

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL 96% DAUN RAMBAI
(*Sonneratia caseolaris*, (L.) Engl) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI
*Escherichia coli***

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF 96% ETHANOL EXTRACT OF RAMBAI
LEAF (*Sonneratia caseolaris*, (L.) Engl) AGAINST *Escherichia coli* Bacterium.**

Sogandi, Frensiska Anggelia, Lilih Riniwasih K
Fakultas Farmasi Universitas 17 Agustus 1945 Jakarta

ABSTRAK

Kebanyakan masyarakat Indonesia telah mengenal obat-obatan tradisional dan lebih suka menggunakan obat-obatan tradisional untuk mengobati berbagai penyakit. Di Kalimantan Tengah buah rambai dapat dimakan demikian pula daunnya digunakan untuk mengobati penyakit cacar, obat diare dan mengobati luka memar dikulit, daun rambai mengandung tanin, flavonoid dan saponin. Tujuan peneliti ini untuk mengetahui efektivitas ekstrak daun rambai (*Sonneratia caseolaris* (L.) Engl) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* (ATCC 25922). Metode yang digunakan adalah metode difusi cakram tujuannya untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol 96% daun rambai (*Sonneratia caseolaris* (L.) Engl). Kotrimoxazol 25 μ g digunakan sebagai pembanding aktivitas antibakteri. Ekstrak etanol 96% daun rambai (*Sonneratia caseolaris* (L.) Engl) menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli*. Aktivitas antibakteri yang paling tinggi adalah pada konsentrasi 100% dengan rerata diameter adalah 22,48 mm.

Kata Kunci: *Sonneratia caseolaris* L. Engl, antibakteri, difusi cakram

ABSTRACT

*Most Indonesian people have known traditional medicine and prefer to use traditional medicine to treat various diseases. In Central Kalimantan, rambai fruit is edible as well as its leaves are used to treat smallpox, diarrhea and skin bruises. Rambai leaves contain tannins, flavonoids and saponins. The purpose of this study is to determine the effectiveness of the extract of Rambai leaf (*Sonneratia caseolaris* (L.) Engl) in inhibiting the growth of *Escherichia coli* bacterium (ATCC 25922). The method used is disc diffusion method to determine the antibacterial activity of 96% ethanol extract of the Rambai leaf (*Sonneratia caseolaris* (L.) Engl). Cotrimoxazole 25 μ g is used as a comparison of antibacterial activity. 96% ethanol extract of Rambai leaf (*Sonneratia caseolaris* (L.) Engl) shows antibacterial activity against *Escherichia coli*. The highest antibacterial activity is at a concentration of 100% with a mean diameter of 22.48 mm.*

Keywords: *Sonneratia caseolaris*, L. Engl, antibacterial, disc diffusion

PENDAHULUAN

Bangsa Indonesia yang terdiri dari berbagai suku memiliki keanekaragaman obat tradisional yang dibuat dari bahan-bahan alami bumi Indonesia, termasuk tanaman obat. Indonesia yang dianugerahi kekayaan keanekaragaman hayati tersebut, memiliki lebih dari 30.000 spesies tanaman dan 940 spesies diantaranya diketahui berkhasiat sebagai obat atau digunakan sebagai bahan obat (Puslitbangtri,1992).

Pemanfaatan dan pengembangan obat tradisional merupakan warisan turun temurun berdasarkan pengalaman dan selanjutnya berkembang melalui pembuktian ilmiah dengan uji pra klinik dan uji klinik. Obat tradisional yang didasarkan pada pendekatan “warisan turun-temurun” disebut jamu sedangkan yang berdasarkan pendekatan ilmiah melalui uji pra klinik disebut obat herbal terstandar dan yang telah melalui uji klinik disebut fitofarmaka (Depkes RI, 2007).

Salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai obat tradisional adalah daun rambai (*Sonneratia caseolaris* (L.) Engl), di Kalimantan Tengah buah rambai dapat dimakan demikian pula daunnya digunakan untuk mengobati penyakit cacar, obat diare dan mengobati luka memar dikulit. Berdasarkan penelitian Pratiwi 2012, daun rambai mengandung tanin, flavonoid dan saponin.

Diare adalah suatu keadaan bertambahnya kekerapan dan keenceran buang air besar, kekerapan yang dianggap masih normal adalah sekitar 1-3 kali dengan volume 200-250 gram sehari (Tarigan, 1990). Diare dapat disebabkan oleh virus, bakteri dan penyebab lain diantaranya lingkungan yang kurang bersih, alergi makanan, obat-obatan, gangguan gastrointestinal. Perkembangan penyakit diare di Indonesia berkaitan erat dengan musim dan perilaku hidup sehat yang belum membudaya di masyarakat. Pada infeksi bakteri paling tidak ada dua mekanisme yang berkerja peningkatan sekresi usus dan penurunan absorpsi di usus. Infeksi bakteri menyebabkan inflamasi dan mengeluarkan toksik yang menyebabkan terjadinya diare. Infeksi bakteri yang invasif mengakibatkan pendarahan atau adanya leukosit dalam feses (Hendarwanto, 1998).

Namun hingga saat ini, belum ada penelitian yang tertuju pada bagaimana aktivitas antibakteri dari daun rambai sebagai obat alam yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Berdasarkan hal tersebut diatas, maka penelitian tertarik untuk melakukan penelitian mengenai aktivitas ekstrak daun rambai dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Penelitian ini diharapkan dapat mengetahui aktivitas ekstrak daun rambai dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* sehingga nantinya dapat digunakan sebagai alternatif pengobatan tradisional.

BAHAN DAN METODE

Alat. Autoklaf (Naberthem®), *Laminar air flow*(LAF), Oven (Nabertherm®), Inkubator (Memmert®), Nephelometer (Phoenix-BD®), Cawan petri (Pyrex®), Timbangan elektrik (Matrix), Pipet volume (Pyrex®), Corong (Pyrex®), Kertas saring, Mikro pipet (Eppendorf®), Pinset, Batang Pengaduk, Erlenmeyer (Pyrex®), Kawat ose, Tabung reaksi (Pyrex®), Labu ukur (Pyrex®), Mixer Vortex (VWR®), Pemijar Ose (Aoseng®) dan Blank paper disc.

Bahan. Serbuk simplisia daun rambai (*Sonneratia caseolaris*, (L.) Engl), bakteri *Escherichia coli* (ATCC 25922), Media *Mueller Hinton*, Kotrimoxazol 25µg, Bahan Etanol, Metanol, CHCl₃, H₂SO₄(p), Asam Asetat Anhidrat, Amil Alkohol, FeCl₃, Logam Mg, NH₄OH, Fehling A, fehling B, Mayer, Dragendrof dan Bouchardat dan HCL pekat.

Metode

Pembuatan ekstrak etanol 96% daun rambai

Sampel daun rambai diperoleh dari pinggir sungai Pangkoh kemudian dikumpul dan dibersihkan. Proses ekstraksi dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Daun rambai di glinder hingga berbentuk bubuk daun rambai kemudian dimasukkan kedalam wadah tertutup, ditambahkan dengan pelarut etanol 96 % lalu dikocok kemudian direndam dan ditutup dengan alumunium foil. Proses ekstraksi dilakukan secara maserasi selama 3x24 jam. Kemudian dilakukan penyaringan dan didapatkan filtratnya. Filtrat yang didapat kemudian diuapkan pelarutnya dengan rotary evaporator pada suhu 5 C hingga didapat ekstrak kental yang bebas dari pelarut. Ekstrak daun rambai yang dihasilkan akan digunakan untuk pengujian selanjutnya.

Uji Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia bertujuan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak etanol 96% daun rambai sehingga dapat diketahui senyawa yang berpotensi sebagai antibakteri.

a. Identifikasi MinyakAtsiri

Ekstrak kental ditambahkan alkohol kemudian diuapkan , jika larutan alkohol yang telah diuapkan berbau aromatis maka positif mengandung minyak atsiri (Farnsworth, 1996).

b. Identifikasi Lemak dan Minyak Lemak

Ekstrak kental ditambahkan alkohol diuapkan pada cawan uap, kemudian ditambahkan KOH 5% dalam alkohol dan direfluks. Jika terdapat tetesan-tetesan minyak berarti positif mengandung minyak lemak (Depkes RI,2000).

c. Identifikasi Steroid dan Terpenoid

Ekstrak kental dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan 2 tetes asam asetat anhidrat kemudian ditambahkan 2 tetes asam sulfat pekat melalui dinding tabung reaksi. Untuk positif steroid terbentuk cincin warna hijau atau biru dan untuk positif terpenoid terbentuk cincin hijau atau merah (Depkes RI, 2000).

d. Identifikasi Alkaloid

Ekstrak kental ditambahkan dengan asam klorida 2 N, kemudian ditambahkan ammonia hidroksida dan kloroform lalu kocok, ambil lapisan air, lalu dibagi menjadi 3 bagian, dimasukkan kedalam tabung reaksi. Tabung reaksi pertama direaksikan dengan pereaksi Meyer akan menunjukkan endapan putih, dan dengan pereaksi Dragendorff endapan jingga dan endapan coklat pada pereaksi Bouchardad (Depkes RI, 2000).

e. Identifikasi Tanin

Ekstrak kental ditambahkan 3 tetes larutan FeCl_3 , lalu diamati perubahan warnayang terjadi. Jika terbentuk warna biru maka positif tanin (Farnsworth, 1996).

f. Identifikasi Gula pereduksi

Ekstrak kental ditambahkan 2 tetes larutan Fehling A dan 2 tetes larutan Fehling B, kemudian dipanaskan di waterbath. Jika terbentuk endapan merah bata maka positif mengandung gula pereduksi (Depkes RI, 2000).

g. Identifikasi Flavonoid

Ekstrak kental ditambahkan asam klorida pekat dan kemudian ditambahkan logam Mg. Kemudian tunggu sampai dingin lalu ditambahkan amil alkohol, kocok. Jika warna merah naik keatas positif flavonoid (Farnsworth, 1996).

h. Identifikasi Saponin

Ekstrak kental diencer 1:1 dengan air, kemudian kocok selama 10-15 menit secara vertikal, apabila busa yang dihasilkan stabil setelah didiamkan selama 15 menit, menunjukkan adanya saponin (Farnsworth, 1996).

Rancangan Penelitian

Kelompok pengujian terbagi menjadi 2 kelompok yakni kelompok kontrol dan kelompok eksperimen. Kelompok kontrol terdiri dari kelompok kontrol positif (berisi antibiotik) dan kelompok kontrol negatif (berisi aqudest steril) dan kelompok eksperimen terdiri dari empat dosis ekstrak yaitu 25%, 50%, 75%, dan 100%.

Penyetaraan Kekeuhan Bakteri

Bakteri *Escherichia coli* yang digunakan adalah ATCC 25922 yang diperoleh dari Balai Besar Laboratorium Kesehatan (BBLK) dilakukan peremajaan terlebih dahulu kemudian dilakukan pemeriksaan dengan pewarnaan gram dengan tujuan mengetahui bakteri tersebut adalah benar *Escherichia coli*. Bakteri hasil peremajaan dibuat suspensi bakteri dengan melarutkan beberapa ose bakteri kedalam NaCl 0,9% sampai kekeruhannya sama dengan standar 0,5 Mc. Farland (Schoots, 2007).

Pembuatan Dosis Ekstrak

Pada pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun rambai, ekstrak dibuat larutan induk dengan konsentrasi 100%. Ekstrak daun rambai ditimbang sebanyak 10 gram kemudian dilarutkan dengan 10 ml aquadest. Dari larutan induk, diencerkan menjadi beberapa seri konsentrasi, yaitu 75%, 50% dan 25%.

Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian bakteri ini dilakukan dengan metode difusi, terdiri dari 6 kelompok perlakuan yaitu 4 konsentrasi ekstrak (25%, 50%, 75%, 100%) 1 kelompok kontrol negatif (aquadest steril) dan 1 kelompok kontrol positif (kotrimoxazol 25 μ g) dengan 5 kali pengulangan. Media *Mueller Hinton* yang telah disterilkan dimasukkan kedalam masing-masing cawan petri sebanyak \pm 20ml sampai media menjadi padat. Suspensi bakteri *Escherichia coli* yang sudah disetarakan dengan standar kekeuhan Mc. Farland diswab menggunakan *cotton bud* steril pada media pertumbuhan *Mueller Hinton*. Cakram kosong dicelupkan dan direndam kedalam masing-masing konsentrasi ekstrak daun rambai kemudian diletakkan diatas permukaan media agar secara steril di dalam laminar air flow. Kemudian semua cawan petri yang telah diberi perlakuan, diinkubasi kedalam inkubator. Inkubasi dilakukan pada suhu 37⁰C selama 18-24 jam. Kemudian diukur diameter daerah bening (*clear zone*) dengan jangka sorong (Oxoid, 1982).

Analisis Data

Diameter daerah bening (*clear zone*) yang terbentuk disekitar cakram dianalisis menggunakan data statistik. Zona hambat yang terbentuk diuji menggunakan uji normalitas metode *Kolmogrov-Smirnov* dan uji homogenitas metode *Levene*, uji ANOVA (*Analysis of Variance*) satu arah dan apabila menunjukkan adanya perbedaan pengaruh pemberian larutan uji terhadap efek antimikroba pada pasangan kelompok perlakuan maka data tersebut dilanjutkan dengan uji perbandingan berganda menggunakan metode *Least Significant Different* (LSD) (Santoso, 2015).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil pembuatan ekstrak daun rambai, 1500 gram serbuk daun rambai menghasilkan 116,1 gram ekstrak kental maka nilai rendemen yang diperoleh adalah 7,74%. Dan susut pengeringan yang diperoleh adalah 8,43%. Metode maserasi dipilih karena merupakan cara penyarian yang sederhana, alat yang digunakan hanya bejana untuk merendam simplisia. Etanol adalah pelarut yang bersifat polar, penggunaan etanol sebagai pelarut dalam ekstraksi karena dapat meningkatkan permeabilitas dinding sel simplisia sehingga penarikan senyawa polar maupun semipolar yang diduga berkhasiat sebagai antibakteri pada proses ekstraksi lebih mudah ditarik serta tidak beracun. Hasil skrining fitokimia dari ekstrak etanol 96% daun rambai mengandung senyawa saponin, tanin dan flavonoid yang diduga berkhasiat sebagai antibakteri.

Uji aktivitas antibakteri dilakukan untuk mengetahui aktivitas ekstrak etanol 96% daun rambai terhadap bakteri *Escherichia coli*. Uji ini dilakukan dengan menggunakan metode difusi yang bertujuan untuk mengetahui besar diameter zona hambat yaitu daerah bening disekitar *blind disk* yang menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Dari hasil pengukur zona hambat dengan masing-masing konsentrasi ekstrak daun rambai terhadap bakteri *Escherichia coli* menunjukkan hasil yang bervariasi.

Tabel 1. Hasil zona hambat ekstrak 96% daun rambai

Pengulangan	KKP	KKN	KE1	KE2	KE3	KE4
			25%	50%	75%	100%
1	32,45	6	12,90	15,95	17,65	21,60
2	33,25	6	12,30	16,90	28,10	22,25
3	33,75	6	13,25	16,45	18,98	22,45
4	32,50	6	14,25	16,25	18,15	22,65
5	33,50	6	13,60	17,15	18,60	23,45
Rata ²	33,09	6	13,26	16,54	18,29	22,48

Hasil penelitian ekstrak etanol 96% daun rambai (*Sonneratiacaseolaris* (L.) Engl) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* menunjukkan bahwa untuk kelompok control hanya kelompok kontrol positif (KKP) yaitu cakram antibiotik Kotrimoxazol 25 g Berdasarkan hasil ujiaktivitasterlihat bahwa zona terkecil pada konsentrasi ekstrak daun rambai pada 25% dengan rata-rata diameter 13,26mm sedangkan zona terbesar pada konsentrasi ekstrak yang memberikan zona hambat pada pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan diameter rata-rata zona hambat 33,09 mm, sementara untuk kelompok kontrol negatif (KKN) tidak memberikan zona hambat pada pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* daun rambai 100% dengan rata-rata diameter 22,48 mm. Apabila diurutkan rerata zona hambat konsentrasi rendah

hingga tinggi akan terlihat peningkatan zona hambat. Ini dikarenakan akibat jumlah senyawa antibakteri yang dilepaskan akan semakin besar dengan adanya penambahan konsentrasi sehingga mempermudah penetrasi senyawa tersebut kedalam sel bakteri dengan mekanismenya masing-masing. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin besar aktivitas antibakterinya dan makin luas diameter daerah hambat yang terbentuk.

Berdasarkan perhitungan statistik dengan pengolahan data menggunakan SPSS, uji normalitas pada ekstrak daun rambai menggunakan metode *Kolmogorov-Sminorv* diperoleh nilai Sig 0,200, nilai Sig $>\alpha= 0,05$ menunjukkan bahwa data terdistribusi normal. Kemudian untuk uji homogenitas menggunakan metode Levene diperoleh nilai Sig 0,099, nilai Sig $>\alpha= 0,05$ menunjukkan bahwa data homogen. Selanjutnya data yang sudah terdistribusi normal dan homogen dapat dilanjutkan dengan analisis data dengan menggunakan uji parametrik analisis variansi (ANOVA) untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan zona hambat ekstrak etanol daun rambai (*Sonneratia caseolaris* (L.) Engl) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Hasil uji ini diperoleh nilai Sig = 0,000 $<\alpha = 0,05$ menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antara masing-masing kelompok perlakuan. Selanjutnya analisa dilakukan uji *Least Significant Different* (LSD) hasil dari uji LSD menunjukkan perbedaan yang nyata antar pasangan kelompok perlakuan.

SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat ditarik kesimpulan bahwa ekstrak etanol daun rambai dalam penelitian ini memiliki efektivitas sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*, pada konsentrasi 25% memiliki diameter zonat hambat yaitu 13,26 mm, konsentrasi 50% memiliki diameter zona hambat yaitu 16,54 mm, konsentrasi 75% memiliki diameter zona hambat yaitu 18,29 mm sedangkan konsentrasi 100% memiliki diameter zona hambat yaitu 22,48 mm tetapi jika dibandingkan dengan kotrimoxazol 25 μ g maka kotrimoxazol memiliki efek antibakteri yang lebih baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Depkes RI. 2000. *Parameter Standart Umum Ekstak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Farnsworth, N.R., 1996, *Biological and Pytocheal Screening of Plants Journal Of Pharmaceutical Sciences*, 55(3),226-227
- Hendarwanto, 1998. *Buku Ajaran Ilmu Penyakit Dalam*, jilid 1, Edisi Ketiga, Balai Penerbitan FKUI, Jakarta. Hal : 451-457.
- Jawetz. E, Melnick. J.L, Adelberg. E.A. 2007. *Medical Microbiology*. Ed 23. Elferia NR, Penerjemah; Jakarta. Hal 1,4,254

- Oxoid. 1982. *The Oxoid Manual Of Culture Media Ingredients And Other Laboratory Services*, edisi IX, Tunergraphic Ltd., Basingstoke, England. Hal 212
- Pratiwi, Yuslian. 2012. *Skirning Fitokimia Pada Daun Rambai (Soneneratia caseolaris) Sebagai Obat Tradisional*. Universtias Muhammadiyah Palangkaraya
- Puslitbangtri. 1992. Dalam Obat Tradisional dan Pemanfaatannya. <http://yprawira.wordpress.com/obat-tradisional-dan-pemanfaatannya>. Diakses 15/10/2015
- Santoso, Singgih. 2015. *Pengolahan Data Statistik di Era Informasi*, Panduan Lengkap SPSS Versi 20, Jakarta : PT Elex Media Komputindo-Kompas Gramedia. Hal 275-284
- Scotts, dan Bailey. 2007. *Diagnostic Microbiology*, Twelfth Edition, Mosby Inc. Hal : 187-189.