

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAN FRAKSI DAUN JATI (*Tectona grandis* Linn.F) DALAM MENGHAMBAT PERTUMBUHAN BAKTERI *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* SECARA IN VITRO

Tri Agung Rizky, Sogandi*

Program Studi Farmasi Universitas 17 Agustus 1945 Jakarta
sogandi.uta45@gmail.com

ABSTRAK

Penggunaan bahan alam sebagai obat tradisional telah lama dilakukan, hal ini terjadi sejak zaman nenek moyang yang melakukan pengobatan sendiri secara empiris. Salah satu bahan yang berpotensi adalah daun Jati. Daun jati diketahui memiliki kandungan senyawa flavonoid, saponin, tanin galat, tanin katekat, kuinon, dan steroid/triterpenoid, yang memiliki aktivitas antibakteri. Maka dari itu perlu adanya pengujian untuk mengetahui aktivitas ekstrak etanol dan fraksi daun jati dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan *post test only control group design*. Uji aktivitas anti bakteri dilakukan dengan difusi cakram (*Kirby-bauer*), dimana media *Nutrien Agar* yang sudah dibiakkan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dan diinkubasikan selama 24 jam. Kelompok kontrol positif menggunakan *ampicillin*, kelompok kontrol negatif menggunakan *aquabides*, serta sampel uji yakni ekstrak etanol, fraksi etil dan fraksi N-Heksana. Zona hambat diukur menggunakan jangka sorong millimeter. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan uji *Kolmogorov*, uji *levne's* dan *Two way annova*. Uji lanjutan dengan mengukur KHM dari senyawa yang memiliki aktivitas tertinggi terhadap pertumbuhan bakteri, dilakukan dengan metode dilusi cair. Media *Nutrien Broth* yang sudah dibiakkan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* diberikan konsentrasi ekstrak masing-masing 5 %, 10 %, 15 %, 20 % dan 25 % Hasil penelitian menunjukkan ekstrak etanol daun jati memiliki aktivitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri paling besar dengan rerata zona hambat $16,92 \pm 0,32$ mm untuk *Escherichia coli* dan $17,13 \pm 0,08$ mm untuk *Staphylococcus aureus*. Dilanjutkan dengan uji KHM dengan Nilai KHM 15 % untuk masing- masing bakteri. Uji kebocoran asam nukleat dan protein menunjukkan adanya kebocoran sel pada kedua bakteri pada nilai 1 KHM dan 2 KHM.

Kata kunci : Ekstrak, Daun Jati, *Tectona grandis* Linn. f., *Escherichia coli* *Staphylococcus aureus*.

ABSTRACT

The used of natural ingredients as traditional medicine has long been carried out, this has happened since the days of ancestors who carried out their own research empirically. One of the ingredients that have potential is teak leaves. Teak leaves are known contain metabolite secunder such as flavonoids, saponins, gallic acid, tannin, quinones, and steroids/ triterpenoids, which is have antibacterial activity. Aim of this study to determine the activity of ethanol extract and teak leaf fraction in inhibiting the growth of Escherichia coli and Staphylococcus aureus bacteria. This study used an experimental research with post test only control group design. Antibacterial activity test was carried out by disc diffusion (Kirby-bauer), which is Nutrient Agar medium was cultured by Escherichia coli and Staphylococcus aureus and incubated for 24 hours. Ampicillin and aquabides are positive and negative control respectively, and the sample is ethanol extract, ethyl fraction and N-hexane fraction.

The clear zone measured using milimetre slide. Data result of antibacterial activity analyzed using Kolmogorov Test, Levene's Test and Two Way ANOVA. Furthermore testing by measuring the MIC of the combination that has the highest activity against bacterial growth, is carried out by a liquid dilution method. Nutrient Broth Media which has been cultured by *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* is given each concentration of 5%, 10%, 15%, 20% and 25%. The results of this study showed that the highest ethanol extract of teak leaves inhibited growth with an average inhibition zone *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* respectively of 16.92 ± 0.32 mm and 17.13 ± 0.08 mm. Furthermore by a MIC test with a MIC value of 15% for each bacterium. Tests for leakage of nucleic acids and proteins showed a leak in both bacteria at a value of 1 MIC and 2 MIC.

Keywords: Extract, Teak Leaves, *Tectona grandis* Linn. f., *Escherichia coli* *Staphylococcus aureus*

PENDAHULUAN

Di daerah Jawa tanaman jati (*Tectona grandis* Linn. F.) terutama pada bagian daunnya biasa digunakan sebagai pembungkus daging selain itu dapat juga digunakan sebagai obat diare dengan cara merebus daunnya dengan air. Hal ini dipercayai bahwa dengan dibungkusnya menggunakan daun jati (*Tectona grandis* Linn. F.) dapat mencegah pembusukan daging dalam jangka waktu tertentu dan penelitian Puji (2009) menyatakan bahwa penggunaan daun jati sebagai pembungkus tempe dalam proses fermentasi dapat menekan pertumbuhan mikroba lebih baik dibandingkan pembungkusan menggunakan daun pisang.

Penelitian mengenai aktivitas antibakteri telah banyak dilakukan. salah satunya, tanaman tembelek yang mengandung senyawa kimia yang sama berupa alkaloid, tanin, minyak atsiri, flavonoid dan saponin terbukti memiliki aktivitas antibakteri pada konsentrasi 6,25%, 12,5%, dan 25% (Lestari *et al.*, 2013). Tanaman tembelek memiliki kedekatan kemotaksonomi dengan daun jati pada tingkat family yaitu *Verbenaceae*, sehingga daun jati juga berpotensi memiliki aktivitas antibakteri.

Diare adalah penyakit kedua yang menyebabkan kematian pada anak dibawah lima tahun. Di dunia terdapat 1,7 juta kasus diare setiap tahunnya yang diantaranya menyebabkan kematian pada 525.000 anak-anak dibawah lima tahun

Diare adalah penyakit kedua yang menyebabkan kematian pada anak dibawah lima tahun. Di dunia terdapat 1,7 juta kasus diare setiap tahunnya yang diantaranya menyebabkan kematian pada 525.000 anak-anak dibawah lima tahun. Penyebab utama penyakit ini berkaitan erat dengan sanitasi dan higienis. Selain masalah sanitasi dan higienis infeksi juga dapat disebabkan oleh adanya bakteri, dimana bakteri dapat meningkatkan kemungkinan mortalitas salah satunya adalah *Escherichia coli* (WHO, 2017).

Menurut (Tong *et al.*, 2015) *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri komensal dan patogen pada manusia. Sekitar 30 % dari populasi manusia dikolonisasi oleh *Staphylococcus aureus*. Umumnya bakteri ini terdapat pada kulit, saluran pernapasan dan saluran pencernaan tanpa menyebar dari satu orang ke orang lain melalui kontak langsung atau melalui objek yang terkontaminasi. Data di Amerika Serikat dan Eropa menunjukkan bahwa *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri patogen tersering penyebab infeksi dengan

pravalensi 18-30%, sedangkan di wilayah Asia *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* memiliki angka kejadian infeksi yang hampir sama banyak (Mehraj *et al*, 2014).

Berdasarkan latar belakang tersebut diatas, maka penelitian ini dimaksudkan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan fraksi N-Heksan, Etil Asetat daun jati *Tectona grandis Linn. F.* terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* menggunakan metode difusi agar secara *invitro*.

BAHAN DAN METODE

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah incubator (@Mettler), tabung reaksi, neraca analitik (@Sartorius Basic B.A.160 p), rak tabung, penangas air (@Mettler), batang pengaduk, seperangkat alat-alat gelas (Pyrex), corong gelas, cawan porselin, cawan petri, silica gel, penjepit tabung, pipet tetes, vaccum, *rotary evaporator* (Heidolph), pipa kapiler dan pinset.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Ekstrak Kental Daun Jati, NaCl 0,9%, Ampicillin, Biakan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. aquades, aluminium foil, etanol 95%, kertas saring, HCl 2N, serbuk Mg, HCl pekat, amil alcohol, FeCl₃, n-heksan, asam asetat anhidrat, H₂SO₄ pekat, NaOH 5%, pereaksi Mayer, pereaksi Bouchardat, pereaksi Dragendorff.

Pembuatan Simplisia

Dilakukan sortasi basah terhadap daun jati yang diperoleh dari BALITRO (Balai Tanaman Rempah dan Obat) Bogor sebanyak 6 kg. Sortasi basah dilakukan untuk memisahkan daun jati dari zat pengotor.

Umbi bawang tiwai selanjutnya dicuci dengan air mengalir kemudian dirajang tipis. Pengeringan dilakukan untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak, dengan cara diangin-anginkan. Sortasi kering dilakukan untuk memisahkan benda-benda asing yang tidak diinginkan, kemudian simplisia diblender hingga jadi serbuk dan didapatkan serbuk simplisia sebanyak 2,5 kg, kemudian serbuk simplisia dikemas dan disimpan.

Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Jati

Pembuatan ekstrak daun jati dilakukan menggunakan metode ekstraksi maserasi. Proses ekstraksi dengan maserasi dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali dengan menggunakan pelarut etanol 70 % sebanyak 5000 ml. Sebanyak 500 g serbuk simplisia daun jati dimaserasi dengan etanol 70 % sebanyak 2000 ml. Ampas yang diperoleh di remaserasi sebanyak 3 kali dengan jumlah pelarut 1000 ml, 1000 ml, 1000 ml sampai larutan mendekati tidak berwarna. Maserat yang telah dihasilkan kemudian diupakan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50 ° C hingga diperoleh berat konstan dari ekstrak kental daun jati. Ekstraksi dilakukan dengan total simplisia sebanyak 1 kg dan diperoleh ekstrak kental sebanyak 136,47 g.

Fraksinasi Ekstrak Etanol Daun Jati Menjadi Fraksi N-Heksana dan Etil Asetat

Ekstrak daun jati yang diperoleh ditimbang 5 g dilarutkan dengan etanol 70 % dan air dengan perbandingan 3: 1, yaitu etanol 75 ml dan air 25 ml kemudian difraksinasi dengan campuran N-Heksan 100 ml, dipisahkan lapisan N-heksan dengan cara dituang dari corong pisah ke erlenmeyer, selanjutnya ekstrak dipekatkan di atas penangas air dan hitung rendemen. (Sutrisno, 2018).

Ekstrak daun jati yang telah disari dengan N-Heksan dilanjutkan disari dengan etil asetat 100 ml, dimasukan etil asetat dengan cara dituang dari corong pisah ke erlenmeyer. Hasilnya diperoleh fraksi etil asetat. Ekstrak hasil fraksinasi dipekatkan dengan penangas air, selanjutnya dihitung rendemen saat hasil ekstraksi dan hitung rendemen fraksi (Sutrisno, 2018).

Uji Sisa Pelarut

Timbang sejumlah 2 g ekstrak kental dilarutkan dalam air sampai 25 ml kemudian dimasukan ke dalam labu destilasi. Atur suhu destilat pada 78 ° C. Catat destilasi hingga diperoleh destilat lebih kurang 2 ml (destilasi selama 2 jam atau tidak menetes lagi). Tambahkan air sampai 25 ml. Tetapkan bobot jenis cairan pada suhu 25 ° C seperti yang tertera pada Penetapan Bobot Jenis. Hitung presentase dalam volume dari etanol dalam cairan menggunakan tabel Bobot Jenis dan Kadar Etanol pada Farmakope Indonesia IV (Depkes RI, 2000, Saifudin, Rahayu dan Teruna, 2011).

Uji Susut Pengerinan

Susut pengerinan merupakan pengukuran sisa zat setelah pengeringan pada suhu 105 ° C sampai diperoleh bobot konstan. Penetapan dilakukan dengan cara menimbang seksama sebanyak 1-2 g simplisia dalam botol timbang tertutup yang sebelumnya telah dipanaskan pada suhu 105° C selama 30 menit dan telah ditara. Ekstrak diratakan dalam botol timbang dengan menggoyangkan botol hingga memiliki lapisan setebal 5-10 mm, kemudian dimasukan ke dalam lemari pengering, dikeringkan pada suhu 105 ° C hingga bobot tetap. Botol dimasukkan ke dalam desikator dan setelah dingin ditimbang (Yanti, 2009).

Teknik Pembuatan Suspensi Bakteri

Sebanyak 5µl bakteri diremajakan dalam media *Nutrien broth* (NB) diinkubasi selama 1 x 24 jam. Bakteri yang sudah diinkubasi di pipet sebanyak 10 µl dengan menambahkan larutan NaCl 0,9% di dalam tabung yang berbeda, sampai didapatkan kekeruhan yang disesuaikan dengan standar kekeruhan McFarland 0,5 untuk mendapatkan bakteri sebanyak 10⁸ (cfu)/mL dengan cara membaca pada spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 600 nm (Cockeril, 2012).

Uji Aktivitas Antibakteri

Lempeng *Nutrien Agar* (NA), campurkan suspensi bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan perbandingan 3 : 17 ml, setelah itu tuangkan ke petri dish dan tunggu sampai memadat dan masukan sampel uji ekstrak dan fraksi daun jati. Diletakan cakram kertas yang telah direndam selama \pm 15 menit dengan ekstrak dan fraksi daun jati pada media I dan II Sebagai kontrol positif, digunakan antibiotik Ampicilin dengan dosis 10 mg/ml. Sebagai kontrol negatif, digunakan kertas cakram yang direndam dalam akuades steril selama \pm 15 menit. Kedua media (media I dan II) diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Penentuan Kadar Hambat Minimum (KHM)

Penentuan KHM dilakukan dengan metode dilusi cair Kirby and Bauer menggunakan media cair *Nutrien Broth* (NB) dan diukur absorbansi dengan spektrofotometer UV-Vis sebelum dan sesudah inkubasi untuk melihat pertumbuhan bakteri uji.

Sebanyak 5 ml media NB steril dimasukkan ke dalam masing-masing tabung reaksi, ditambahkan ekstrak dengan konsentrasi untuk bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %. Tabung reaksi tersebut kemudian diukur absorbansi (Optical Density bakteri dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis ($\lambda = 600$ nm) selanjutnya tabung-tabung tersebut diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37° C dalam inkubator. Setelah diinkubasi, diukur lagi absorbansi bakteri dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis ($\lambda = 600$ nm).

KHM ditentukan dengan membandingkan absorbansi setelah perlakuan inkubasi dikurangi absorbansi sebelum perlakuan. Apabila terdapat konsentrasi terendah yang menghambat pertumbuhan bakteri, ditunjukkan dengan tidak adanya kekeruhan (OD bakteri adalah ≤ 0), maka didapatkan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) atau *Minimal Inhibitory Concentration* (MIC) (Fatisa, 2013).

Analisis Kebocoran Sel

Analisis kebocoran protein dan asam nukleat ini dilakukan dengan spektrofotometer UV-VIS dan pengukuran absorbansi dilakukan pada panjang gelombang 260 nm (asam nukleat) dan 280 nm (protein). Suspensi bakteri uji (umur 18-24 jam) sebanyak 10 ml di sentrifuse dengan kecepatan 3500 G selama 15-20 menit sehingga diperoleh endapan sel bakteri. Endapan sel bakteri tersebut selanjutnya di cuci dengan buffer fosfat pH 7.0 dan diulang pencuciannya sebanyak 2 kali.

Endapan sel terbut kemudian di suspensikan ke dalam 10 ml larutan buffer fosfat pH 7.0, ditambahkan dengan ekstrak dan fraksi daun jati dengan konsentrasi 1 KHM dan 2 KHM, diinkubasikan kembali ke dalam shaker inkubator dengan kecepatan 150 G selama 18-24 jam. Selanjutnya suspensi bakteri di sentrifuse dengan kecepatan 3500 G selama 15-20 menit sehingga diperoleh filtrat dan filtrat ini selanjutnya diukur absorbansinya dengan alat spektrofotometer pada panjang gelombang 260 nm dan 280 nm (Aljufri, 2013).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Simplisia yang diperoleh disortir terlebih dahulu yaitu daun jati yang telah berumur 10-11 bulan ditandai dengan daun berwarna hijau kecoklatan di karenakan pada umur tersebut kandungan metabolit sekunder yang terkandung di dalamnya sudah mencukupi. Simplisia yang telah dideterminasi disortasi basah dengan memisahkan daun dari kontaminan dan pengotor, seperti tanah dan tangkai. Kemudian maserasi dilakukan dengan merendam 1000 gr serbuk daun jati dalam 5 L pelarut etanol 70% selama 3 x 24 jam dengan pengadukan manual tiap hari pada suhu ruangan (kamar). Selanjutnya dilakukan pemekatan dengan cara penguapan/evaporasi cairan pelarut dengan alat rotary evaporator sampai diperoleh ekstrak kental atau pekat seperi madu. Ekstrak kental yang telah diperoleh ditimbang untuk mengetahui rendemennya, dari ekstraksi diperoleh ekstrak sebanyak 136,47 g dengan rendemen sebesar 13,647 %.

Tabel 1. Karakteristik Daun Jati

Karakteristik ekstrak	Hasil
Bentuk	Ekstrak Kental
Warna	Hijau pekat
Bau	Khas
Rasa	Pahit

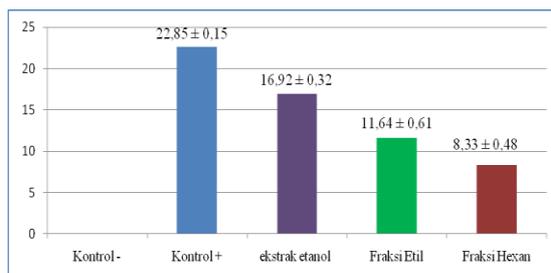
Kemudian dilakukan uji sisa pelarut menggunakan metode destilasi, sesuai dengan aturan Kepala Badan Pengawasan Obat dan Makanan bahwa sisa pelarut tidak boleh lebih dari 1 % dan dari hasil pengujian diperoleh bahwa sisa pelarut dalam ekstrak etanol daun jati adalah 0,8 % dengan massa jenis 0,9985 yang disesuaikan dengan tabel bobot jenis dan kadar etanol pada FI IV.

Tabel 2. Skrining Fitokimia Daun Jati

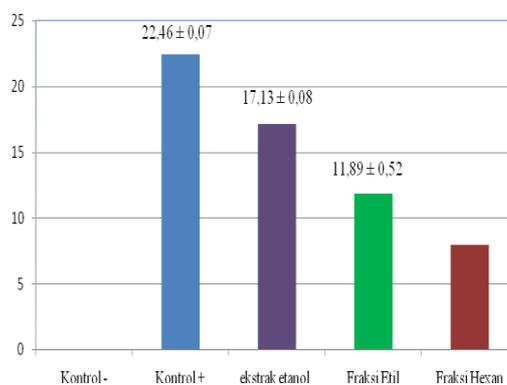
No	Senyawa	Hasil
1	Alkaloid	-
2	Flavonoid	+
3	Saponin	+
4	Tanin	+
5	Kuinon	-

6	Steroid	+
7	Triterpenoid	+

Hasil fraksinasi n-Heksan Diperoleh sebanyak 1,37 g fraksi dengan nilai rendemen 5,48%. Dan hasil fraksinasi etil asetat diperoleh 5,06 g fraksi etil asetat dengan nilai rendemen 20,24 %.



Grafik 1. Grafik Rata-Rata Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol, Etil Asetat dan N-Heksana terhadap *Escherichia coli*.



Grafik 2. Rata-Rata Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol, Etil Asetat dan N-Heksana terhadap *Staphylococcus aureus*

Berdasarkan hasil pengamatan dan analisa yang telah dilakukan, data menunjukkan bahwa antara kelompok ekstrak etanol dan kelompok fraksi etil asetat tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna dengan nilai sig 0,068. Namun dari gambar menunjukkan bahwa kelompok ekstrak etanol menunjukkan daya hambat lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok fraksi etil asetat. sedangkan perbandingan antara kelompok fraksi etanol dengan kelompok fraksi n-Heksana menunjukkan bahwa adanya perbedaan bermakna dengan nilai sig 0,039. Perbandingan terakhir menunjukkan bahwa antara fraksi etil asetat dan fraksi n-heksana menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan dengan nilai sig 0,554. Besarnya zona hambat yang terbentuk oleh ekstrak etanol, etil asetat dan N-heksana pada bakteri *Escherichia coli* adalah 16,92 mm, 11,64 mm dan 8,33 mm. Besarnya zona hambat yang

terbentuk oleh ekstrak etanol, etil asetat dan N-heksana pada bakteri *Staphylococcus aureus* masing-masing adalah 17,13 mm, 11,89 mm dan 7,95 mm.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan melalui uji skrining fitokimia diperoleh data berupa senyawa senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol daun jati yakni flavonoid, saponin, tanin, steroid dan triterpenoid. Hal ini sesuai dengan penelitian Hartati *et al* (2005) dimana ekstrak daun jati memiliki senyawa aktif berupa flavonoid, saponin, tanin galat, tanin katekat, kuinon, dan steroid/triterpenoid. Dimana senyawa-senyawa tersebut memiliki mekanisme anti bakteri yang berbeda-beda.

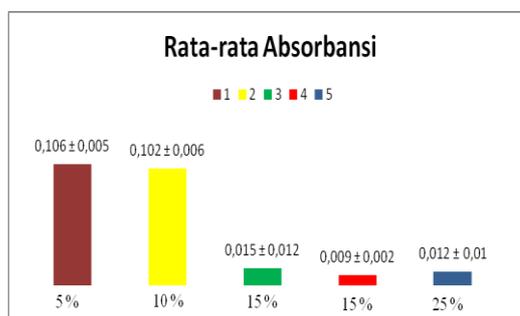
Flavonoid bekerja sebagai antibakteri karena kemampuannya membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membrane sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler (Mercy *et al.*, 2013). Selain itu mekanisme lain golongan flavonoid dalam menghambat pertumbuhan bakteri adalah inhibisi lapisan biofilm pada bakteri.

Mekanisme saponin sebagai antibakteri dengan cara menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar (Nuria *et al.*, 2009). Menurut Cavalieri *et al* (2005), senyawa ini berdifusi melalui membran luar dan dinding sel yang rentan, lalu mengikat membran sitoplasma dan mengganggu dan mengurangi kestabilan itu.

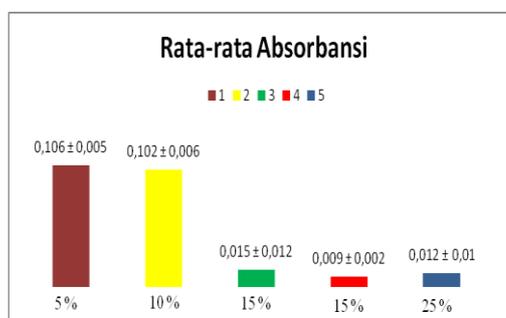
Mekanisme tanin sebagai antibakteri berkaitan dengan inhibisi enzim bakteri, dimana enzim transkriptase dan DNA topoisomerase tidak dapat terbentuk. Selain itu juga tanin memiliki aktivitas antibakteri yang berhubungan dengan menginaktifkan adhesin sel mikroba juga menginaktifkan enzim dan mengganggu transport protein Sari dan Sari (2011). Untuk memelihara kelangsungan hidupnya, sel mikroba perlu mensintesis protein yang berlangsung di ribosom, gangguan protein akan berakibat sangat fatal dan anti mikroba dengan mekanisme kerja yang seperti ini memiliki daya anti bakteri yang kuat.

Mekanisme steroid sebagai antibakteri berhubungan dengan membran lipid dan sensitivitas terhadap komponen steroid yang menyebabkan kebocoran pada liposom. Steroid dapat berinteraksi dengan membran fosfolipid sel yang bersifat permeabel terhadap senyawa-senyawa lipofilik sehingga menyebabkan integritas membran menurun serta morfologi membran sel berubah yang menyebabkan sel rapuh dan lisis (Madduluri *et al.*, 2013).

Mekanisme triterpenoid sebagai antibakteri adalah bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri yang akan mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati. Menurut Park (2017) mekanisme aksi dari golongan senyawa triterpenoid juga berkaitan dengan penghambatan glycolisis, sintesis asam lemak, sintesis asam amino dan di sintesis peptidoglikan



Grafik 3. Absorbansi Rata-rata Kadar Hambat Minimum Ekstrak Etanol terhadap *Escherichia coli*

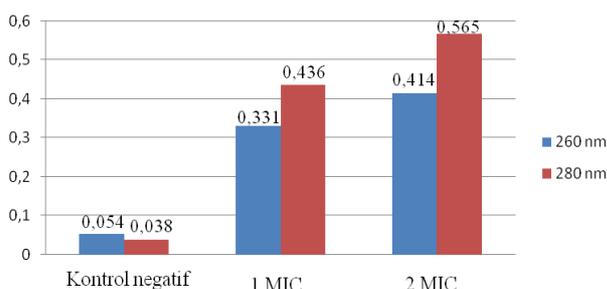


Grafik 4. Grafik Absorbansi Rata-Kadar Hambat Minimum Ekstrak Etanol terhadap *Staphylococcus aureus*

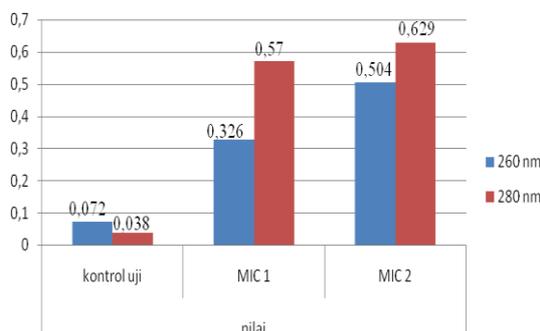
Metode selanjutnya yang dilakukan yakni uji aktivitas antibakteri menggunakan metode dilusi untuk menentukan nilai Kadar Hambat Minimum. Antibakteri yang mempunyai aktivitas paling tinggi pada uji daya hambat adalah ekstrak etanol sehingga dilanjutkan untuk uji Kadar Hambat Minimum. Konsentrasi pengenceran yang digunakan pada uji Kadar Hambat Minimum adalah 5 % - 25 %. Pengujian dilakukan dengan menggunakan media *Nutrien Broth* sebanyak 5 ml dan 10 µl suspensi bakteri serta dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 600 nm sebelum diinkubasi dan setelah diinkubasi.

Berdasarkan nilai KHM yang didapatkan dari konsentrasi 5 % - 25 % diperoleh nilai KHM 15 % untuk bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Berdasarkan hasil uji Kadar Hambat Minimum dapat dikatakan bahwa ekstrak etanol daun jati memiliki aktivitas yang cukup baik untuk bakteri gram negatif dan positif. Hasil uji statistik menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun jati sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dibandingkan dengan *Staphylococcus aureus*. Hal sesuai dengan teori bahwa *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif yang memiliki dinding yang terdiri 50 % peptidoglikan dan memiliki susunan dinding yang kompak (Poelongan, 2006), selain itu

peptidoglikan juga berselang seling dengan asam teikoat atau polimer asam yang lainnya. Bakteri gram positif memiliki struktur dinding sel yang tebal berlapis tunggal (mono), dinding selnya mengandung lipid, asam teikoat dan peptidoglikan. Berbeda halnya dengan *Escherichia coli* yang tidak memiliki susunan dinding sel seperti *Staphylococcus aureus* sehingga pada uji Kadar Hambat Minimum terlihat perbedaan nilai signifikan dari absorbansi yang diperoleh yang artinya *Escherichia coli* bisa dikatakan lebih peka terhadap ekstrak etanol daun jati daripada *Staphylococcus aureus*.



Grafik 5 Kebocoran Sel Protein dan Asam Nukleat Bakteri *Escherichia coli*



Grafik 6. Kebocoran Sel Protein dan Asam Nukleat *Staphylococcus aureus*

Pemberian ekstrak pada bakteri sesuai dengan KHM dapat mengakibatkan terjadinya kebocoran sel yang diamati dengan adanya kebocoran protein dan asam nukleat. Kebocoran metabolit ini dapat dideteksi dengan menggunakan spektrofotometer UV pada panjang gelombang 260 nm untuk asam nukleat dan 280 nm untuk protein. Dari keseluruhan bahan uji menunjukkan hasil bahwa ada peningkatan absorbansi yang terbaca antara nilai 1 KHM dan 2 KHM untuk seluruh bakteri uji.

Adanya kebocoran pada sel bakteri uji diduga diakibatkan oleh kandungan senyawa fenolik pada ekstrak. Menurut Fadhillah (2010), senyawa fenolik akan bereaksi dengan komponen fosfolipid dari membran sel yang kemudian akan menyebabkan terjadinya perubahan permeabilitas membran sel sehingga komponen intraseluler seperti asam-asam amino, asam nukleat serta protein akan keluar.

Peningkatan nilai absorbansi untuk asam nukleat dan protein pada panjang gelombang 260 nm dan 280 nm antara kontrol negatif, 1 KHM dan 2 KHM menunjukkan terjadinya kebocoran pada sitoplasma. Hal ini sesuai dengan pernyataan Miksusanti (2008) yang diacu dari Madani (2010), bahwa semakin tinggi konsentrasi KHM yang diberikan maka semakin tinggi pula nilai absorbansi yang terdeteksi atau semakin meningkat pula kebocoran asam nukleat maupun protein yang terjadi. Senyawa fenolik dapat berfungsi sebagai bahan antimikroba karena adanya gugus OH yang bersifat racun terhadap mikroba dan semakin banyak gugus OH yang ada pada senyawa tersebut maka semakin beracun bagi mikroba. Senyawa antimikroba dapat menghambat sintesa dinding sel dan merusak membran sel. Adanya kerusakan membran sel maka akan memudahkan asam-asam organik berpenetrasi ke membran sitoplasma dan menyebabkan perubahan kestabilan dinding yang akhirnya akan menyebabkan kebocoran ion.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Uji aktivitas daya hambat tertinggi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* adalah ekstrak etanol daun jati.
2. Nilai Konsentrasi Hambat Minimum yang diperoleh dari ekstrak etanol daun jati terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* masing-masing adalah 15 %.

DAFTAR PUSTAKA

- Anggrahini, Sri., S. Raden Rara., Santosa, Umar., 2007, *Pengaruh Penutupan Dengan Kain Hitam Dan Konsentrasi Etanol Terhadap Kandungan Kurkuminoid Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Simplisia Temulawak (curcuma canthorhiza)*, *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, Vol. XVIII No. 2.
- Cavalieri, S.J., I.D. Rankin., R.J. Harbeck., R.S. Sautter., Y.S. McCarter., S.E. Sharp., J.H. Ortez., dan C.A. Spiegel., 2005, *Manual of Antimicrobial Susceptibility Testing*, American Society for Microbiology, USA.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1989, *Materia Medika Indonesia*, Jilid V, Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI, 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta : Direktorat Jendral POM-Depkes RI.
- Hartati, R., S. A. Gana., dan K. Ruslan., 2005, *Telaah flavonoid dan Asam Fenolat Daun Jati (Tectona grandis L. f., verbenaceae)*, Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Heinrich, Michael., Barnes, Joanne., Gibbons, Simon., Williamso, Elisabeth M., 2004, *Fundamental of pharmacognosy and Phytotherapi*. Hungary Elseivier.
- Jawetz, E., Melnick, J., 2010, *Review of Medical Microbiology 15th edition*, Lange Medical Publication :California.

- Madduluri, Suresh. Rao, K.Babu. Sitaram, B. In Vitro Evaluation of Antibacterial Activity of Five Indigenous Plants Extract Against Five Bacterial Pathogens of Human, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2013:5(4): 679-684.
- Mercy Ngajow, Jemmy Abidjulu, Vanda S. Kamu.,2013, Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara *In vitro*.
- Nuryastuti, T., Van der Mei HC, Busscher HJ, Irvati S, Aman AT, and Krom BP., 2009, Effect of cinnamon oil on *Staphylococcus aureus* expression and biofilm formation by *Staphylococcus epidermidis*, *Appl Env Microbiol*,75:6850-6855.
- Saifudin, Aziz., Viesa Rahayu dan Hilwan Yuda Teruna., 2011, *Standarisasi. Bahan Obat Alam*, Yogyakarta : Graha Ilmu (buku standar ekstrak).
- Tjay, Tan Hoan dan Rahardja, K., 2010, *Obat – Obat Penting*, Jakarta : Alex Media Komputering.
- Zakaria, Z.A., Zaiton, H., Henie, E.F.P., Jais, A. M.M., and Zainuddin, E.N.H., 2007, In Vitro Antibacterial Activity of *Averrhoa bilimbi* L. Leaves and Fruits Extracts, *International Journal of Tropical Medicine* Zakaria, Z.A., Zaiton, H., Henie, E.F.P., Jais, A. M.M., and Zainuddin, E.N.H, In Vitro Antibacterial Activity of *Averrhoa bilimbi* L. Leaves and Fruits Extracts, *International Journal of Tropical Medicine*.

- Sulastris, E., Cristadeolia, O., dan Yusriadi., 2015. “Yangmulasi Mikroemulsi Ekstrak Bawang Hutan dan Uji Aktivitas Antioksidan”. *Jurnal Pharmascience*. Vol.2 (2).
- Susanti Indah Tri, 2006. “Perbandingan Efektifitas Pemberian Perasan Rimpang Temulawak (*Curcuma Xanthorriza, Roxb*) Dengan Mebdanazol Terhadap Viabilitas Telur Cacing *Ascaridia Galli* Secara *In Vitro*”. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.
- Tiwow, D., Widdhi Bodhi, Novel S.Kojong, 2013.” Uji Efek Antelmintik Ekstrak Etanol Biji Pinang (*Areca Catechu*) Terhadap Cacing *Ascaris Lumbricoide* Dan *Ascaridia Galli* Secara *In Vitro*”. *PHARMACON Jurnal Ilmiah Farmasi-UNSRAT* Vol. 2 No. 02 Mei 2013 ISSN 2302 – 2493.