

UJI DAYA HAMBAT EKSTRAK AKAR TUMBUHAN *Harrisonia perforata* (Blanco) Merr. TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Staphylococcus epidermidis* DAN *Escherichia coli*

Andi Aldi Matoro Putra¹⁾, Orryani Lambui¹⁾ dan Ramadhanil Pitopang¹⁾

¹⁾Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tadulako Kampus Bumi Tadulako Tondo Palu, Sulawesi Tengah 94117
E-mail: andialdi99@yahoo.com

ABSTRACT

Research of inhibition test from roots extract of *Harrisonia perforata* (Blanco) Merr. against to the growth of *Staphylococcus epidermidis* and *Escherichia coli* had been conducted during period of February to March 2015. The aim of this research was to gain the effectivity of roots extract to inhibited the growth of *Staphylococcus epidermidis* dan *Escherichia coli*. Reflux method used as the extraction method and Agar Diffusion method. The research was design by Completely Randomize Design (CRD) with 6 treatments and 3 replication. The treatments were roots extract concentrates 5%, 15%, 45% and 75%, positive control *Amoxicillin Clav-Acid* 2% and negative control Na-CMC 1%. The result showed that roots extract of *Harrisonia perforata* (Blanco) Merr. had inhibition effect to the growth of bacterias. The extract concentrate 75% produced the biggest inhibition zone for both *Staphylococcus epidermidis* and *Escherichia coli* 17,46 mm and 26,33 mm. This shows that the roots extract of *Harrisonia perforata* (Blanco) Merr. have inhibitory effect on *Staphylococcus epidermidis* and *Esherichia coli*.

Keywords: Roots extract of *Harrisonia perforata* (Blanco) Merr., *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*..

PENDAHULUAN

Indonesia sebagai negara tropis memiliki keanekaragaman sumber daya alam hayati. Keanekaragaman ini sangat bermanfaat, terutama dengan banyaknya spesies tumbuhan dan tanaman yang digunakan sebagai obat. Tumbuhan dan tanaman obat ini telah dijadikan obat tradisional secara turun temurun karena obat tradisional memiliki banyak kelebihan diantaranya mudah diperoleh, harganya yang lebih murah, dapat diramu sendiri

dan memiliki efek samping yang lebih kecil dibandingkan obat-obatan dari produk farmasi. Oleh sebab itu, kecenderungan masyarakat untuk menggunakan obat tradisional yang berasal dari alam atau herba dalam pemeliharaan kesehatan dan kebugaran (Suprianto, 2008).

Sejak dahulu sampai sekarang masyarakat telah menggunakan tanaman obat yang diolah dengan resep tradisional nenek moyang dalam penyembuhan penyakit, namun karena banyaknya aneka tanaman yang tersebar di seluruh

Indonesia membuat sebagian masyarakat belum menyadari bahwa disekitar mereka ada banyak tanaman yang berkhasiat sebagai obat (Oyen, 1999).

Keberadaan tanaman *Harrisonia perforata* (Blanco) Merr. di alam masih terkesan kurang mendapat perhatian dari masyarakat, padahal selain berperan sebagai tanaman liar, tanaman ini juga berpotensi untuk dijadikan sebagai obat. Tumbuhan ini merupakan salah satu tumbuhan yang telah digunakan di Negara berkembang misalnya Afrika. Masyarakat lokal menggunakan tumbuhan tersebut mulai dari daun, batang dan akar sebagai antidiare, penyakit kolera serta disentri (Nooteboom, 1972).

Pada penelitian sebelumnya bahwa tumbuhan *Harrisonia perforata* (Blanco) Merr. mempunyai senyawa antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif yang bersifat patogen. Hal tersebut menjadi landasan bagi peneliti untuk melakukan penelitian mengenai uji daya hambat ekstrak akar tumbuhan *Harrisonia perforata* (Blanco) Merr. terhadap pertumbuhan bakteri gram positif *Staphylococcus epidermidis* dan bakteri gram negatif *Escherichia coli*.

BAHAN DAN METODE

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini diantaranya yaitu inkubator (Memer), autoklaf (Tomy sx.700), oven (Eyela), hotplate (Stirring Hotplate), rotari evaporator (Eyela OSB-2100), neraca analitik (Mettler Toledo), reflux (Gerhardt), Bunsen, cawan petri (Anumra) steril, jangka sorong, ose steril, erlenmeyer (Pyrex) 10 ml, tabung reaksi (Pyrex), gelas kimia (Pyrex) 100 ml, gelas ukur (Pyrex)

50 ml, mesh 40, corong, pipet mikron (Socorex) 50 µm dan 1000 µm, pipet tetes, pinset, corong, parang, loyang, alat tulis menulis, mortal, blender, tip pipetmikro steril, sendok, batang pengaduk, toples, karung dan kamera.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini diantaranya biakan bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Escherichiacoli*, Amoxicillin-Clav Acid (Sanbe), medium *Brain Heart Infusion Broth* (BHIB) (Merck), medium Nutrien Agar(NA) (Merck), NaCl fisiologis 0,9% (Merck), etanol 96%, aquades, akar *Harrisonia perforata* (Blanco) Merr., aluminium foil, kapas, kertas saring 1,2 µm, masker dan sarung tangan.

Prosedur Kerja

a. Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan sebelumnya dicuci terlebih dahulu, lalu dikeringkan. Mulut tabung reaksi dan erlenmeyer disumbat dengan kapas lalu dibungkus dengan aluminium foil, sedangkan untuk cawan petri dan tip pipetmikro dibungkus kertas, serta media NA, BHIB, NaCl fisiologis dan aquades dimasukan dalam erlenmeyer dan disumbat dengan kapas serta ditutup dengan aluminium foil. Semua bahan dan alat disterilkan dalam autoklaf dengan suhu 121°C pada tekanan 2 atm selama 15 - 20 menit (Oswari, 2000).

b. Pengambilan Sampel Akar *Harrisonia perforata* (Blanco) Merr.

Penelitian menggunakan sampel dari akar *Harrisonia perforata* (Blanco) Merr. yang di peroleh dari kelurahan Tondo kota Palu Sulawesi Tengah. Tumbuhan yang dipilih adalah tumbuhan yang

berumur muda hingga tua dengan tinggi 1 – 2 meter. Penelitian ini menggunakan seluruh bagian akar mulai dari pangkal akar hingga ujung akar dengan ukuran lingkaran akar utama 7 – 25 cm.

c. Metode Ekstraksi Akar *Harrisonia Perforata* (Blanco) Merr.

Metode ekstraksi sampel akar tumbuhan *Harrisonia perforata* (Blanco) Merr. menggunakan metode refluks sesuai cara kerja Al Amrie dkk., (2014). Akar dibersihkan dengan air mengalir, kemudian akar dihaluskan dengan cara merajang hingga terbentuk potongan yang halus. Berat basah dari sampel yang diperoleh adalah 3.550 g. Hasil rajangan akar dikeringkan dengan menggunakan oven dengan suhu 40°C selama kurang lebih 10 jam hingga kadar air pada sampel berkisar 5 hingga 10%, hal tersebut bertujuan untuk mencegah tumbuhnya bakteri dan jamur pada tahap penyimpanan (Permatasari, 2014), berat kering sampel yang diperoleh setelah proses pengeringan yaitu 3.200 g. Menurut Sudarmadji (1984), rumus perhitungan kadar air pada sampel yaitu :

$$KA = \frac{BB - BK}{BB} \times 100\%$$

Keterangan

- KA: Kadar air
- BB: Berat basah
- BK: Berat Kering

Setelah proses pengeringan, simplisia dihaluskan menggunakan blender dan diayak menggunakan mesh 40, sehingga diperoleh berat sampel 2.550 g. Simplisia diekstrak dengan menggunakan alat refluks dengan menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 1,5 liter selama 3

hingga 4 jam, selanjutnya ekstrak disaring dengan menggunakan kertas saring dan dilakukan pemisahan antara zat pelarut dan senyawa aktif hasil ekstraksi dengan menggunakan alat rotari evaporator sehingga diperoleh berat ekstrak 220 g.

d. Pembuatan Ekstrak dan Kontrol

Pembuatan stok konsentrasi ekstrak akar *Harrisonia perforata* (Blanco) Merr. serta kontrol menggunakan pelarut Na-CMC 1% mengacu dari Permatasari (2014). Pengenceran ekstrak terdiri dari 4 konsentrasi yaitu 5%, 15%, 45% dan 75%, serta pada kontrol positif menggunakan *Amoxicillin Clav-Acid* 2%. Setiap seri konsentrasi ekstrak dan kontrol dibuat dalam stok 5 ml dengan jumlah secara berturut-turut sebesar 0,25 g, 0,75 g, 2,25 g dan 3,75 g, serta 0,1 g untuk kontrol positif. Pada kontrol negatif menggunakan pelarut Na-CMC 1% dengan jumlah 0,05 g.

e. Pembuatan Suspensi Bakteri dan Stok Ekstrak

Penelitian ini menggunakan biakkan murni bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Escherichia coli* yang diperoleh dari UPT Laboratorium Kesehatan Provinsi Sulawesi Tengah. Bakteri yang akan digunakan, dilakukan peremajaan kembali dari media NA yang diambil 1 ose kemudian disuspensikan kedalam media BHIB sebagai media penyubur dan pertumbuhan bakteri, setelah itu dilakukan pengenceran bertingkat dengan menggunakan larutan NaCl fisiologi 0,9% hingga pengenceran akhir yang digunakan dalam perlakuan yaitu 10^{-5} (Tjahjadi, 2009). Jumlah bakteri yang digunakan dalam perlakuan *Staphylococcus*

epidermidis 206×10^5 CFU/ml dan 223×10^5 CFU/ml pada perlakuan *Escherichia coli*.

Tujuan dari pengenceran bertingkat yaitu memperkecil atau mengurangi jumlah mikroba yang tersuspensi dalam cairan. Penentuan besarnya atau banyaknya tingkat pengenceran tergantung kepada perkiraan jumlah mikroba dalam sampel. Digunakan perbandingan 1 : 9 untuk sampel dan pengenceran pertama dan selanjutnya, sehingga pengenceran berikutnya mengandung 1/10 sel mikroorganisme dari pengenceran sebelumnya (Tjahjadi, 2009).

Sampel yang mengandung bakteri dimasukan ke dalam tabung pengenceran pertama (1/10 atau 10⁻¹) secara aseptis. Perbandingan sampel dengan volume tabung pertama adalah 1 : 9. Setelah sampel masuk lalu dihomogenkan. Pemindahan dilanjutkan hingga tabung pengenceran terakhir dengan cara yang sama (Radji dkk., 2010).

f. Uji Daya Hambat

Dalam penelitian ini, pengujian daya hambat ekstrak akar *Harrisonia perforata* (Blanco) Merr. terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Escherichia coli* menggunakan metode sumur dilakukan dengan menggunakan alat pelubang steril yang mengacu dari Aimang (2014). Media NA dipanaskan dalam hotplate sampai mencair kemudian di dinginkan sampai suhunya sekitar 40 - 50°C, setelah itu media NA tersebut dituang ke dalam masing-masing cawan petri sebanyak 20 ml yang telah berisi 1 ml suspensi bakteri. Selanjutnya dihomogenkan dan disimpan di tempat yang rata sampai media memadat.

Pengujian kepekaan bakteri ini menggunakan metode difusi sumur, yakni dengan cara membuat sumur-sumur pada agar yang telah diisi bakteri uji. Sumur dibuat dengan menggunakan alat pelubang dan selanjutnya konsentrasi ekstrak akar *Harrisonia perforata* (Blanco) Merr. yang telah disiapkan dimasukkan ke dalam sumur tersebut sebanyak 0,1 ml sesuai perlakuan. Kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah itu, mengamati dan mengukur terjadinya zona daya hambat pertumbuhan dari kedua bakteri tersebut dengan menggunakan jangka sorong.

g. Analisa 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

Hasil Penelitian

Uji daya hambat ekstrak akar *Harrisonia perforata* (Blanco) Merr. terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Escherichia coli* dengan menggunakan metode difusi sumur yang ditandai adanya daerah . daya hambat yang terbentuk disekeliling sumur dengan diameter yang berbeda disetiap konsentrasi ekstrak. Zona daya hambat yang terbentuk dapat dilihat pada Gambar 1.



Zona daya hambat

Gambar 1. Zona daya hambat

Tabel 1. Hasil Uji Daya Hambat Ekstrak Akar *Harrisonia perforata* (Blanco) Merr. Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus epidermidis*.

No.	Konsentrasi	Ulangan (mm)			Total	Rata-Rata
		1	2	3		
1.	0%	0	0	0	0	0
2.	5%	5,8	6	5,4	17,2	5,7
3.	15%	7,2	7,1	8,5	22,8	7,6
4.	45%	12,3	11,7	12,7	36,7	12,2
5.	75%	16,9	18,3	17,2	52,4	17,4
6.	Amoxicillin Clav-Acid 2%	38,8	40,3	40,5	119,6	40

Tabel 2. Hasil Uji Daya Hambat Ekstrak Akar *Harrisonia perforata* (Blanco) Merr. Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*.

No.	Konsentrasi	Ulangan (mm)			Total	Rata-Rata
		1	2	3		
1.	0%	0	0	0	0	0
2.	5%	17,1	15,2	15,6	47,9	16
3.	15%	18,1	16,8	16	50,9	17
4.	45%	21,9	22,7	20,5	65,1	21,7
5.	75%	25,9	27,1	26	79	26,3
6.	Amoxicillin Clav-Acid 2%	41,2	40,8	40,1	122,1	40,7

Pembahasan

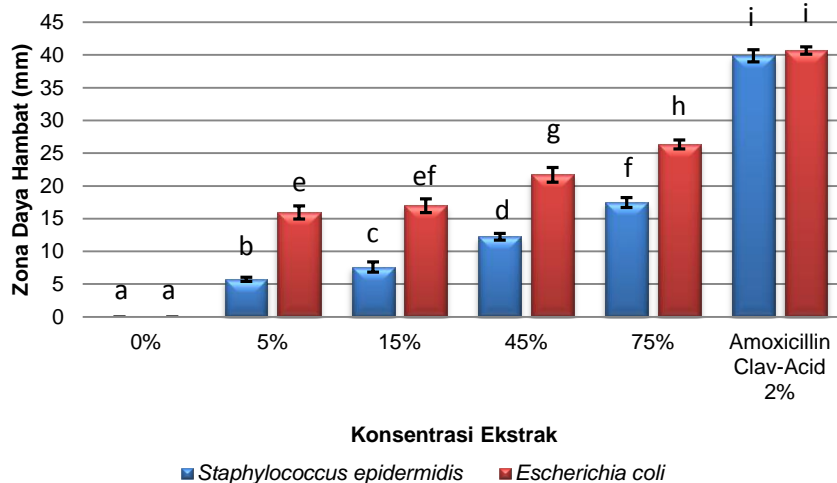
Pemanfaatan tumbuhan *Harrisonia perforata* (Blanco) Merr. sebagai antibakteri khususnya bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Escherichia coli*, dapat diidentifikasi dengan cara melakukan uji daya hambat

ekstrak akar tumbuhan *Harrisonia perforata* (Blanco) Merr. yang ditandai adanya zona daya hambat pada kedua bakteri.

Berdasarkan luas zona daya hambat yang terbentuk secara keseluruhan dapat dikatakan bahwa penggunaan ekstrak

akar *Harrisonia perforata* (Blanco) Merr. pada konsentrasi 5%, 15%, 45% dan 75% mampu dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus epidermidis* dan

Escherichia coli. Hal ini terlihat dari zona daya hambat yang terbentuk disekeliling sumur.



Gambar 2. Grafik zona daya hambat ekstrak akar *Harrisonia perforata* (Blanco) Merr. terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Escherichia coli*

Berdasarkan Gambar 2 dapat diketahui bahwa masing-masing konsentrasi ekstrak akar tumbuhan *Harrisonia perforata* (Blanco) Merr. memiliki rata-rata diameter zona daya hambat yang berbeda-beda. Pada perlakuan dengan pemberian konsentrasi ekstrak akar 75% terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis* menghasilkan diameter zona daya hambat rata-rata 17,4 mm lebih besar dibandingkan dengan pemberian konsentrasi lainnya. Namun demikian zona daya hambat pada konsentrasi tersebut masih lebih kecil dibandingkan dengan daya hambat yang terbentuk pada kontrol positif *Amoxicillin Clav Acid* 2% sebesar 40 mm. Sedangkan untuk daya hambat paling kecil terjadi pada pemberian konsentrasi ekstrak 5% yaitu 5,7 mm.

Pada pengamatan zona daya hambat bakteri *Escherichia coli*, diameter zona daya hambat yang paling besar juga terbentuk dari konsentrasi 75 % yaitu 26,3 mm sedangkan yang terkecil yaitu 16 mm pada pemberian konsentrasi ekstrak 5% dengan kontrol positif *Amoxicillin Clav Acid* 2% zona daya hambat yang terbentuk yaitu 40,7 mm.

Dari hasil pengamatan ekstrak akar *Harrisonia perforata* (Blanco) Merr. pada bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Escherichia coli* membentuk zona daya hambat yang paling baik yaitu pada konsentrasi ekstrak tertinggi yakni 75% sedangkan yang terkecil yaitu pada konsentrasi 5%.

Hasil pengujian yang telah dilakukan pada masing-masing bakteri terdapat perbedaan diameter zona daya hambat yang terbentuk. Perbedaan zona daya

hambat kemungkinan disebabkan karena kecepatan difusi ekstrak ke medium agar, selain itu juga adanya perbedaan konsentrasi ekstrak yang diberikan pada tiap perlakuan. Hal ini sesuai dengan pendapat Permatasari dkk., (2013), salah satu faktor yang mempengaruhi aktivitas bahan antimikroba yaitu konsentrasi bahan antimikroba. Daya hambat yang dihasilkan oleh bahan antimikroba akan semakin tinggi apabila konsentrasinya juga tinggi.

Dari diameter daya hambat rata-rata yang diperoleh dari kedua bakteri, terlihat zona daya hambat bakteri *Escherichia coli* lebih besar dibandingkan zona daya hambat yang terbentuk pada bakteri *Staphylococcus epidermidis*. Hal tersebut disebabkan karena bakteri *Staphylococcus epidermidis* merupakan bakteri gram positif yang memiliki lapisan peptidoglikan pada dinding sel yang lebih tebal dibandingkan bakteri *Escherichia coli* yang merupakan bakteri gram negatif, sehingga ketahanan bakteri *Staphylococcus epidermidis* terhadap senyawa antibakteri pada ekstrak akar *Harrisonia perforata (Blanco)* Merr. lebih tinggi dibandingkan bakteri *Escherichia coli*.

Menurut Al Amrie dkk., (2014), pada organ akar tumbuhan *Harrisonia perforata (Blanco)* Merr. mengandung beberapa senyawa aktif yang berperan sebagai antibakteri yaitu alkaloid, flavonoid dan saponin.

Senyawa alkaloid mempunyai mekanisme kerja sebagai antibakteri yaitu dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian pada sel tersebut sedangkan

senyawa flavonoid menyebabkan kerusakan pada dinding dan membran sel tanpa dapat diperbaiki lagi. Senyawa saponin yang terkandung sebagai antibakteri dengan cara merusak porin yang merupakan pintu masuk keluarnya senyawa dan mengurangi permeabilitas membran sel bakteri yang akan mengakibatkan sel bakteri mengalami kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri akan terhambat atau mati (Darsana dkk., 2012).

Berdasarkan Gambar 2., secara statistik menunjukkan bahwa perlakuan pemberian ekstrak akar *Harrisonia perforata (Blanco)* Merr. dan kontrol positif dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Escherichia coli*, sedangkan pemberian ekstrak akar *Harrisonia perforata (Blanco)* Merr. dengan konsentrasi 5% dan 15% terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* tidak memiliki perbedaan nilai yang signifikan. Hal tersebut juga terjadi pada pemberian ekstrak dengan konsentrasi 15% terhadap bakteri *Escherichia coli* dan konsentrasi ekstrak 75% terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* juga tidak memiliki perbedaan nilai yang signifikan.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak akar *Harrisonia perforata (Blanco)* Merr yang diberikan, maka kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Escherichia coli* akan semakin baik, sehingga peningkatan rata-rata diameter zona daya hambat akan semakin meningkat, begitu pula sebaliknya.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak akar *Harrisonia perforata* Merr. Dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Escherichia coli* serta konsentrasi ekstrak yang lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan kedua bakteri tersebut yaitu konsentrasi 75%.

DAFTAR PUSTAKA

- Aimang, I.O. 2014. *Uji Daya Hambat Daun Harrisonia perforata* Merr. Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella thypi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Tadulako. Palu.
- Al Amrie, A.G., Ivan, Anam, S. dan Pitopang, R. 2014. *Uji Efektifitas Ekstrak Daun dan Akar Harrisonia perforata* Merr. Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Vibrio cholerae*. Online J. of Natural Science, 3 (3) : 331 – 340.
- Darsana, I.G.O., Besung, I.N.K., dan Mahatmi, H. 2012. *Potensi Daun Binahong (Anredera cordifolia (Tenore) Steenis) Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri Escherichia coli Secara In Vitro*. J. Indonesia Medicus Veterinus, 1 (3) : 337 – 351.
- Nooteboom H.P. 1972. *Flora Malesiana Series/ Vol. 6*. Wolters Noordhoff Publishing. Groningen. The Netherlands.
- Oswari, E. 2000. *Bedah dan Keperawatannya*. PT Gramedia. Jakarta.
- Oyen LPA. 1999. *Cymbopogon citratus (DC) Staff*. Di dalam: Oyen LPA. Nguyen XD, editor. *Plant resources of South-East Asia No 19. Essential Oil Plant*. Bagor. Prosea Bogor Indonesia.
- Permatasari, D. 2014. *Uji Daya Hambat Ekstrak Batang Tumbuhan Harrisonia perforata* Merr. Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Shigella dysenteriae*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Tadulako. Palu.
- Permatasari, G.A.A., Besung, I.N.K., dan Mahatmi, H. 2013. *Daya Hambat Perasan Daun Sirsak Terhadap Pertumbuhan Bakteri Escherichia coli*. J. Indonesia Medicus Veterinus, 2 (2) : 162 -169.
- Radji, M., Anglia, P., dan Atiek S. 2010. *Deteksi Cepat Antibakteri Escherichia coli Dalam Sampel Air Dengan Metode Polymerase Chain Reaction Menggunakan Primer 16E1 dan 16E2*. J. Makara Sains, 14 (1) : 39 – 43.
- Sudarmadji, S. 1984. *Prosedur Analisa Bahan Makanan dan Pertanian Edisi Ketiga*. Liberty. Yogyakarta.
- Suprianto. 2008. *Potensi Ekstrak Sereh Wangi (Cymbopogon nardus L.) Sebagai Anti Streptococcus mutans*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Tjahjadi, P. 2009. *Fisiologi Mikroba*. Bumi Aksara. Jakarta.