

Original Research

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI SEDIAAN GRANUL EKSTRAK DAUN TREMA ORIENTALIS L. (ANGGRUNG) TERHADAP BAKTERI *Salmonella* sp. DENGAN METODE GRANULASI BASAH

ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF *TREMA ORIENTALIS* L. BLUMAE (ANGGRUNG) GRANULE EXTRACT AGAINST BACTERIA *Salmonella* sp. WITH THE WET GRANULATION METHOD

Ewaldo Bonaventura Wijaya^{1*}, Lilih Riniwasih²

^{1,2}Fakultas Farmasi, Universitas 17 Agustus 1945 Jakarta, Jakarta Utara, Indonesia, 14350

*E-mail: ewaldobw@yahoo.co.id

Diterima: 17/09/2019

Direvisi: 19/09/2019

Disetujui: 05/11/2019

Abstrak

Diare merupakan penyebab penambahan angka kematian pada bayi dan balita di seluruh dunia. Diare adalah penyakit berbahaya karena mengakibatkan kematian dan menjadikan kasus KLB (Kejadian Luar Biasa). Di Indonesia tumbuhan *Trema orientalis* L. dikenal dengan nama Anggrung. Daun *Trema orientalis* L. mengandung tannin khususnya polifenol yang memiliki kemampuan retensi kalium yang dapat menyembuhkan diuresis yang berkelanjutan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri daun Anggrung sebagai obat antidiare yang disebabkan oleh bakteri penyebab diare yaitu bakteri *Salmonella* sp dan pembuatan sediaan granul dari daun *Trema orientalis* L. (Anggrung) yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella* sp. dan menjadi obat antidiare. Hasil dari penelitian yang dilakukan yaitu ekstrak daun *Trema orientalis* L. (Anggrung) memiliki daya hambat yang kuat dikarenakan tingginya konsentrasi ekstrak yang digunakan. Dan untuk sediaan granul daun *Trema orientalis* L. (Anggrung) memiliki daya hambat yang kuat dikarenakan komposisi ekstrak yang digunakan lebih besar sehingga membentuk zona hambat yang besar. Dari penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa pengujian antibakteri ekstrak dan sediaan granul daun *Trema orientalis* L. (Anggrung) memiliki aktivitas antibakteri.

Kata kunci: Anggrung; Antibakteri; Antidiare; Granul; *Salmonella* sp

Abstract

Diarrhea is a cause of increasing mortality in infants and toddlers around the world. Diarrhea is a dangerous disease because it causes death and makes a case of outbreak. In Indonesia, the *Trema orientalis* L. plant is known as Anggrung. *Trema orientalis* L. leaves contain tannins especially polyphenols which have the ability to retain potassium which can cure ongoing diuresis. This study aims to determine the antibacterial activity of Anggrung leaves as an antidiarrheal drug caused by bacteria that cause diarrhea, namely *Salmonella* sp and the preparation of granules from leaves of *Trema orientalis* L. (Anggrung) which can inhibit the growth of *Salmonella* sp. and become an antidiarrheal drug. The results of the research carried out namely the leaf extract of *Trema orientalis* L. (Anggrung) has a strong inhibitory power due to the high concentration of the extract used. And for leaf granules *Trema orientalis* L. (Anggrung) preparations have a strong inhibitory power because the composition of the extract used is greater so it forms a large inhibitory zone. From the research conducted it can be concluded that the antibacterial testing of extracts and leaf granules preparations of *Trema orientalis* L. (Anggrung) has antibacterial activity.

Keywords: Anggrung; Antibacterial; Antidiarrheal; Granules; *Salmonella* sp

PENDAHULUAN

Diare merupakan penyebab penambahan angka kematian pada bayi dan balita di seluruh dunia. Diare adalah penyakit berbahaya karena mengakibatkan kematian dan menjadikan kasus KLB (Kejadian Luar Biasa).[1] Diare adalah keadaan dimana buang air besar (defekasi) memiliki frekuensi yang melebihi dari tiga kali dalam sehari, feses yang disebabkan oleh diare biasanya berbentuk cair dan bisa berbentuk setengah cair atau setengah padat, yang memiliki kandungan air lebih banyak dari biasanya yaitu lebih dari 200 gram atau 200 ml/24 jam.[2] Bakteri *Vibrio cholerae* 01, *Shigella* spp, *Salmonella* sp., *V. Parahaemoliticus*, *Salmonella Typhi*, *Campylobacter Jejuni*, *V. Cholera non-01*, dan *Salmonella Paratyphi A* adalah bakteri yang paling banyak ditemui dalam feses penderita diare.[3] Diare dapat menyebabkan kurangnya cairan elektrolit dalam tubuh yang dapat membahayakan jika tidak diobati.

Di Indonesia tumbuhan *Trema orientalis* L. dikenal dengan nama Anggrung dalam bahasa Jawa, dalam bahasa Sunda disebut kuray, dalam bahasa Aceh disebut bengkiire.[4] Daun *Trema orientalis* L. Blumae atau yang biasa disebut daun Anggrung mengandung tanin, saponin, flavonoid, triterpenoid (simiarenol, simiarenone, trematol). [5] Daun *Trema orientalis* L. mengandung tannin khususnya polifenol yang memiliki kemampuan retensi kalium yang dapat menyembuhkan diuresis yang berkelanjutan, yaitu meningkatnya ekskresi air dari dalam tubuh. Diuresis ini juga dapat membantu membuang limbah larut air / racun dalam tubuh yang larut dalam air yang akan dibuang bersama feses, tetapi jika diuresis berkelanjutan akan menyebabkan kurangnya eritrolit dalam tubuh[6].

Dari penelitian yang dilakukan oleh Donna Pratiwi, Irma Susanti dan Mariyam Abdullah pada tahun 2013[7] tentang senyawa tannin dalam ekstrak kulit jeruk nipis mempunyai daya antibakteri terhadap bakteri *Salmonella* spp. yang mempunyai nilai signifikan (p) sebesar 0.000 dan r2 sebesar 0,34 cm hasil dari penelitian ini didapatkan nilai KHM (Kadar Hambat Minimum) pada ekstrak kulit jeruk nipis berada di konsentrasi 12,5% sedangkan pada nilai KBM (Kadar Bunuh Minimum) pada ekstrak kulit jeruk nipis berada di konsentrasi 6,25%. Senyawa tannin atau gugus polifenol dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella* spp. Berdasarkan pada penelitian uji ekstrak kulit jeruk nipis yang mengandung senyawa tannin atau polifenol. Dengan adanya penelitian tersebut maka peneliti membuat uji aktivitas dengan daun *Trema Orientalis* dan dibuat sediaan berupa granul menggunakan metode granulasi basah yang dapat dibuat menjadi obat antidiare .

Salmonella sp. Menyebabkan penyakit salmonellosis yang terjadi dalam tubuh manusia. *Salmonellosis* diakibatkan oleh makanan yang dikonsumsi oleh manusia tercemar oleh *Salmonella* sp. *Salmonellosis* ditandai dengan gejala demam yang timbul secara akut, nyeri abdominal, diare, mual dan terkadang muntah[8].

Berdasarkan uraian diatas , oleh karena itu peneliti tertarik melakukan penelitian terhadap *Trema orientalis* sp secara In Vitro L (Anggrung) untuk mengetahui daya hambat nya terhadap *Salmonella*

METODE

Bahan Penelitian

Trema Orientalis (diambil di daerah kawasan Universitas Pertahanan , Sentul, Bogor), *Salmonella* sp.(NCTC6017), PVP (Ashlan, 831094) ,sukrosa (lokal), sorbitol (Roquette, 423600), laktosa (Grande, 30320), methanol (teknis), aquadest (lokal), etanol 96% (teknis), NaCl (lokal), nutrient agar, blank disk, kloramfenikol disk, larutan Mc Farland, DMSO(Merck, K48550752).

Prosedur Kerja

Persiapan Simplisia

Daun *Trema Orientalis* dicuci, dipotong kecil, kemudian dikeringkan dengan menggunakan sinar matahari selama 5 jam x 2 hari. Daun yang kering dihaluskan dengan blender hingga menjadi bubuk yang selanjutnya diayak menggunakan ayakan ukuran 60 mesh sehingga diperoleh bubuk simplisia daun *Trema orientalis* L.

Ekstraksi Daun Anggrung

Serbuk daun *Trema orientalis* L. yang sudah kering ditimbang 1200 gram di maserasi menggunakan pelarut methanol sebanyak 3600 mL selama 3 hari, diremaserasi dengan pelarut methanol sebanyak 3600 mL selama 3 hari. Filtrat yang diperoleh diuapkan dengan rotary evaporator hingga diperoleh ekstrak kental. Selanjutnya dikeringkan dalam oven sehingga didapat ekstrak kering. Ujikan dengan alat destilator diambil sampel sebanyak 2 ml lalu gunakan piknometer untuk dihitung sisa pelarutnya.

Standarisasi Ekstrak

Standarisasi ekstrak daun *Trema orientalis* L. yang dilakukan meliputi organoleptik, susut pengeringan, rendemen dan sisa pelarut.

Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder

Identifikasi yang dilakukan terhadap ekstrak daun *Trema orientalis* L. yaitu senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, saponin, alkaloid, polifenol, tanin, minyak atsiri dan triterpenoid. Identifikasi dilakukan secara kualitatif.

Formulasi Granul

Formulasi granul ekstrak daun *Trema orientalis* L. dilakukan dengan menggunakan komponen yang dapat dilihat pada **Tabel 1** sebagai berikut;

Tabel 1. Formula Sediaan Granul Ekstrak Daun *Trema orientalis* L.[9]

Komponen	Formulasi (milligram)			Fungsi
	F1 125 ppm	F2 62.5 ppm	F3 31.25 ppm	
Ekstrak daun <i>Trema Orientalis</i>	25	12.5	6.25	Zat Aktif
Sukrosa	10	10	10	Pemanis dan pengikat
Sorbitol	28	28	28	Pemanis dan pengisi
PVP	2	2	2	Pengikat
Laktosa	q.s	q.s	q.s	Pengisi
Aquadest	q.s	q.s	q.s	Pelarut
Bobot Sediaan Granul	200	200	200	

Pembuatan Granul

Pembuatan granul dengan menggunakan metode granulasi basah dengan cara ekstrak daun *Trema orientalis* L., sukrosa, sorbitol, Laktosa campurkan hingga homogen lalu tambahkan aquadest yang di campur dengan PVP sedikit demi sedikit sampai terbentuk masa kempal kemudian menggunakan ayakan nomor 12 lalu ayak dengan ayakan no.16 dan ditebarkan ke selembar kertas pada nampan lalu keringkan pada suhu 60⁰C selama 6 jam.

Identifikasi Bakteri

Mempersiapkan bakteri *Salmonella* sp. dengan menanam pada media SS agar dan menginkubasi bakteri pada inkubator selama 5-72 jam dan dicek pada mikroskop. Lalu melakukan pewarnaan gram untuk mengidentifikasi bahwa bakteri tersebut *Salmonella* sp. Pewarnaan gram dilakukan dengan meneteskan NaCl fisiologis pada kaca objek lalu diambil satu ose dari agar miring. Satu ose tersebut diambil lalu dioleskan ke kaca objek dan di fiksasi di bunsen. Zat pewarna kristal violet dan fuschin 1 tetes diatas preparat dan diamkan selama 2 menit. Preparat dicuci dengan air mengalir dan keringkan. Teteskan cairan lugol pada preparat diamkan kembali selama 2 menit. Preparat kembali dicuci dengan air mengalir. Preparat ditetaskan dengan 1 tetes fuchsin lalu biarkan selama 1 menit. Preparat dicuci dengan air lalu dikeringkan untuk diamati dibawah mikroskop. Jika berwarna ungu menandakan bakteri tersebut gram positif tetapi jika berwarna merah berarti negatif.

Evaluasi Granul

Evaluasi granul ekstrak daun *Trema orientalis* L. yang dilakukan meliputi waktu alir granul, sudut diam granul, pengetapan granul, distribusi ukuran partikel granul, dan uji kadar air.

Pengujian Aktivitas Antibakteri

Uji Pendahuluan

Pembuatan stok dan seri konsentrasi ekstrak methanol daun *Trema orientalis* L. Ekstrak methanol daun Anggrung dilarutkan dengan DMSO 10% sampai 5 mL. Kemudian dibuat seri konsentrasi ekstrak metanol daun *Trema orientalis* L. 250 ppm, 125 ppm, 62.5 ppm, 31,25 ppm, dan 15.625 ppm diujikan dengan cara ditetaskan pada disk kosong 10 µL, kemudian diletakkan di atas media yang telah berisi suspensi bakteri *Salmonella* sp. Kemudian diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37⁰C. Konsentrasi yang digunakan adalah konsentrasi ekstrak metanol daun *Trema Orientalis* yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Pembuatan pembandingan dengan menggunakan disk yang berisikan disk kloramfenikol.

Uji Aktivitas Antibakteri Sediaan Granul Ekstrak Daun *Trema orientalis* L.

Pengambilan dan melarutkan sediaan granul ekstrak methanol daun *Trema orientalis* L. sebesar 125 ppm (25mg/200g), 62.5 ppm (12,5mg/200g), dan 31,25 ppm (6,5mg/200g). Suspensi bakteri *Salmonella* sp. diambil 200 µL. Kemudian dimasukkan ke dalam media SS agar dalam cawan petri dan diratakan dengan spreader glass steril. Kontrol negatif akan menggunakan granul yang tidak berisi ekstrak sedangkan kontrol positif disk kloramfenikol. Kemudian masing-masing ditetaskan pada cakram disk kosong lalu disk diletakkan pada media yang telah berisi suspensi bakteri, kemudian diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37⁰C. Dalam satu cawan petri digunakan untuk granul ekstrak methanol daun *Trema Orientalis*, disk kloramfenikol (kontrol positif) dan DMSO 10% (kontrol negatif).

Analisa Data

Untuk melihat ada tidaknya perubahan daya hambat dari pertumbuhan bakteri *Salmonella* sp. semua kelompok uji. Uji ANOVA dapat digunakan apabila sebaran data (distribusi data) normal dan varians data sama. Jika syarat terpenuhi dilanjutkan dengan *LSD Post Hoc Test*. Jika sebaran data tidak normal dan atau varians data tidak sama maka digunakan uji alternatif yaitu *Kruskal Wallis*, yang kemudian dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*. Data hasil penelitian akan diolah dan disajikan dalam bentuk tabel dan grafik menggunakan program statistic computer (SPSS 16 *for windows*).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi Tanaman

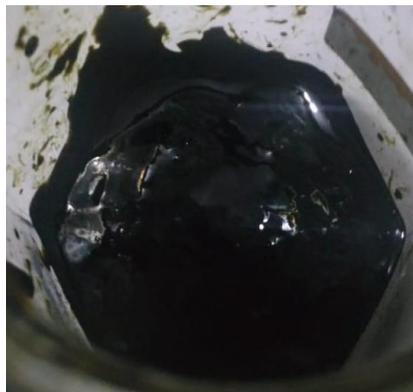
Daun Anggrung yang telah diidentifikasi di laboratorium bidang botani pusat penelitian biologi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) dengan nama *Trema orientalis*(L.)Blume yang termasuk suku *Cannabaceae*. Berikut ini gambar dari daun *Trema orientalis* L. :



Gambar 1. Daun *Trema orientalis* L.

Hasil Ekstraksi Daun Anggrung

Hasil dari ekstraksi 1200 gram serbuk daun *Trema orientalis* L. dengan menggunakan pelarut methanol dengan perbandingan 1:3 yang dilakukan sebanyak 6 kali menghasilkan ekstrak kental sebanyak 72,95 gram. Berikut ini gambar ekstrak daun *Trema orientalis* L. :



Gambar 2. Ekstrak *Trema orientalis* L.

Standarisasi Ekstrak

Berikut ini adalah hasil standarisasi ekstrak daun Anggrung (*Trema orientalis* L.) yang dapat dilihat pada **Tabel 2** sebagai berikut;

Tabel 2. Hasil Standarisasi Ekstrak

No.	Parameter	Keterangan
1.	Organoleptis	Kental, Hijau tua, bau khas, pahit
2.	Rendemen	6,08 %
3.	Sisa Pelarut	0.99901

Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder

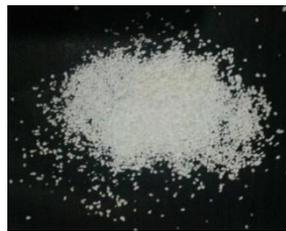
Hasil identifikasi senyawa metabolit sekunder ekstrak daun *Trema orientalis* L. dapat dilihat pada **Tabel 3** sebagai berikut;

Tabel 3. Hasil Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder

No.	Golongan Senyawa	Hasil
1.	Alkaloid	(+)
2.	Flavonoid	(+)
3.	Fenolik	(+)
4.	Saponin	(+)
5.	Steroid	(+)
6.	Tanin	(+)
7.	Terpenoid	(+)

Hasil Evaluasi Granul

Gambar sediaan granul ekstrak daun *Trema orientalis* yang dibuat pada penelitian, sebagai berikut:



Gambar 3. Granul Formula 1 (Kandungan :25 gram ekstrak *Trema orientalis*)



Gambar 4. Granul Formula 2 (Kandungan :12.5 gram ekstrak *Trema orientalis*)

Pada uji aktivitas ekstrak daun *Trema orientalis* (Anggrung) didapat daya hambat terhadap bakteri *Salmonella* sp. terbesar pada konsentrasi 500 ppm dengan daya hambat sebesar 11.87 mm dan di dapat juga daya hambat terkecil pada konsentrasi 15.625 ppm dengan daya hambat sebesar 7.41 mm. Pada kontrol positif kloramfenikol disk c30 dengan daya hambat sebesar 30.16 mm dan kontrol negatif DMSO (Dimetil Sulfoksida) 10% dengan daya hambat sebesar 6 mm . Pada penelitian ekstrak daun *Trema orientalis* L. (Anggrung) mempunyai daya hambat yang kuat pada konsetrasi 500, 250 dan daya hambat yang sedang pada 125; 62.5; 31.25; 15.625[5].

Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Granul Ekstrak Daun *Trema orientalis* L.

Hasil uji aktivitas antibakteri granul ekstrak daun *Trema orientalis* L. dari berbagai konsentrasi dapat dilihat pada **Tabel 6** dibawah ini;

Tabel 6. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Granul Ekstrak Daun *Trema orientalis* L.

Konsentras i (ppm)	Percobaan I (mm)	Percobaan II (mm)	Percobaan III (mm)	Rata-rata (mm)
125	12.16	11.66	10.62	11.48
62.5	11.60	10.33	10.58	10.84
31.25	9.38	8.80	7.53	8.57
kontrol +	27.83	26.03	26.28	26.71
Kontrol -	6	6	6	6

Pada uji aktivitas sediaan granul ekstrak daun *Trema orientalis* L. (Anggrung) dengan konsentrasi 125 ppm, 62.5 ppm, 31.25 ppm didapat daya hambat terhadap bakteri *Salmonella* sp. terbesar pada konsentrasi 125 ppm dengan daya hambat sebesar 11.48 mm dan di dapat juga daya hambat terkecil pada konsentrasi 31.25 ppm dengan daya hambat sebesar 8.57 mm. Pada kontrol positif yang menggunakan kloramfenikol disk C₃₀ didapatkan daya hambat sebesar 26.71 mm dan kontrol negatif dengan menggunakan sediaan granul tanpa ekstrak daun *Trema orientalis* (Anggrung) (placebo (Sediaan tanpa zat aktif)). Pada **Tabel 4.5** menurut David dan Stout[10] pada sediaan granul ekstrak daun *Trema orientalis* L. memiliki daya hambat bakteri *Salmonella* sp. terkategori kuat pada konsentrasi 125 ppm dan 62,5 ppm dan pada konsentrasi 31,25 ppm tergolong sedang.

KESIMPULAN

Ekstrak daun *Trema orientalis* L. memiliki aktivitas antibakteri yang kuat terhadap *Salmonella* sp. dengan zona hambat sebesar 11,20 mm pada konsentrasi 500 ppm dan 10,07 mm pada konsentrasi 250 ppm. Sedangkan pada *Trema orientalis* L. ekstrak daun *Trema orientalis* L. memiliki aktivitas antibakteri yang kuat terhadap *Salmonella* sp. dengan zona hambat sebesar 11,48 mm pada konsentrasi 125 ppm dan 10,48 mm pada konsentrasi 62,5 ppm.

DAFTAR RUJUKAN

1. WHO. *Diarrhoeal disease* [Homepage on the internet]. August 2009. [Update 2018 Feb 20; cited 2019 oct 5] Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs330/en/index.html>.
2. Sodikin. *Asuhan Keperawatan Anak: Gangguan Sistem Gastrointestinal dan Hepatobilier*. Jakarta. Salemba Medika. 2011
3. Suharyono. *Diare Akut Klinik dan Laboratorik*. Jakarta. Rineka Cipta. 2008
4. Accra, Ghana; The Adventist Press. *Ghana Herbal Pharmacopeia*; pp. 141–43. 1992
5. Donatus, Albert Mangopang. *Morfologi *Trema orientalis*(L.) Blume dan Manfaatnya Sebagai Tanaman Pionir Restorasi Tambang Nikel*. Makasar . UIN Alauddin Makassar .2016.
6. Uddin SN; Uddin KM; Ahmed F. Analgesic and antidiarrhoeal activities of *Trema orientalis* Linn.in mice. *Orient Pharm Exp Med*;8:187–91. 2008
7. Pratiwi, Donna ;Irma Suswati; Mariyam Abdullah. *Efek Anti Bakteri Ekstrak Kulit Jeruk Nipis(*Citrus Aurantifolia*) Terhadap *Salmonella Typhi* Secara In Vitro [PhD Thesis]* . Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Malang. 2013
8. WHO. *Salmonella (non-thypoidal)* [Homepage on the internet]. Agustus 2013. [Update 2018 Feb 20; cited 2019 oct 5] Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs139/en/>
9. Mulyadi, M. D.; Astuti, I. Y.; Dhiani, B. A. . *Formulasi Granul Instan Jus Kelopak Bunga Rosela (*Hibiscus Sabdariffa* L) Dengan Variasi Konsentrasi Povidon Sebagai Bahan Pengikat Serta Kontrol Kualitasnya [PhD Thesis]*, 32. 2011.
10. Davis, W.W; T,.R. Stout. *Disc plate methods of microbiological antibiotic assay . applied microbiology* 22. 1971