

**UJI *IN-VITRO* AKTIVITAS ANTIBAKTERI *INFUSUM* KULIT BUAH
DELIMA (*Granati Pericarpium cortex*) TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli***

Undang Ruhimat, Milda

Program Studi DIII Analis Kesehatan STIKes BTH Tasikmalaya

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian uji *in-vitro* aktivitas antibakteri *infusum* kulit buah delima (*Granati Pericarpium cortex*) terhadap bakteri *Escherichia coli*, untuk mengetahui konsentrasi hambat minimum (KHM) *infusum* kulit buah delima (*Granati Pericarpium cortex*) terhadap bakteri *Escherichia coli*.

Pengujian dilakukan terhadap *infusum* kulit buah delima merah. Konsentrasi pengenceran *infusum* yang diteliti adalah 3.50%, 3.15%, 2.80%, 2.45%, 2.10%, dan 1.75% yang diujikan terhadap bakteri *Escherichia coli* type *Enteropatogenic Escherichia coli* (EPEC), dengan kepadatan bakteri 3×10^6 /ml, menggunakan metode Kirby-Bauer.

Dari hasil penelitian, dapat diketahui bahwa pada konsentrasi *infusum* kulit buah delima 3.50% dan 3.15% terbentuk zona jernih yang berarti pada konsentrasi tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Sedangkan pada konsentrasi *infusum* 2.80%, 2.45%, 2.10%, dan 1.75% tidak terbentuk zona jernih, yang berarti pada konsentrasi tersebut tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

Berdasarkan hasil penelitian uji *in-vitro* aktivitas antibakteri *infusum* kulit buah delima (*Granati Pericarpium cortex*) terhadap bakteri *Escherichia coli* pada media Mueller-Hinton, dapat ditarik kesimpulan bahwa konsentrasi hambat minimum (KHM) *infusum* kulit buah delima terhadap bakteri *Escherichia coli* adalah 3.15%.

ABSTRACT

Studies have been conducted *in-vitro* tests *infusum* antibacterial activity of pomegranate rind (*Granati Pericarpium cortex*) of the bacterium *Escherichia coli*, to determine the minimum inhibitory concentration (MIC) of pomegranate peel *infusum* (*Granati Pericarpium cortex*) of the bacterium *Escherichia coli*.

Tests conducted on *infusum* red pomegranate peel. *Infusum* dilution concentrations studied were 3.50%, 3.15%, 2.80%, 2.45%, 2.10%, and 1.75% were tested against *Escherichia coli* bacteria Enteropatogenic type *Escherichia coli* (EPEC), with a density of 3×10^6 /ml bacteria, using the method of Kirby -Bauer.

From the research, it is known that the concentration of pomegranate rind *infusum* 3.50% and 3.15% which means the clear zone formed at these concentrations can inhibit the growth of bacteria *Escherichia coli*. Meanwhile, at a concentration of 2.80% *infusum*, 2.45%, 2.10%, and 1.75% did not form clear zones, which means that the concentration is not to inhibit the growth of bacteria *Escherichia coli*.

Based on the test results *in-vitro* antibacterial activity of pomegranate peel *infusum* (*Granati Pericarpium cortex*) of the bacterium *Escherichia coli* in Mueller-Hinton medium, it can be concluded that the minimum inhibitory concentration (MIC) of pomegranate peel *infusum* against bacteria *Escherichia coli* is 3.15%.

PENDAHULUAN

Dewasa ini, masyarakat Indonesia dalam situasi kondisi perekonomian yang kurang menguntungkan, khususnya di bidang pemeliharaan kesehatan. Ini memaksa

kita untuk menengok kembali potensi alam nabati, dalam upaya menanggulangi berbagai penyakit atau gangguan kesehatan yang mungkin timbul.

Salah satu potensi alam nabati yang dapat digunakan dalam upaya

menanggulangi penyakit adalah buah delima (*Punica granatum* Linn). Akhir-akhir ini, di Indonesia semakin sedikit orang yang menanam atau memiliki tanaman buah ini, padahal tanaman ini dapat tumbuh di dataran rendah maupun dataran tinggi. Selain itu, buah delima terutama kulit buahnya terbukti banyak khasiatnya dan telah digunakan sebagai obat sejak berabad-abad lalu. Salah satu khasiat penting kulit buah delima adalah sebagai antidiare. Sekarang ini obat antidiare memang terus dikembangkan, karena penyakit diare masih termasuk kedalam salah satu penyakit yang menyebabkan kematian terbesar di Indonesia. Penyebab diare pada umumnya adalah *Vibrio cholera*, *Shigella dysenteriae*, *Salmonella*, *Clostridium perfringens* dan *Escherichia coli*. Diare karena *Escherichia coli* dapat terjadi secara parah bahkan menyebabkan kematian.

TINJAUAN PUSTAKA

Kulit buah delima rasanya asam, pahit, sifatnya *astringen*. Berkhasiat menghentikan perdarahan (hemostasis), peluruh cacing usus (vermifuga), antidiare, dan antivirus. Kulit buah dan bunganya merupakan *astringen* kuat. Rebusan keduanya bisa menghentikan perdarahan. Kulit buah mengandung alkaloid *pelletierine*, granatin, *betulic acid*, *ursolic acid*, *isoquercitrin*, tannin, resin, triterpenoid, kalsium oksalat, dan pati. Kulit akar dan kulit kayu mengandung sekitar 20% tannin dan 0,5-1% senyawa alkaloid, antara lain alkaloid *pelletierine* ($C_8H_{14}NO$), *pseudopelletierine* ($C_9H_{15}NO$), *metilpelletierine* ($C_8H_{14}NO.CH_3$), *isopelletierine* ($C_8H_{15}NO$), dan *metilisopelletierine* ($C_9H_{17}NO$). Daun mengandung alkaloid, tannin, kalsium oksalat, lemak, sulfur, peroksidase (Setiawan Dalimartha, 2005 : 10).

Di dalam tubuh terdapat berbagai jenis kuman yang jika tubuh dalam keadaan sehat bersifat komensal (diam). Namun, ketika tubuh sakit atau lemah kondisinya, kuman akan menjadi

patogen, menimbulkan berbagai gangguan. Dalam keadaan biasa, makanan dari usus halus yang masuk ke dalam usus besar tidak menimbulkan masalah karena ada kelep yang menghalangi kembalinya kuman dari usus besar ke dalam usus halus. Namun, jika kelepnya rusak, berbagai macam kuman patogen akan masuk, seperti *Escherichia coli* atau jenis vibrio sebagai penyebab muntaber, mencret yang disertai gejala muntah-muntah.

Berak-berak yang mendadak biasanya disebabkan karena keracunan makanan, makan makanan yang kemasukan kuman. Berak-berak yang berlangsung lama dapat terjadi karena peradangan usus atau sehabis operasi lambung. Kanker usus atau alergi dapat pula menyebabkan diare yang berlangsung lama (Oswari, 2003 : 66).

Escherichia coli adalah kuman oportunistik yang banyak ditemukan di dalam usus besar manusia sebagai flora normal. Sifatnya unik karena dapat menyebabkan infeksi primer pada usus misalnya diare pada anak, seperti juga kemampuannya menimbulkan infeksi pada jaringan tubuh lain di luar usus. Bakteri *Escherichia coli* berbentuk batang pendek (kokobasil), dengan panjang 1-3 μ m dan lebar 0,4-0,7 μ m, bersifat gram negatif, tidak berkapsula dan dapat bergerak aktif. *Escherichia coli* merupakan struktur antigenik yang kompleks. Mereka diklasifikasikan oleh lebih dari 150 antigen somatik O yang tahan panas (lipopolisakarida) yang berbeda, lebih dari 100 antigen K (kapsular) yang tidak tahan panas, dan lebih dari 50 antigen H (flagellar).

Antigen O merupakan bagian terluar dinding sel lipopolisakarida dan terdiri dari unit berulang polisakarida. Beberapa polisakarida spesifik O mengandung gula unik. Antigen O tahan terhadap panas dan alkohol dan biasanya dideteksi dengan cara aglutinasi bakteri. Antibodi terhadap antigen O adalah IgM. Biasanya antigen O berhubungan dengan penyakit khusus pada manusia, misalnya tipe spesifik O dari *Escherichia coli* ditemukan pada diare dan infeksi saluran kemih.

Antigen K dari *Escherichia coli* adalah polisakarida. Strain *Escherichia coli* memproduksi antigen K1 yang merupakan penyebab utama pada meningitis neonatal, dan antigen K dari *Escherichia coli* menyebabkan perlekatan bakteri pada sel epitelial yang memungkinkan invasi ke sistem gastrointestinal atau saluran air kemih. Antigen H terletak pada flagella dan didenaturasi atau dihilangkan oleh panas atau alkohol. Antigen H dapat diawetkan dengan pemberian formalin pada varian bakteri yang motil. Antigen H mengadakan aglutinasi dengan antibody H, biasanya IgG. Penentu dalam antigen H merupakan fungsi dari rangkaian asam amino pada protein flagella/flagellin (Agus Syahrurahman, dkk., 1994).

METODE PENELITIAN

Metode pemeriksaan yang digunakan pada penelitian ini adalah metode Kirby-Bauer atau disebut pula dengan cara cakram, mengingat cara ini adalah cara yang paling banyak dipakai untuk menentukan kepekaan kuman dan telah sesuai dengan standar yang ditetapkan WHO.

PROSEDUR PENELITIAN

1. Pembuatan Simplisia Kering
 - a. Untuk mendapatkan bahan yang terbaik dari tumbuhan obat, perlu diperhatikan saat-saat pengumpulan atau pemetikan bahan berkhasiat, misalnya buah

(delima/*Punica granatum* L.) dipetik dalam keadaan masak.

- b. Bahan obat (kulit buah delima/*Granati Pericarpium cortex*) yang sudah dikumpulkan segera dicuci bersih, sebaiknya dengan air yang mengalir.
 - c. Bahan (kulit buah delima) berukuran besar diiris-iris tipis.
 - d. Pengerinan bisa langsung di bawah sinar matahari atau menggunakan oven.
 - e. Bahan kering dihaluskan, dapat menggunakan blender kemudian di ayak sehingga diperoleh serbuk halus.
2. Pembuatan Infusum
 - a. Ditimbang 3.5 gram serbuk kulit buah delima, kemudian dimasukkan ke dalam gelas kimia.
 - b. Di dalam gelas kimia, serbuk kulit buah delima ditambahkan *aquadest* sampai volume 100 ml.
 - c. Dipanaskan dalam *waterbath* selama 15 menit terhitung mulai suhu 90°C, sambil ditutup dengan kaca arloji.
 - d. Selagi panas, infusum kulit buah delima disaring melalui kain. Dari pembuatan infusum tersebut, didapatkan konsentrasi 3.50%, kemudian dibuat pengenceran konsentrasi infusum 3.15%, 2.80%, 2.45%, 2.10% dan 1.75%, kemudian disterilkan dengan menggunakan *autoclave* selama 15 menit terhitung mulai suhu 121°C.

Pengenceran Konsentrasi Infusum Kulit Buah Delima

No.	Konsentrasi	Volume Infusum (ml)	Volume Aquadest (ml)	Total (ml)
1	3.50%	10	-	10
2	3.15%	9	1	10
3	2.80%	8	2	10
4	2.45%	7	3	10
5	2.10%	6	4	10
6	1.75%	5	5	10

Uji Aktivitas Antibakteri

- a. Suspensi bakteri *Escherichia coli* dengan kepadatan 3×10^7 /ml disebarakan dengan batang kaca

bengkok ke dalam media Mueller-Hinton yang sudah beku sebanyak 0.1 ml. Lempengan

- agar dibiarkan mengering selama 5 menit.
- b. Kemudian diletakkan kertas cakram di atas agar yang sudah ditanami bakteri.
 - c. Diteteskan infusum kulit buah delima 20µl dengan berbagai konsentrasi pada kertas cakram menggunakan *clinipette*.
 - d. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.
 - e. Selain pengerjaan sampel, dilakukan pula pembuatan kontrol positif (media Mueller-Hinton + suspensi bakteri), kontrol negatif (media Mueller-Hinton).

- f. Diamati adanya daerah hambatan berupa zona jernih di sekitar kertas cakram.
- g. Cara perhitungan diameter zona hambatan:
 Diameter zona hambat = diameter zona keseluruhan – diameter kertas cakram.

HASIL PENELITIAN

Dari hasil penelitian uji *in-vitro* aktivitas antibakteri *infusum* kulit buah delima (*Granati Pericarpium cortex*) terhadap bakteri *Escherichia coli* pada media Mueller-Hinton, diperoleh hasil sebagai berikut:

Hasil Penelitian Uji *In-Vitro* Aktivitas Antibakteri

No.	Konsentrasi Infusum		Diameter Zona Hambat (mm)	Rata-Rata (mm)	Keterangan
	Infusum	Ulangan			
1	3.50%	I	1.55	1.62	Terbentuk zona jernih (menghambat pertumbuhan bakteri)
		II	1.60		
		III	1.70		
2	3.15%	I	0.85	0.83	Terbentuk zona jernih (menghambat pertumbuhan bakteri)
		II	0.75		
		III	0.90		
3	2.80%	I	-	-	Tidak ada zona jernih (tidak menghambat pertumbuhan bakteri)
		II	-		
		III	-		
4	2.45%	I	-	-	Tidak ada zona jernih (tidak menghambat pertumbuhan bakteri)
		II	-		
		III	-		
5	2.10%	I	-	-	Tidak ada zona jernih (tidak menghambat pertumbuhan bakteri)
		II	-		
		III	-		
6	1.75%	I	-	-	Tidak ada zona jernih (tidak menghambat pertumbuhan bakteri)
		II	-		
		III	-		

Dari Tabel diatas dapat dilihat bahwa pada konsentrasi *infusum* kulit buah delima (*Granati Pericarpium cortex*) 3.50% dan 3.15% terbentuk zona jernih, artinya pada konsentrasi tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Sedangkan pada konsentrasi infusum kulit buah delima (*Granati Pericarpium cortex*) yang lebih kecil dari 3.15%, yaitu pada konsentrasi infusum 2.80%, 2.45%, 2.15% dan 1.75% tidak terbentuk zona jernih, artinya pada konsentrasi tersebut tidak dapat

menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat diketahui bahwa konsentrasi hambat minimum (KHM) *infusum* kulit buah delima terhadap bakteri *Escherichia coli* adalah 3.15% dengan diameter zona hambat sebesar 0.83 mm.

Konsentrasi *infusum* 3.15% ditentukan sebagai konsentrasi hambat minimum (KHM), karena zona hambat mulai terbentuk pada konsentrasi 3.15%

dan terbentuk pula pada konsentrasi di atas 3.15%, yaitu konsentrasi 3.50%. Sedangkan pada konsentrasi di bawah atau yang lebih kecil dari 3.15%, yaitu konsentrasi 2.80%, 2.45%, 2.10%, dan 1.75% tidak terbentuk zona hambat atau zona jernih di sekitar kertas cakram. Penentuan konsentrasi hambat minimum (KHM) ini cukup akurat, karena interval antar konsentrasi cukup kecil, yaitu 0.35%.

Penentuan variasi konsentrasi infusum kulit buah delima yang digunakan pada penelitian ini, didasarkan pada hasil uji pendahuluan. Pada saat uji pendahuluan, variasi konsentrasi infusum yang digunakan adalah 17.50%, 15.75%, 14.00%, 12.25%, 10.50%, 8.75%, 7.00%, 5.25%, 3.50%, dan 1.75%, dengan hasil bahwa zona hambat mulai terbentuk pada konsentrasi 3.50%. Sehingga, pada penelitian ini dilanjutkan dengan pemeriksaan konsentrasi infusum mulai 1.75% sampai 3.50%.

Zona hambat atau zona jernih yang terbentuk pada masing-masing konsentrasi infusum (konsentrasi 3.15% dan 3.50%) berbeda, semakin besar konsentrasi infusum kulit buah delima, maka semakin besar pula diameter zona jernih yang terbentuk. Fenomena tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi infusum kulit buah delima, maka semakin besar pula daya hambat terhadap bakteri *Escherichia coli*. Hal ini disebabkan dalam kulit buah delima (*Granati Pericarpium cortex*) mengandung senyawa-senyawa kimia yang bersifat antibakteri. Senyawa antibakteri yang paling banyak terkandung dalam kulit buah delima adalah senyawa tannin, yaitu sebesar 25% sampai 28% (Seno Sastroamidjojo, 2001 : 77).

Tannin biasanya berupa senyawa amorf, higroskopis, berwarna coklat kuning yang larut dalam air (terutama air panas). Senyawa tannin ini mengurai atau rusak pada suhu 210°C (Mulyono, 1997 : 35). Sehingga, pada saat infusum kulit buah delima disterilkan dalam autoclave dengan suhu 121°C, zat aktif

tannin pada infusum kulit buah delima tidak akan rusak.

Tannin merupakan sejenis zat kimia yang sebagian besar terkandung dalam berbagai jenis tanaman, terutama tanaman obat. Tannin ini mampu menghambat sintesis dinding sel dan sintesis protein sel bakteri. Tannin yang terdapat dalam infusum kulit buah delima akan bereaksi dengan membran sel bakteri, kemudian menginaktivasi enzim dan menginaktivasi fungsi materi genetik sel bakteri. Sehingga dalam keadaan tersebut, sel bakteri di sekitar kertas cakram akan mengalami kerusakan (tidak tumbuh), dan akhirnya terbentuklah zona jernih di sekitar kertas cakram.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian uji *in-vitro* aktivitas antibakteri infusum kulit buah delima (*Granati Pericarpium cortex*) terhadap bakteri *Escherichia coli* pada media Mueller-Hinton, dapat ditarik kesimpulan bahwa konsentrasi hambat minimum (KHM) infusum kulit buah delima terhadap bakteri *Escherichia coli* adalah 3.15%.

DAFTAR PUSTAKA

- Afriastini, *Daftar Nama Tanaman*, Cetakan V, Penebar Swadaya, Jakarta, 1992.
- Anwar Syarif, dkk., *Sensitivitas Bakteri Aeromonas hydrophyla terhadap Ekstrak Buah Pare*, www.kesehatanikan.blogspot.com, 2007.
- Agus Syahrurahman, dkk., *Mikrobiologi Kedokteran*, Edisi Revisi, Binarupa Aksara, Jakarta, 1994.
- Arief Hariana, *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*, Cetakan III, Penebar Swadaya, Jakarta, 2006.
- Awaludin Saragih, dkk., *Detail Penelitian Obat Bahan Alam*, www.bahan-alam.fa.itb.ac.id, 2007.
- Badrudin Muhsin, *Pengaruh Alkaloid yang Terkandung dalam Kulit Buah Delima*,

- www.stoputih.blogspot.com, 2000.
- Bonang, Gerard dan Enggar S.Koeswardono, *Mikrobiologi Kedokteran*, PT Gramedia, Jakarta, 1982.
- Daryanto, *Bercocok Tanam Buah-Buahan*, Aneka Ilmu, Semarang, 1984.
- Departemen Kesehatan, *Bakteriologi Umum*, Pusat Pendidikan Tenaga Kesehatan, Jakarta, 1989.
- Departemen Kesehatan, *Farmakologi untuk Sekolah Menengah Farmasi*, Jilid I, Pusat Pendidikan Tenaga Kesehatan, Jakarta, 2002.
- Dharwin Siswanto, *Kajian Aktivitas Tannin dan Penisilin terhadap Bakteri Secara In-Vitro*, www.adln.lib.unair.ac.id, 2008.
- Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, *Farmakope Indonesia*, Edisi Keempat, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 1995.
- Dwidjoseputro, *Dasar-Dasar Mikrobiologi*, Djambatan, Jakarta, 1994.
- Hembing Wijayakusuma, *Kulit Delima*, www.cybermed.cbn.net.id, 2005.
- Iskandar Muda, *Penderita Diare*, www.bapelnak-batukota.deptan.go.id, 2008.
- Jawetz, Melnick dan Adelberg's, *Mikrobiologi Kedokteran*, Salemba Medika, Jakarta, 2005.
- Lay, Bibiana W, *Analisis Mikroba di Laboratorium*, Raja Grafindo Persada, Jakarta, 1994.
- Made Astawan, *Khasiat Delima*, www.cybermed.cbn.net.id, 2008.
- Mario Pohan, *Pengaruh Ekstrak Kulit Buah Delima terhadap Bakteri Staphylococcus aureus Secara In-Vitro*, www.unissula.ac.id, 2009.
- Mulyono, *Kamus Kimia*, Ganeca Silatama, Bandung, 1997.
- Mutschler, Ernst, *Dinamika Obat Farmakologi dan Toksikologi*, Edisi Kelima, Penerbit ITB, Bandung, 1991.
- Nurwantoro dan Abbas Siregar Djarijah, *Mikrobiologi Pangan Hewan Nabati*, Kanisius, Yogyakarta, 2001.
- Oswari, *Penyakit dan Penanggulangannya*, Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, 2003.
- Pelczar, Michael dan E.C.S.Chan, *Dasar-Dasar Mikrobiologi*, Jilid 2, Cetakan Pertama, Universitas Indonesia Press, Jakarta, 1988.
- Robinson, *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*, Penerbit ITB, Bandung, 1995.
- Seno Sastroamidjojo, *Obat Asli Indonesia*, Dian Rakyat, Jakarta, 2001.
- Setiawan Dalimartha, *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia 3*, Puspa Swara, Jakarta, 2005.
- Sjaifoellah Noer, *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*, Jilid I, Edisi Ketiga, Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, 1996.
- Soemarno, *Penuntun Praktikum Bakteriologi*, CV Karyono, Yogyakarta, 1987.
- Sucipto, dkk., *Cara Menggunakan dan Efektifitas Tanaman Obat Indonesia*, Bintang Terang Lestari, Jakarta, 2005.
- Sugeng H.R., *Tanaman Apotik Hidup*, Aneka Ilmu, Semarang, 2001.
- Team Work Farmasi IB, *Pustaka Kebun Percontohan Tanaman Obat*, STIKes Bakti Tunas Husada, Tasikmalaya, 2006.
- Tjay, Tan Hoan dan Kirana Raharja, *Obat-Obat Penting*, Edisi Keenam, Cetakan Pertama, PT Elex Media Komputindo, Jakarta, 2007.
- Widjaja, *Mengatasi Diare dan Keracunan*, Kawan Pustaka, Jakarta, 2004.

