbuhan bakteri tersebut (Tabel 1 dan 2).

Hasil Pengamatan pada pemberian konsentrasi ekstrak daun 15 % pertumbuhan bakteri *E.coli* menghasilkan diameter zona hambat rata-rata yang lebih besar (20,9 mm) dibandingkan dengan pemberian konsentrasi lainnya (Tabel 1 dan Gambar 1). Namun demikian zona hambat pada konsentrasi tersebut masih lebih kecil dibandingkan dengan daya hambat yang terbentuk pada kontrol positif Ciprofloxacin (50,97 mm). Sedangkan untuk daya hambat paling kecil terjadi pada pemberian konsentrasi ekstrak paling rendah (5%) yaitu 17,77 mm.

Pada pengamatan zona daya hambat bakteri *S. Thypi* (Tabel 2 dan Gambar 1), diameter zona hambat ekstrak terhadap pertumbuhan bakteri yang paling besar juga pada konsentrasi 15% (19,3 mm) dan terkecil (17,1 mm) pada pemberian konsentrasi ekstrak 5% dengan kontrol positif Cloramfenikol dengan zona daya hambat yang terbentuk yaitu 35,8 mm.

Gambar 1. Hasil Uji Daya Hambat Ekstrak Daun *H. perforata* terhadap Pertumbuhan Bakteri *E. coli* dan *S. typhi*

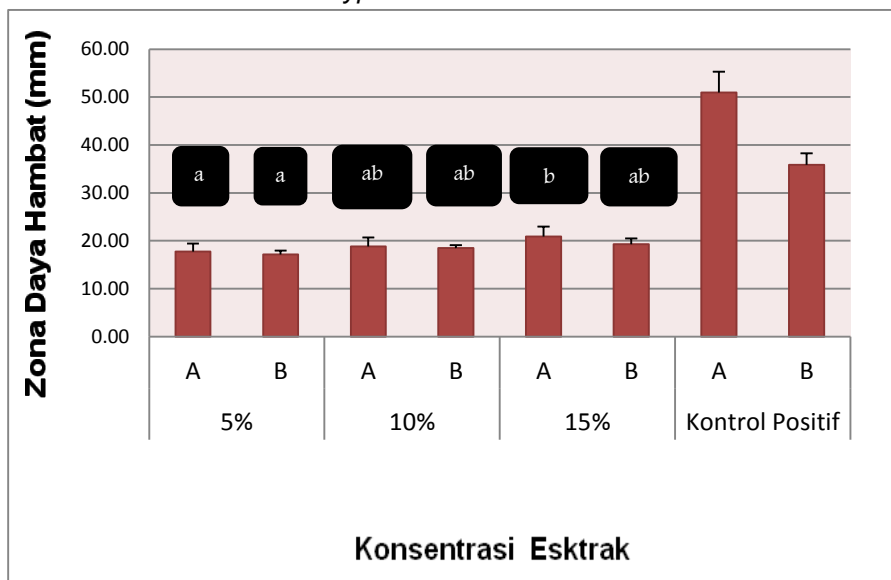


Tabel 1. Zona hambat daun terhadap pertumbuhan bakteri *E.coli*

Konsentrasi	Pengamatan Zona Hambat Tiap Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	U 1	U 2	U 3		
5%	19.7	16.6	17	53.3	17.77
10%	21	17.5	20	58.5	19.5
15%	23.3	20	19.4	62.7	20.9
Kontrol Positif	47.2	55.7	50	152.9	50.97

Tabel 2. Zona hambat daun terhadap pertumbuhan bakteri *S. typhi*

Konsentrasi	Pengamatan Zona			Jumlah	Rata-rata
	Hambat Tiap Ulangan				
	U 1	U 2	U 3		
5%	19.7	16.6	17	53.3	17.77
10%	21	17.5	20	58.5	19.5
15%	23.3	20	19.4	62.7	20.9
Kontrol Positif	47.2	55.7	50	152.9	50.97

Gambar 2. Grafik zona hambat ekstrak daun *H. perforata* Merr. terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. Typhi*

Keterangan : Notasi dengan huruf yang sama menunjukkan pengaruh zona daya hambat yang tidak berbeda. Dengan A adalah bakteri *E. coli* dan B adalah bakteri *S. Typhi*.

Adanya zona daya hambat pada bakteri *E.coli* dan *S. thypi* dikarenakan pada hasil skrining fitokimia (Tabel 3) daun *H. perforata* Merr. menunjukkan adanya kandungan senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, dan fenolik dengan ditandai adanya perubahan warna, terbentuknya endapan serta busa pada setiap senyawa yang berbeda yang mampu berperan sebagai

antibakteri. Hal tersebut didukung oleh Schlegel (1993), yang mengatakan bahwa setiap golongan senyawa memberikan efek yang berbeda dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Adanya perbedaan aktivitas yang terjadi disebabkan oleh metabolit sekunder yang terkandung memiliki efek sinergis yang berbeda tergantung dari sifat dan morfologi dari bakteri tersebut.

Tabel 3. Hasil Skrining Fitokimia

No	Kandungan	Warna	Hasil
1	Alkaloid	Coklat	+
2	Flavonoid	Merah Bata	+
3	Saponin	Terbentuk Buih	+
4	Tanin	Hijau	+
5	Fenolik	Kehitaman	+

Keterangan :

+ = Terdapat Senyawa

Dari hasil pengamatan ekstrak daun *H. perforata* Merr. pada bakteri *E. coli* dan *S. thypi* membentuk zona daya hambat yang paling baik yaitu pada konsentrasi ekstrak tertinggi yakni 15% sedangkan yang terkecil yaitu pada konsentrasi 5%. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi tingkat konsentrasi suatu ekstrak maka semakin baik pula dalam menghambat pertumbuhan bakteri (Santoso dan Harry, 2004).

Hasil pengujian terhadap kedua bakteri terdapat perbedaan diameter zona hambat. Perbedaan besar diameter zona hambat ini kemungkinan disebabkan adanya perbedaan kecepatan ekstrak berdifusi ke medium agar. Faktor lain yang menyebabkan perbedaan diameter zona hambat dari ekstrak tersebut adalah perbedaan konsentrasi senyawa aktif yang terdapat pada ekstrak. Hal ini sesuai dengan pendapat Prescott (2005), bahwa ukuran dari zona hambat dipengaruhi oleh beberapa hal, seperti tingkat sensitifitas dari organisme uji, kecepatan difusi dari senyawa antibakteri dan konsentrasi senyawa antibakteri.

Pada grafik1 serta uji lanjut Duncan pemberian ekstrak daun *H. perforata* Merr. dengan masing-masing konsentrasi

memberikan pengaruh (zona hambat) terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. thypi*. Perbedaan yang signifikan terdapat pada kelompok perlakuan konsentrasi 5% dan 15% terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli*, sedang untuk kelompok perlakuan dengan konsentrasi 5% dan 10% tidak nampak nilai yang signifikan baik terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* maupun *S. typhi* (Gambar 1 dan 2).

## DAFTAR PUSTAKA

- Ajizah, A., 2004, *Sensitivikasi Salmonella thypimurium terhadap ekstrak daun Psidium guajava L.* Bioscientiae, Vol.1, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin
- Astuti, SM., 2006. *Skrining Fitokimia dan Uji Aktifitas Antibiotika Ekstrak Etanol Daun, Batang, Bunga, dan Umbi Tanaman Binahong (Anredera cordifolia (Ten) Steenil)*, Fakultas Kejuteraan Kimia dan Sumber Asli (Bioproses), Universitas Malaysia Pahang.
- Biesher, 1983, *Microbiology in paratice, invidualized introduction for the Allied Heath Science*, 3rd, ed, Harper and Row Publisher, New York.
- Bremner, J. B. 1992 *Proceedings of the Seventh Asian Symposium of Medicanal Plants, Spicess and Other Natural Products*, Manila, Philippines, p. 75.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2011. *Buletin Penyakit Diare dan Informasi Kesehatan*. Volume.2. Jakarta. Indonesia.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2011. *Pedoman*

- Pengendalian Demam Tifoid Menteri Kesehatan Republik Indonesia*. Jakarta. Indonesia.
- Figen, MT., 2006, *Saponin Plants Fungal Pathogen*, Jurnal Of Cell and Molecular Biology.
- Jawetz. E , Melnick & Adelberg E. A, 1996, *Microbiologi Kedokteran*, edisi 20, EGC, Jakarta.
- Nooteboom HP. 1972. *Flora Malesiana*, Series I Vol 6. Wolters Noordhoff Publishing. Groningen, The Netherlands. Printed in The Netherlands.
- Oktora, L., Kumala, R., Pengajar, S., Studi, P., & Universitas, F. 2006. *Pemanfaatan Obat Tradisional Dan Keamanannya*.
- Prescott, L.M., 2005, *Microbiology*. Mc. Grow-Hill, New York.
- Resi, AW., & Surgani, A., 2009, *Flavonoid (Quercetin) Kimia Organik*, Program S.2., Kimia Organik, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hassanudin Indonesia.
- Santosa, Herry., 2004, *Operasi Teknik Kimia Ekstrasi*, Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Diponegoro.
- Schlegel, G. Hans. 1993. *General Microbiology*. Seventh Edition. Cambridge University Press, England.