

OPTIMASI AKTIVITAS ANTIBAKTERI RUTIN DAUN SINGKONG  
(*Manihot esculenta* Crantz.)- GENTAMISIN SULFAT TERHADAP  
BAKTERI *Escherichia coli*

Lili Widia Wati \*, Rafika Sari, Sri Luliana

Prodi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura

Pontianak, Indonesia, [liliwidia98@gmail.com](mailto:liliwidia98@gmail.com)

**ABSTRAK**

Penyakit infeksi merupakan penyebab utama tingginya angka kesakitan dan angka kematian terutama dinegara berkembang seperti Indonesia. Pengobatan terhadap penyakit infeksi yang disebabkan bakteri pada umumnya dapat dilakukan dengan penggunaan antibiotik. Permasalahan utama yaitu timbulnya dari penggunaan antibiotic yaitu terjadinya resistensi yang menyebabkan penyakit sulit untuk disembuhkan terutama pada bakteri yang telah multi-drug resistant. Kombinasi antibiotik dan rutin ini dapat dilakukan perhitungan nilainya dengan penggunaan metode FICI (*Fractional Inhibitory Concentration Index*) yang merupakan indeks yang dapat menunjukan aktivitas penghambatan pada suatu bakteri dari kombinasi antibiotik. Penentuan dari nilai MIC kombinasi isolat rutin daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz.) dan gentamisin sulfat yang digunakan yaitu pada konsentrasi 5 µg/mL dan 2,5 µg/mL. Hasil penelitian dari optimasi rutin dan antibiotik ini menunjukkan bahwa kombinasi rutin daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz.) dan gentamisin sulfat dapat menghambat bakteri *Escherichia coli*.

Kata Kunci : KHM, rutin (*Manihot esculenta*), gentamisin sulfat, *Escherichia coli*

**ABSTRACT**

Infections diseases are a major cause of high morbidity and mortality, especially in developing countries such as Indonesia. Treatment of infectious diseases caused by bacteria can generally be done with the use of antibiotics. The main problem is the emergence of antibiotic use, namely the occurrence of resistance which causes diseases difficult to cure, especially in bacteria that have been multi-drug resistant. This combination of antibiotics and routine can be calculated by using the FICI (*Fractional Memory Concentration Index*) method which is an index that can show inhibitory activity in a bacterium from a combination of antibiotics. Determination of the combined MIC value of routine isolates of cassava leaves (*Manihot esculenta* Crantz.) And gentamicin sulfate was used, namely at concentrations of 5 µg / mL and 2.5 µg / mL. The results of this study of routine optimization and antibiotics show that the routine combination of cassava leaves (*Manihot esculenta* Crantz.) And gentamicin sulfate can inhibit the *Escherichia coli* bacteria.

Keyword : KHM, rutin (*Manihot esculenta*), gentamicin sulphate, *Escherichia coli*

## **Pendahuluan**

Tanaman obat yang dapat digunakan oleh masyarakat yang memiliki aktivitas antibakteri salah satunya yaitu daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz.) yang memiliki kandungan flavonoid, saponin dan tanin (Harbrone, 2006). Hasil penelitian yang dilakukan menunjukkan ekstrak daun kelor yang juga memiliki kandungan sama seperti daun singkong dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* pada konsentrasi 80% (Harbrone, 2006). Senyawa-senyawa tersebut diketahui mempunyai aktivitas sebagai antibakteri, senyawa mayor yang dihasilkan dari isolasi daun singkong yaitu rutin (Deepika *et al*, 2006). Senyawa rutin didalam isolat daun singkong merupakan senyawa fenolik utama yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri yang dapat melawan mikroba *B. cereus*, *E. coli*, *Salmonella spp*, *Pseudomonas aureginosa*, *S. aureus*, *Shingella spp*, *Enterobacter*, *C. sporogenes*, *B. subtilis*, *P. vulgaris*, mikroba ini dapat menyebabkan infeksi pada usus manusia (Salawu, 2011).

Salah satu penyebab penyakit infeksi adalah bakteri (Radji, 2010). Bakteri yang dapat menyebabkan terjadinya infeksi contohnya *Escherichia coli* (*E.coli*) yang termasuk bakteri gram negatif. Pengobatan terhadap penyakit infeksi yang disebabkan bakteri pada umumnya dapat dilakukan dengan penggunaan antibiotik yang tepat dan mengetahui bakteri penyebab infeksi tersebut. Selain dapat mengobati penyakit penggunaan antibiotik juga dapat menimbulkan permasalahan, salah satu permasalahan utama yaitu timbulnya resistensi yang menyebabkan penyakit sulit untuk disembuhkan terutama pada bakteri yang telah multi-drug resistant.

Optimasi antibiotik dan rutin ini dapat dilihat efek yang dihasilkan dari zona hambat yang dihasilkan pada Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dengan menggunakan metode disk fusi pada media *Mueller Hinton Agar* (MHA). Berdasarkan alasan tersebut, penelitian ini bertujuan untuk melihat ada tidaknya efek yang dihasilkan dari optimasi rutin dan terhadap bakteri *Escherichia coli*.

## **Metode Penelitian**

### **Alat**

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah autoklaf (All American Model no. 75X), alat-alat gelas (Pyrex Iwaki), blender (Toshiba), Buchner, inkubator (Mammert), jangka sorong (Vernier Caliper), jarum ose, lemari pendingin (Sharp), *Laminar Air Flow* (LAF), Mikropipet (Acura), perforator (Joyko), pembakar Bunsen, petri plastik, pinset, pH meter, sendok penyusut, sendok *stainless*, timbangan analitik (BEL model M254Ai), tip, *vacuum rotary evaporator* (Rotavapor II BUCHI), wadah plastik, *water bath* (Mammert).

### **Bahan**

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah aqua pro injeksi, air es, etanol 75%, metanol pa, Gentamisin sulfat (Kimia Farma), kain kasa, kapas, kertas merang, kertas saring *Whatmann*, isolat rutin daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz.), larutan NaCl 0,9% (Otsu-Ns), DMSO 20%, larutan standar Mc Farland III, *Mueller Hinton Agar* ( Himedia ), spiritus, NaOH, AlCl<sub>3</sub>, dan NaNO<sub>2</sub>.

### **Sterilisasi Alat**

Sterilisasi alat dan bahan menggunakan oven dan autoklaf. Alat-alat gelas seperti erlenmeyer, gelas ukur, tabung reaksi, cawan petri dan bahan-bahan disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121<sup>0</sup>C tekanan 15 psi (*per square inch*) selama 15 menit, sedangkan alat-alat lainnya seperti gelas beker dan sendok *stainless* disterilkan menggunakan oven pada suhu 170<sup>0</sup>C selama 1 jam. Alat berbahan plastik dan karet disterilisasi menggunakan alkohol 70%. Jarum ose dan pinset disterilisasi menggunakan api Bunsen (Sukrasno, 2017).

### **Pembuatan *Mueller Hinton Agar* ( MHA )**

Media *Mueller Hinton Agar* dilarutkan dengan cara 9,5 gram media dimasukkan dalam erlenmeyer dilarutkan dalam 250 mL akuades, kemudian dipanaskan dan dihomogenkan dengan menggunakan magnetik stirer sampai larut, dicek pH media, dan

larutan media yang sudah larut dibungkus dengan kertas merang. Setelah itu disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121<sup>0</sup>C selama 15 menit (Isimi, 2016).

### **Peremajaan Bakteri *E.coli***

Biakan bakteri *E.coli* yang berasal dari kultur stok digoreskan secara aseptis menggunakan jarum ose pada media MHA dengan menggunakan agar miring pada agar tabung lalu diinkubasi pada suhu 37<sup>0</sup>C selama 18-24 jam (Istiantoro, 2007).

### **Pembuatan Inokulum Bakteri *E.coli***

Koloni *E.coli* diambil menggunakan jarum ose steril lalu disuspensikan ke dalam larutan NaCL 0,9% steril dan diinkubasi pada suhu 35±2<sup>0</sup>C sampai diperoleh kekeruhan. Kekeruhan yang diperoleh kemudian disetarakan dengan larutan standar Mc Farland 3 yaitu setara dengan jumlah pertumbuhan 0,9×10<sup>9</sup> sel bakteri per ml. Suspensi bakteri diencerkan menjadi 0,9×10<sup>7</sup> sel bakteri per ml. Jika kekeruhan telah setara maka suspensi bakteri dapat digunakan sebagai bakteri uji (Chambers, 2007).

## **1. Pembuatan Larutan Seri Konsentrasi**

### **a. Larutan Seri Konsentrasi Rutin Daun Singkong**

Larutan seri konsentrasi rutin daun singkong berasal dari pengenceran larutan stok 1000 ppm dan larutan seri konsentrasi. Pembuatan larutan stok 990 ppm, rutin daun singkong dibuat dengan cara ditimbang 9,9 mg isolat rutin, lalu dilarutkan dalam 2 mL *Dimethyl sulfoxide* (DMSO) dengan konsentrasi 20% dan di add kan dengan 10 mL aqudest steril. Kemudian dibuat masing-masing seri konsentrasi berdasarkan nilai MIC terhadap bakteri *Escherichia coli*, yaitu 10; 6; 5; 4; dan 3 ppm.

### **b. Larutan Seri Konsentrasi Gentamisin Sulfat**

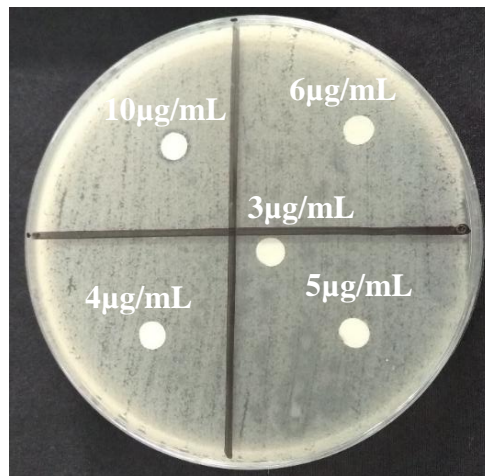
Pembuatan larutan seri konsentrasi Gentamisin Sulfat dilakukan dengan mengencerkan larutan stok 1060 ppm dan larutan seri konsentrasi. Pembuatan larutan stok 1060 ppm gentamisin sulfat dibuat dengan cara ditimbang 10,6 mg serbuk gentamisin sulfat, lalu dilarutkan dalam 10 mL akuadest steril. Kemudian dibuat seri konsentrasi, yaitu 15; 10; 5; 2,5; dan 2 ppm, dengan dipipet masing-masing larutan sebanyak 70,7; 47,1; 23,5; 11,7; dan 9,5 µg/mL, lalu diadd dengan akuadest steril sebanyak 5 mL.

## 2. Penentuan Nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Nilai *Minimum Inhibitory Concentration* (KHM) ditentukan menggunakan metode *disc diffusion* Kirby-Bauer. Penentuan KHM yang dilakukan terdiri atas penentuan MIC rutin daun singkong, penentuan Gentamisin Sulfat dan penentuan KHM dari kombinasi rutin daun singkong dan Gentamisin Sulfat. Suspensi bakteri *Escherichia coli* diinokulasikan menggunakan jarum ose steril pada permukaan media MHA dan diletakkan cakram kertas berukuran 6 mm. Cakram kertas dicelupkan ke dalam larutan sampel (larutan isolat, larutan gentamisin sulfat, dan larutan kombinasi) lalu diletakkan di atas permukaan media MHA dan ditekan perlahan menggunakan pinset steril. Setelah itu media diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 18-24 jam dan diukur diameter zona hambat yang terbentuk (Harbrone, 2006).

### Penentuan KHM dengan Metode *Disc Diffusion*

#### 1. KHM Rutin Daun Singkong (*Manihot esculenta* Crantz.)

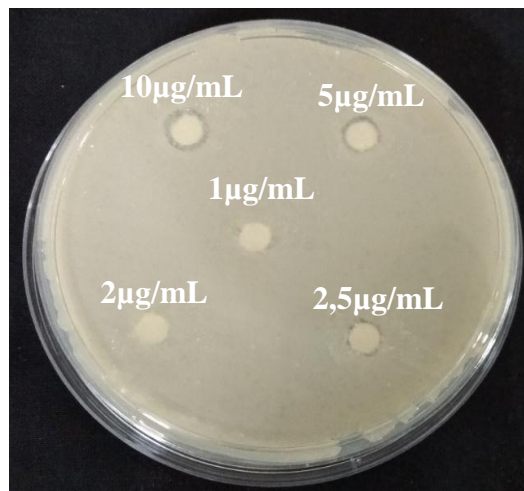


Tabel 1. Hasil Penentuan KHM Rutin Terhadap Bakteri *Escherichia coli*

Konsentrasi	Diameter Zona Hambat			Rata-rata Zona Hambat
	I	II	III	
10	8,5	8,3	8,6	8,46
6	7,1	7,4	7,8	7,43
5	6,2	6,5	6,6	6,43
4	0	0	0	0
3	0	0	0	0

Berdasarkan hasil pengamatan yang disajikan pada tabel 1 menunjukkan hubungan konsentrasi rutin daun singkong dengan zona hambat menunjukkan terjadinya peningkatan diameter zona hambat pada setiap konsentrasi. Hal tersebut menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi terhadap rutin daun singkong memiliki korelasi positif terhadap peningkatan diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Kemampuan suatu bahan antimikroba dalam menghambat hidup mikroorganisme. Semakin besar konsentrasi maka kemampuan suatu bahan dalam menghambat bakteri akan semakin meningkat.

## 2. KHM Gentamisin Sulfat



**Tabel 2. Hasil Penentuan KHM Gentamisin Sulfat Terhadap Bakteri *Escherichia coli***

Konsentrasi	Diameter Zona Hambat			Rata-rata Zona Hambat
	I	II	III	
10	7,8	7,3	7,2	7,43
5	6,6	6,5	6,4	6,50
2,5	6,1	6,3	6,4	6,26
2	0	0	0	6,90
1	0	0	0	0

Adapun hasil penentuan KHM gentamisin sulfat terhadap bakteri *Escherichia coli* dapat diamati pada tabel 3 menunjukkan bahwa gentamisin sulfat dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* pada konsentrasi 10; 5; dan 2,5 µg/mL. Nilai KHM pada gentamisin sulfat yaitu pada konsentrasi 2,5 µg/mL, hal ini didukung berdasarkan penelitian yang dilakukan (Deepika, et al, 2018) nilai KHM yang dihasilkan dari antibiotik gentamisin yaitu pada konsentrasi 2,5 µg/mL.

### **Kesimpulan**

Adapun kesimpulan dari penelitian ini yaitu :

1. Optimasi rutin daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz.) dan gentamisin sulfat dapat menghambat pertumbuhan dari bakteri *Escherichia coli* dengan nilai KHM yang dihasilkan sebesar 5 µg/mL pada senyawa rutin dan 2,5 µg/mL pada antibiotik gentamisin sulfat.
2. Optimasi rutin daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz.) dan gentamisin sulfat memiliki efek menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

### **Saran**

Saran dari penelitian ini yaitu sebaiknya dilakukan optimasi dari rutin daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz.) dan gentamisin sulfat terhadap bakteri lain seperti *Pseudomonas aureginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacilus subtilis* dan *Salmonella thypi*.

## Daftar Pustaka

- Chambers HF. 2007. Aminoglikosida & Spektinomisin In: Katzung Bertram G, editor. Basic and Clinical Pharmacology (Tenth Edition). Jakarta; EGC. Hal.62-71.
- Deepika, et al. 2018. Combined Effect of a Natural Flavonoid Rutin from *Citrus Sinensis* and Conventional Antibiotic Gentamicin on *Pseudomonas Aeruginosa* Biofilm Formation. *Journal Food Control*. Doi: 10.1016/j.foodcont.
- Harbrone, J.B. 2006. Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan (alih bahasa: Kosasih Padmawinata & Iwang Soediro). Bandung: Penerbit ITB.
- Radji M. 2010. Buku Ajar Mikrobiologi: Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- S.O Salawu., dkk. Antimicrobial Activities of Phenolic Containing Extracts of Some Tropical Vegetables. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2011; 5(4) : 486 – 492.
- Sukrasno, K. R., & Fidrianny, I. Pengaruh Perebusan terhadap Kandungan Flavonoid dalam Daun Singkong. *Jurnal Obat Bahan Alam*. 2017; 6(2).
- Nasser Abdulatif Al-Shabib., Iqmal Ahmad., et al. Rutin Inhibits Mono and Multi-Species Biofilm Formation by Foodborne Drug Resistant *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Journal Food Control*. 2017; Doi: 10.1016/j.foodcont.