

OPTIMASI AKTIVITAS ANTIBAKTERI RUTIN DAUN SINGKONG
(*Manihot esculenta* Crantz) - AMOKSISILIN TERHADAP BAKTERI
Staphylococcus aureus

Ayu Permata Sari^{1,*}, Sri Luliana¹, Rafika Sari¹

Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura

Pontianak, Indonesia, ayu.permata.sari.aps@gmail.com

ABSTRAK

Daun singkong (*M.esculenta* Crantz) terkandung senyawa flavonoid yaitu rutin yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Antibiotik yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus* adalah amoksisilin. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antibakteri rutin daun singkong dan amoksisilin dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus*. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode *disc diffusion* Kirby Bauer. Parameter yang digunakan pada penentuan aktivitas antibakteri adalah zona hambat yang terbentuk. Konsentrasi rutin daun singkong yang digunakan adalah 0,5; 0,4; 0,3; 0,2; dan 0,1 mg/mL dan konsentrasi 1; 0,5; 0,1; 0,05; dan 0,01 mg/mL. Konsentrasi amoksisilin yang digunakan adalah 0,5; 0,25; 0,125; 0,0625; 0,03125; 0,01563; 0,00781; 0,00391; 0,00195; dan 0,0009 mg/mL. Hasil penelitian ini menyatakan bahwa rutin daun singkong (*M.esculenta* Crantz) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus* pada konsentrasi 0,1 mg/mL dengan diameter zona hambat sebesar 8,3 mm dan amoksisilin dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus* pada konsentrasi 0,0039 mg/mL dengan diameter zona hambat sebesar 6,5 mm.

Kata kunci : antibakteri, amoksisilin, rutin daun singkong, *S. aureus*

ABSTRACT

Cassava leaves (*M.esculenta* Crantz) contain flavonoid compounds which are rutin which have antibacterial activity. The antibiotic used to inhibit the growth of *S. aureus* bacteria is by using amoxicillin. This study was conducted to determine the rutin antibacterial activity of cassava leaves and amoxicillin in inhibiting the growth of *S. aureus* bacteria. Antibacterial activity test was carried out using Kirby Bauer's diffusion disc method. The parameters used in determining antibacterial activity are the inhibitory zones formed. The rutin concentration of cassava leaves used is 0.5; 0.4; 0.3; 0.2; and 0.1 mg/mL and concentration 1; 0.5; 0.1; 0.05; and 0.01 mg/mL. Amoxicillin concentration used was 0.5; 0.25; 0.125; 0.0625; 0.03125; 0.01563; 0.00781; 0.00391; 0.00195; and 0.0009 mg/mL. The results of this study stated that rutin cassava leaves (*M.esculenta* Crantz) can inhibit the growth of *S.aureus* bacteria at a concentration of 0.1 mg / mL with a diameter of inhibitory zone of 8.3 mm and amoxicillin can inhibit the growth of *S.aureus* bacteria at concentration 0.0039 mg / mL with a diameter of the inhibition zone of 6.5 mm.

Keywords: antibacterial, amoxicillin, rutin cassava leaves, *S. aureus*

Pendahuluan

Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif yang patogen. Bakteri *S.aureus* bisa menyebabkan penyakit infeksi diantaranya sepsikemia, pneumonia, endokarditis, osteomielitis, gastroenteritis dan abses.⁽¹⁾ Pengobatan yang dilakukan untuk mengobati penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri patogen dapat menggunakan antibiotik. Amoksisilin merupakan antibiotik golongan spektrum luas bisa untuk Gram negatif dan Gram positif dalam menghambat pertumbuhan bakteri.⁽²⁾

Pengobatan penyakit infeksi tidak hanya menggunakan antibiotik tetapi bisa menggunakan senyawa bahan alam yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Salah satu tanaman yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri adalah daun singkong (*M.esculenta* Crantz). Daun singkong terkandung senyawa flavonoid yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Berdasarkan latar belakang tersebut tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui perbandingan konsentrasi aktivitas antibakteri rutin daun singkong dan amoksisilin terhadap bakteri *S.aureus*.

Metode Penelitian

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah autoklaf (All American Model No.75X), buchner (Iwaki), inkubator (Mammert[®]), jangka sorong (Vernier Caliper), jarum ose, *Laminar Air Flow* (MINIHELIC[®] II), alat-alat gelas (Pyrex[®] Iwaki), mikropipet (Acura), timbangan analitik (BEL model M254Ai), vortex (Thermolyne Model M37610-33), *water bath* (Mammert).

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah , isolat rutin daun singkong (*M.esculenta* Crantz), amoksisilin (Shadhong Bio-Technology), kultur murni bakteri *S.aureus*, akuades, asam sulfat (Merck), *aqua pro injeksi*, barium klorida (Merck), metanol PA, alkohol 70%, kertas saring *Whatmann*, larutan DMSO (Merck), NaCL 0,9% (Otsu-Ns), *Mueller Hinton Agar* (Oxoid).

Tahapan Penelitian

Pembuatan *Mueller Hinton Agar* (MHA)

Media MHA sebanyak 20 gram dilarutkan dengan akuades sebanyak 500 mL, dipanaskan dan diaduk hingga larut dan dalam kondisi panas larutan media dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Setelah itu disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.⁽³⁾

Pembuatan Inokulum Bakteri *S.aureus*

Koloni *S.aureus* diambil menggunakan jarum ose steril lalu disuspensikan ke dalam larutan NaCl 0,9% steril sampai diperoleh kekeruhan. Kekeruhan yang diperoleh kemudian disetarakan dengan larutan standar Mc Farland 3 yaitu setara dengan jumlah pertumbuhan 9×10^8 sel bakteri per ml. Jika kekeruhan telah setara maka suspensi bakteri dapat digunakan sebagai bakteri uji.⁽³⁾

Pembuatan Larutan Seri Konsentrasi

a. Larutan Seri Konsentrasi Isolat Rutin dari Daun Singkong

Larutan seri konsentrasi rutin daun singkong dibuat dari pengenceran larutan stok 1 mg/mL. Larutan stok dibuat dengan melarutkan 10 mg rutin ke dalam larutan DMSO 20% kemudian ditambahkan aquades steril hingga 10 mL dan diaduk hingga larut. Setelah itu dibuat variasi konsentrasi 0,5; 0,4; 0,3; 0,2; dan 0,1 mg/mL dan variasi konsentrasi 1; 0,5; 0,1; 0,05; dan 0,01 mg/mL.

b. Larutan Seri Konsentrasi Amoksisilin

Pembuatan larutan seri konsentrasi amoksisilin dilakukan dengan mengencerkan larutan stok 1 mg/mL. Larutan stok dibuat dengan melarutkan 10 mg amoksisilin ke dalam larutan DMSO 20% kemudian ditambahkan aquades steril hingga 10 mL dan diaduk hingga larut. Setelah itu dibuat variasi konsentrasi 0,5; 0,25; 0,125; 0,0625; 0,03125; 0,01563; 0,00781; 0,00391; 0,00195; dan 0,0009 mg/mL.

Penentuan Nilai MIC

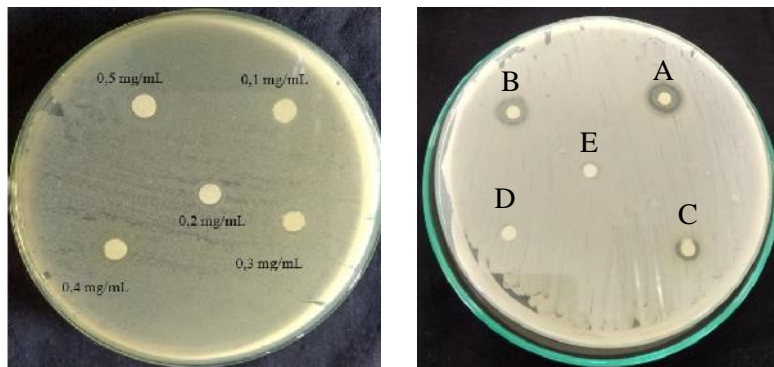
Penentuan nilai MIC menggunakan metode *disc diffusion* Kirby-Bauer. Bakteri *S.aureus* diinokulasikan dan dilarutkan dengan NaCl 0,9% lalu digoreskan pada permukaan media MHA. Cakram kertas yang berukuran 6 mm dicelupkan ke dalam larutan sampel rutin daun singkong dan amoksisilin lalu diletakkan di atas

permukaan media MHA yang telah digoreskan bakteri. Setelah itu diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam dan diukur diameter zona hambat yang terbentuk.

Hasil dan Pembahasan

Aktivitas Antibakteri Isolat Rutin Daun Singkong

Isolat rutin daun singkong diuji daya antibakterinya terhadap bakteri *S.aureus* pada variasi konsentrasi 0,5; 0,4; 0,3; 0,2; dan 0,1 mg/mL. Konsentrasi 0,5; 0,4; 0,3; 0,2; dan 0,1 mg/mL tidak terbentuk zona hambat. Konsentrasi 1; 0,5; 0,1; 0,05; dan 0,01 mg/mL terlihat adanya zona hambat yang terbentuk. Diameter zona hambat yang dihasilkan berturut – turut yaitu 12,25; 10,53; dan 8,3 mm. Konsentrasi 0,05 dan 0,01 mg/mL tidak terlihat adanya zona hambat. Sehingga dapat disimpulkan bahwa MIC rutin daun singkong terdapat pada konsentrasi 0,1 mg/mL. Larutan rutin daun singkong membutuhkan konsentrasi yang lebih besar untuk menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus*.



Gambar 1. Hasil Isolat Rutin Daun Singkong terhadap Bakteri *S. aureus*.
Keterangan : (A) = 1 mg/mL; (B) = 0,5 mg/mL; (C) = 0,1 mg/mL; (D) = 0,05 mg/mL; (E) = 0,01 mg/mL

Tabel 1. Diameter Zona Hambat Isolat Rutin Daun Singkong terhadap Bakteri *S. aureus*

| Konsentrasi (mg/mL) | Zona Hambat (mm) | | | Rata-rata ± SD |
|------------------------|------------------|-------------|------------|-------------------|
| | I | II | III | |
| 1 | 12,85 | 11,15 | 12,75 | 12,25 ± 0,95 |
| 0,5 | 10,65 | 9,7 | 11,25 | 10,53 ± 0,78 |
| 0,1 | 8,15 | 8,65 | 8,1 | 8,3 ± 0,30 |
| 0,05 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 0,01 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Keterangan : SD (standar deviasi)

Konsentrasi 0,5; 0,4; 0,3; 0,2; dan 0,1 mg/mL tidak terbentuk adanya zona hambat. Zona hambat yang tidak terbentuk dikarenakan larutan rutin dibuat sehari sebelumnya dilakukan pengujian. Hal ini dapat mempengaruhi dari aktivitas rutin sebagai antibakteri. Pembuatan larutan rutin sehari sebelum pengujiannya menyebabkan larutan rutin tersebut mengendap karena sifat rutin yang mudah mengalami kristalisasi pada suhu dingin dan rutin memiliki kelarutan dalam 10.000 bagian air sehingga membuat rutin sulit untuk larut dalam air dan jika dibiarkan terlalu lama maka larutan rutin tersebut dapat mengendap.⁽⁴⁾ Pembuatan larutan rutin seharusnya dibuat pada waktu akan dilakukan pengujian supaya larutan rutin tersebut tetap homogen dan tidak mengendap. Larutan rutin konsentrasi 1; 0,5; 0,1; 0,05; dan 0,01 mg/mL menunjukkan adanya zona hambat yang terbentuk karena larutan rutin dibuat pada waktu akan dilakukan pengujian sehingga larutan rutin masih tetap homogen sehingga dapat memberikan aktivitas antibakteri yang baik. Konsentrasi rutin terkecil tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus*, sehingga untuk menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus* diperlukan konsentrasi yang besar. Biji dari *Phaleria macrocarpa* terdapat senyawa rutin yang berdasarkan dari hasil penelitian tersebut pada konsentrasi 0,3 mg dapat menghambat pertumbuhan bakteri salah satunya *S.aureus* dengan memberikan zona hambat sebesar 15 mm.⁽⁵⁾ Senyawa rutin dapat meningkatkan aktivitas antibakteri *S.aureus* apabila dikombinasikan dengan senyawa flavonoid lainnya seperti morin dan kuersetin sehingga didapatkan diameter zona hambat sebesar 16,5 mm.⁽⁶⁾

Senyawa pada rutin daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz) yang berperan sebagai antibakteri adalah flavonoid. Flavonoid sebagai antibakteri dapat membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler. Hal ini menyebabkan lapisan pada dinding sel tidak terbentuk utuh. Kerusakan dinding sel menyebabkan perubahan permeabilitas membran sel sehingga menghambat kerja enzim intraseluler dan air masuk ke dalam sel secara tidak terkontrol.⁽⁷⁾ Menyebabkan dinding sel akhirnya lisis dan bakteri pun mati. Rata-rata zona hambat yang terbentuk berturut-turut sebesar 12,25; 10,53; dan 8,3 mm. Menurut David Stout

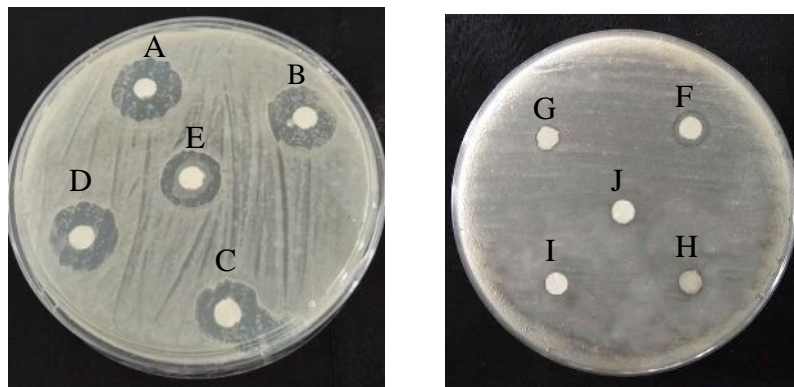
diameter zona hambat yang terbentuk termasuk ke dalam kategori aktivitas antibakteri kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus*.⁽⁸⁾

Tabel 2. Klasifikasi Aktivitas Antibakteri Berdasarkan Diameter Zona Hambat⁽⁸⁾

| Diameter zona hambat (mm) | Kategori aktivitas antibakteri |
|---------------------------|--------------------------------|
| > 20 | Sangat kuat |
| 10 – 20 | Kuat |
| 5 – 10 | Sedang |
| < 5 | Lemah |

IV.8.2 Aktivitas Antibakteri Amoksisilin

Amoksisilin diuji pada bakteri Gram positif yaitu *Staphylococcus aureus*. Bakteri *S.aureus* diuji pada 10 konsentrasi yaitu 0,5; 0,25; 0,125; 0,0625; 0,03125; 0,01563; 0,00781; 0,00391; 0,00195; dan 0,00098 mg/mL. Rata-rata zona hambat yang terbentuk berturut-turut sebesar 12,53; 11,83; 11,49; 11,78; 10,38; 11,53; 10,16; dan 6,5 mm. Konsentrasi 0,00195 dan 0,00098 mg/mL sudah tidak terlihat zona hambat yang terbentuk. Sehingga dapat disimpulkan bahwa MIC amoksisilin terdapat pada konsentrasi 0,00391 mg/mL.



Gambar 2. Hasil Amoksisilin terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

Keterangan : (A) = 0,5 mg/mL; (B) = 0,25 mg/mL; (C) = 0,125 mg/mL
 (D) = 0,0625 mg/mL; (E) = 0,03125 mg/mL; (F) = 0,01563 mg/mL;
 (G) = 0,00781 mg/mL; (H) = 0,00391 mg/mL; (I) = 0,00195 mg/mL;
 (J) = 0,00098 mg/mL.

Tabel 3. Zona Hambat Amoksisilin terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

| Konsentrasi (mg/mL) | Zona Hambat (mm) | | | Rata-rata ± SD |
|------------------------|------------------|-------------|-------------|-------------------|
| | I | II | III | |
| 0,5 | 13,25 | 12,10 | 12,25 | 12,53 ± 0,62 |
| 0,25 | 12,60 | 11,40 | 11,50 | 11,83 ± 0,66 |
| 0,125 | 12,25 | 11,60 | 10,65 | 11,49 ± 0,80 |
| 0,0625 | 11,70 | 11,55 | 12,10 | 11,78 ± 0,28 |
| 0,03125 | 10,25 | 10,55 | 10,35 | 10,38 ± 0,15 |
| 0,0156 | 12,25 | 11,10 | 11,25 | 11,53 ± 0,62 |
| 0,0078 | 10,60 | 9,40 | 10,50 | 10,16 ± 0,66 |
| 0,0039 | 6,25 | 6,60 | 6,65 | 6,5 ± 0,21 |
| 0,0019 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 0,0009 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Keterangan : SD (Standar Deviasi)

Uji pendahuluan dilakukan pada konsentrasi yang terbesar yaitu 0,5 mg/mL jika didapat hasil zona hambat yang besar maka dapat diturunkan konsentrasinya sehingga didapatkan MIC dari amoksisilin. Mekanisme amoksisilin sebagai antibakteri adalah dengan mencegah ikatan silang peptidoglikan dengan cara menghambat protein yang merupakan enzim dalam plasma membran sel bakteri dan menghalangi aktivitas enzim transpeptidase sehingga sel bakteri menjadi rapuh dan mudah pecah.⁽⁹⁾ Berdasarkan tabel diatas dapat dilihat bahwa konsentrasi amoksisilin yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus* termasuk dalam kriteria yang sensitif. Kriteria sensitif berarti bahwa antibiotik yang digunakan dapat menghambat bakteri dengan konsentrasi yang dianjurkan, bakteri *Staphylococcus aureus* termasuk pada kriteria sensitif.⁽¹⁰⁾ Sehingga dalam konsentrasi terkecil antibiotik dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus*

Tabel 4. Kriteria Standar Interpretasi MIC dan Diameter Zona Amoksisilin terhadap Enterobacteriaceae⁽¹⁰⁾

| Antibiotik | Kriteria Interpretasi MIC (µg/mL) | | |
|-------------|-----------------------------------|-------------|----------|
| | Sensitif | Intermediet | Resisten |
| Amoksisilin | ≤ 8 | 16 | ≥ 32 |

Kesimpulan

Hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa rutin daun singkong (*M.esculenta* Crantz) membutuhkan konsentrasi yang lebih besar untuk

dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus* yaitu pada konsentrasi 0,1 mg/mL dengan diameter zona hambat sebesar 8,3 mm sedangkan amoksisilin dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus* yaitu pada konsentrasi 0,0039 mg/mL dengan diameter zona hambat sebesar 6,5 mm.

Daftar Pustaka

1. Bernardo, WLC., Boriollo, MFG. Goncalves, R.B. Hobling, JF. *Staphylococcus aureus* Ampicillin-Resistant from the Odontological Clinic Environment. Rev.Inst.Med.Trop.S. Paulo. 2005 : 47(1) ; 19- 24.
2. Miller, A.L. Antioxidant Flavonoid : Structure, Function and Clinical Usage. Journal AMR. 1996 ; 1(2) : 104.
3. Kumar S. Essentials of Microbiology. New Delhi : Jaypee Brothers Medical Publishers. 560-561.
4. Anonim. Ekstra Farmakope Indonesia. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia ; 1974.
5. Hendra R, Ahmad S, Sukari A, Shukor MY, Oskoueian E. Flavonoid Analyses and Antimicrobial Activity of Various Parts of *Phaleria Macrocarpa* (Scheff.) Boerl Fruit. Int.J.Mol.Sci. 2011; 12: 3422-3431.
6. Amin, Muhammad Usman. Khurram, Muhammad. Khattak, Baharullah. Khan, Jafar. Antibiotic Additive and Synergistic Action of Rutin, Morin, and Quercetin Against Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*. Journal BMC Complementary and Alternative Medicine. 2015 ; 15(59) : 1-12.
7. Ainurrohmah, A.E. Ratnasari, L. Lisdiana. Efektivitas Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) terhadap Penghambatan Pertumbuhan Bakteri *Shigella flexneri* dengan Metode Sumuran. Lentera Bio. 2013; 2(3): 233-237.
8. Nopiyanti, HT. Agustriani,F. Krining *Nypa fruticans* sebagai antibakteri *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, dan *Staphylococcus aureus*. Masperi J. 2016 ; 8(2) : 83-90.
9. Hafidh RR, Abdulmir AS, Vern LS, Bakar FA, Abas F, Jahanshiri F, et al. Inhibition of growth of highly resistant bacterial and fungal pathogens by a natural product. Open Microbio J. 2011; 5(97): 96-106.
10. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards For Antimicrobial Susceptibility Testing: Twenty – Fifth Informational Supplement. USA : Clinical and Laboratory Standards Institute ; 2015.