

KONSENTRASI HAMBAT MINIMUM (KHM) KADAR EKSTRAK ETANOL BATANG BAJAKAH TAMPALA (*Spatholobus littoralis* Hassk) TERHADAP BAKTERI *ESCHERICHIA COLI* MELALUI METODE SUMURAN

Submitted : 15 Agustus 2019

Edited : 20 Desember 2019

Accepted : 30 Desember 2019

Mochammad Maulidie Alfiannor Saputera, Tio Widia Astuti Marpaung, Noverda Ayuchecaria

Akademi Farmasi ISFI Banjarmasin
Email : mochammadsaputera16@gmail.com

ABSTRACT

Empirically, one of the plants that are widely used by the Dayak tribe as a medicine is the bajakah tampala (Spatholobus littoralis Hassk.) This plant is claimed to be able to treat several diseases such as abdominal pain, diarrhea and dysentery. But until now studies on the antibacterial activity of bajakah tampala have never been done. This study studied the antibacterial activity of bajakah ethanol extract against the growth of Escherichia coli bacteria and minimum inhibitory value (MIC). This type of research is experimental research. The stem bajakah Tampala looks like it wastaken from the inland forest in Garung Village, Jabiren District, Pulang Pisau Regency, Central Kalimantan. The sample of this study was 70% ethanol extract of bajakah tampala stems obtained by maceration. Extract payment of antibacterial activity using a concentration of 3.12%; 6.25%; 12.5%; 25% and 50%. The positive control used is ampicillin 0.01 mg/ml and negative control using distilled water. Tests are carried out by the well method. The tested data were analyzed statistically by the One-Way ANOVA test method. The results of the study showed that the ethanol extract bajakah tampala could inhibit the growth of E. coli bacteria. The biggest inhibition of E. coli bacteria at a concentration of 50% with an average inhibition diameter of 20.32 mm. included in the category of very strong. The minimum inhibitory concentration of extract batang bajakah tampala is 6.25%

Keywords : Antibacterial, Bajakah tampala, Escherichia coli

PENDAHULUAN

Infeksi merupakan reaksi lokal atau sistemik karena invasi kuman yang masuk ke dalam tubuh. Penyakit infeksi masih merupakan penyebab utama morbiditas dan mortalitas di dunia⁽¹⁾. Sebanyak 25 juta kematian di seluruh dunia, sepertiganya disebabkan oleh penyakit infeksi yang menjadi masalah kesehatan di dunia terutama di negara berkembang karena tingkat pengetahuan dan kesadaran akan pentingnya kesehatan penduduknya masih rendah⁽²⁾. Menurut survei data yang

dilakukan kementrian kesehatan Riset Kesehatan Dasar pada tahun 2013 angka diare di Kalimantan Selatan mengalami kenaikan dari angka (2,5%) menjadi (5,0%)⁽³⁾. Bakteri yang dapat menyebabkan terjadiya infeksi contohnya *E. coli* *Escherichia coli* adalah nama sejenis bakteri yang hidup di dalam usus hewan dan manusia.

Penggunaan antibakteri merupakan solusi untuk menangani berbagai penyakit infeksi. Antibakteri merupakan senyawa yang mampu menghambat pertumbuhan

bakteri⁽⁴⁾. Penggunaan antibakteri yang tidak terkontrol dapat mendorong terjadinya resistensi terhadap antibakteri yang diberikan⁽⁵⁾.

Bajakah tampala adalah salah satu tumbuhan yang hidup di desa Garung Kabupaten Pulang Pisau Propinsi Kalimantan Tengah. Bajakah tampala adalah salah satu spesies tumbuhan dari genus *Spatholobus* yang tersebar dan banyak hidup di daerah Asia, dimana 29 spesies diantaranya tumbuh dan hidup di hutan Asia Tenggara⁽⁶⁾.

Salah satu tumbuhan yang dimanfaatkan secara empiris sebagai obat oleh masyarakat di desa Garung adalah bajakah tampala (*Spatholobus littoralis* Hassk).

Berdasarkan pengalaman secara turun-temurun dari masyarakat, air rebusan dari batang bajakah tampala dapat digunakan sebagai obat sakit perut biasa, diare maupun disentri. Penggunaannya sebagai obat tradisional oleh masyarakat setempat adalah dengan cara meminum air rebusan dari batangnya.

Skrining fitokimia yang dilakukan bahwa ekstrak etanol bajakah tampala terbukti memiliki senyawa kimia berupa flavonoid, saponin, dan tannin⁽⁸⁾. Daun serai menunjukkan bahwa flavonoid dan saponin memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherchia coli*⁽⁷⁾. Maka dari itu penelitian ini dimaksudkan untuk melihat konsentrasi hambat minimum ekstrak etanol batang bajakah tampala terhadap aktivitasnya pada bakteri *Escherchia coli*.

METODE PENELITIAN

Sampel penelitian ini adalah batang bajakah tampala (*Spatholobus littoralis* Hassk). Batang bajakah tampala diambil dari hutan pedalaman di Desa Garung, Kecamatan Jabiren, Kabupaten Pulang Pisau, Kalimantan Tengah yang menggunakan konsentrasi ekstrak etanol

batang bajakah tampala (*Spatholobus littoralis* Hassk) 50%, 25%, 12,5%, 6,25% dan 3,12%. Sebagai kontrol positif amoksisilin dan kontrol negatif aquadest.

Pengolahan Simplisia

Pembuatan simplisia batang bajakah tampala dimulai dengan melakukan sortasi basah batang bajakah tampala. Sortasi basah bertujuan untuk membuang kotoran yang menempel pada batang bajakah tampala. Kemudian dilakukan pencucian batang bajakah tampala dengan air bersih. Batang kemudian ditiriskan untuk mengurangi jumlah air bilasan agar pengotor yang tersisa dalam air bilasan cucian ikut terbuang. Batang ditimbang untuk mendapatkan berat basah. Batang dirajang agar proses pengeringan dan penggilingan mudah dilakukan. Rajangan kemudian dikeringkan di bawah sinar matahari langsung selama 3 hari. Rajangan dihaluskan menggunakan blender menjadi serbuk dan kemudian ditimbang sebagai berat serbuk simplisia.

Pembuatan Ekstrak Etanol

Ekstrak etanol batang bajakah tampala dibuat dengan metode maserasi. Sebanyak 250 gram serbuk simplisia dimasukan ke dalam bejana maserasi. Tambahkan etanol 2,5 L etanol 70% (perbandingan 1:10) atau hingga terendam. Simpan di tempat yang terlindung dari cahaya matahari selama 3 x 24 jam, dan sesekali dilakukan pengadukan. Maserat dipisahkan dengan cara disaring. Dilakukan remaserasi dengan menambahkan 2 L etanol 70% remaserasi dilakukan 3 x 24 jam. Filtrat kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C untuk mempercepat pemisahan pelarut dengan ekstrak berkhasiat. Ekstrak yang sudah setengah menguap diuapkan kembali menggunakan *waterbath* pada suhu 50°C memastikan masih ada sisa pelarut pada ekstrak sehingga menjadi ekstrak kental.

Skrining Fitokimia

Uji Flavonoid Sebanyak 1 ml larutan uji masing-masing dimasukkan ke dalam tabung reaksi. ditambah dengan 2-3 mL larutan Pb Asetat (timbang asetat), positif flavonoid jika terdapat endapan kuning kecoklatan⁽⁹⁾. Sebanyak 100 mg ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 10 ml air panas. Campuran didinginkan dan kocok secara kuat selama 10 menit sehingga terbentuk buih. Buih yang tidak menghilang selama 10 menit dengan tinggi buih 1-10 cm menunjukkan adanya saponin. Sebanyak 100 mg ekstrak dimasukan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 3 tetes larutan FeCl₃ 0,5 M timbulnya warna biru kehitaman. Campuran kemudian ditambahkan larutan H₂SO₄ terbentuknya endapan coklat menunjukkan adanya tannin⁽¹⁰⁾.

Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode sumuran. Media MHA yang sudah ditambahkan suspensi bakteri dibiarkan memadat. Lubang sumuran kemudian dibuat pada media yang sudah memadat. Beri label pada masing-masing lubang sumuran dengan masing-masing konsentrasi serta kontrol negatif dan positif. Setelah diberi label, masukan ekstrak ke dalam lubang masing sumuran pada masing-masing konsentrasi, kontrol positif dan kontrol negatif. Perlakuan ini diulang sebanyak empat kali. Setelah itu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

Uji daya hambat minimum

Pengamatan dilakukan 1x24 jam masa inkubasi. Daerah bening yang dihasilkan merupakan petunjuk kepekaan bakteri terhadap antibiotik atau bahan antibakteri lainnya yang digunakan sebagai bahan uji. Hasil tersebut dinyatakan dengan lebar diameter zona hambat. Diameter zona hambat diukur dalam satuan millimeter

(mm) menggunakan jangka sorong. Kemudian diameter zona hambat dikategorikan kekuatan daya antibakterinya berdasarkan penggolongan⁽¹¹⁾.

Pengukuran zona hambat yang terbentuk diukur vertical dan horizontal dengan satuan mm menggunakan jangka sorong⁽¹²⁾.

$$\text{Zona hambat} = \frac{(D1-D3)+(D2-D1)}{2}$$

D1 = Diameter vertical

D2 = Diameter horizontal

D3 = Diameter sumur (±5mm)

KHM adalah konsentrasi minimal zat antimikroba yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri setelah diinkubasi 24 jam dan tidak tumbuh koloni bakteri yang diketahui dengan cara mengamati banyaknya koloni bakteri yang tumbuh⁽¹³⁾. KHM juga merupakan teknik untuk menentukan konsentrasi minimum zat antimikroba yang dibutuhkan dalam menghambat pertumbuhan suatu mikroorganisme. Konsentrasi hambatan minimum (KHM) adalah konsentrasi antibiotik terendah yang masih dapat menghambat pertumbuhan organisme tertentu. Menyatakan bahwa prosedur ini digunakan untuk menentukan konsentrasi antinbiotik yang masih efektif untuk mencegah pertumbuhan patogen dan mengindikasikan dosis antibiotik yang efektif untuk mengontrol infeksi pada pasien⁽¹¹⁾.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa kimia yang terdapat pada batang bajakah tampala. Skrining fitokimia dilatar belakangi bahwa senyawa flavonoid, saponin dan tanin memiliki senyawa aktivitas antibakteri pada bakteri *E. Coli*⁽⁷⁾. Tabel 1 menunjukkan hasil uji skrining fitokimia bahwa ekstrak batang bajakah tamapala mengandung flavonoid, saponin, dan tanin.

Tabel 1. Hasil Skirining Fitokimia

Senyawa	Pereaksi	Hasil	Keterangan
Flavonoid	Pb asetat	Endapan coklat	Positif
Saponin	Aqudest	Terbentuk buih ±10 menit Setinggi 1-10 cm	Positif
Tanin	FeCl ₃	Perubahan warna biru kehitaman yang lebih dominan	Positif
Polifenol	FeCl ₃	Perubahan warna biru kehitaman yang lebih dominan	Positif
Alkaloid	Dragendroff Meyer	Tidak terbentuk Endapan	Negatif

Uji pertama yaitu uji flavonoid dengan pereaksi Pb asetat didapatkan hasil positif. Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenol yang merupakan kecenderungan untuk mengikat protein sehingga dapat mengganggu metabolisme bakteri. Ekstrak positif mengandung flavonoid dengan terbentuknya endapan coklat. Hal ini dikarenakan flavonoid memiliki cincin benzen yang memiliki gugus hidroksi yang membentuk endapan coklat.

Uji kedua adalah identifikasi gugus saponin yang diamati dari terbentuknya buih. Saponin memiliki struktur misel gugus polar menghadap keluar karena mengikat air (hidrofilik) sedangkan gugus non polar menghadap kedalam karena takut dengan air (hidrofobik). Keadaan ini yang membuat tampak seperti busa pada saat dikocok⁽¹⁵⁾.

Identifikasi gugus tanin dan polifenol dilakukan dengan menggunakan pereaksi FeCl₃. Reaksi perubahan warna menjadi hijau kehitaman diakibatkan pembentukan senyawa kompleks antara tanin dengan FeCl. Senyawa kompleks yang terbentuk karena adanya kovalen koordinasi antara ion atau logam dengan non logam⁽¹⁵⁾

Pengecatan Gram atau Identifikasi Bakteri *Escherchia coli*

Pengecatan gram yaitu teknik untuk mengidentifikasi bakteri yang akan diteliti sehingga pengecatan bakteri membedakan bakteri gram positif maupun gram negatif. Pengecatan gram bakteri menunjukkan hasil berwarna merah pada bakteri gram negatif.

Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas pada penelitian ini menggunakan metode difusi lubang sumuran, dipilihnya metode ini karena lebih mudah diamati diameter zona beningnya, bukan hanya dipermukaan tetapi dapat sampai kedalam medianya⁽¹⁶⁾. Metode ini juga sangat cocok untuk melihat hasil daya antibakteri karena *E. coli* bersifat anaerob yang dapat ditumbuh diluar maupun didalam media, sehingga diameter zona hambat nantinya akan jadi lebih maksimal⁽¹⁷⁾.

Tahap awal uji aktivitas antibakteri adalah proses sterilisasi alat agar tidak terjadi kontaminasi dan tidak mengganggu proses penelitian. Alat-alat kaca disterilisasi menggunakan oven dengan suhu 150°C selama 2 jam sedangkan untuk media disterilisasikan menggunakan autoclaf dengan suhu 121 °C dengan tekanan 1 atm⁽¹⁸⁾. Pada penggunaan media menggunakan media *Mueller Hinton Agar* (MHA). Media *Mueller Hinton Agar* adalah uji sensitivitas antibiotik yang

direkomendasikan oleh CLSI (*Clinical and Laboratory Standar Institute*)⁽¹⁹⁾.

Bakteri diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, maka terbentuk zona hambatan terhadap bakteri *E. coli*. Zona hambatan diukur dengan menggunakan jangka sorong. Berdasarkan pengukuran yang dilakukan berdasarkan rata-rata menunjukkan diameter zona hambat yaitu 9,8 mm, 11,71 mm, 15,83 mm, dan 20.32 mm. terlihat pada konsentrasi tertinggi yaitu 50% ekstrak batang bajakah tampala memiliki zona hambat 20.32 mm. Konsentrasi 3,125% tidak memiliki zona hambat.

Berdasarkan hasil penelitian diatas hasil penelitian di atas, maka dapat dibuat tabel data zona hambatan yang dihasilkan ekstrak etanol batang bajakah tampala terhadap *E. Coli* (Tabel 2).

Zona hambatan yang terbentuk pada semua kelompok perlakuan ekstrak etanol bajakah tampala menunjukkan bahwa terdapat daya hambat pada *E. coli*. Terdapat perbedaan zona hambatan yang terbentuk pada masing-masing konsentrasi. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan, maka semakin besar zona hambatan yang terbentuk.

Dengan melihat nilai rata-rata diameter zona hambat yang terbentuk pada masing-masing konsentrasi maka berdasarkan aktivitasnya ekstrak etanol batang bajakah tampala diklasifikasikan menjadi lemah sampai sangat kuat, semakin besar zona hambat yang dihasilkan semakin besar diameter zona hambat didalamnya semakin besar kandungan senyawa yang berperan sebagai antibakteri pada ekstrak bajakah tampala.

Senyawa-senyawa yang diketahui berperan dalam menghambat pertumbuhan bakteri antara lain flavonoid, saponin, dan tanin, dimana zat-zat tersebut berfungsi

sebagai antibakteri dengan mekanisme yang berbeda⁽²⁰⁾. Zona hambatan terbentuk karena adanya senyawa-senyawa flavonoid, saponin, dan tanin.

Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri yaitu flavonoid bersifat lipofilik yang akan merusak membran mikroba dan senyawa flavonoid dapat mengganggu aktivitas transpeptidase peptidoglikan sehingga pembentukan dinding sel terganggu sehingga menyebabkan lisis⁽¹⁵⁾.

Senyawa saponin merupakan zat yang apabila berinteraksi dengan dinding bakteri maka dinding tersebut akan pecah. Saponin akan mengganggu tegangan permukaan dinding sel, maka saat tegangan permukaan terganggu zat antibakteri akan dapat dengan mudah masuk ke dalam sel dan akan mengganggu metabolisme hingga akhirnya terjadilah kematian bakteri⁽¹⁵⁾.

Senyawa tanin sebagai antibakteri dengan menghambat enzim reverse transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk. Tanin dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara mengganggu transport protein, menginaktifkan adhesin sel dan menginaktifkan enzim di dalam sel bakteri⁽¹⁵⁾.

Kontrol negatif yang digunakan adalah aquadest karena tidak memiliki efek sama sekali terhadap bakteri, pada kelompok kontrol positif dengan ampisillin 10 μ menunjukkan rata-rata diameter zona hambat terbesar terhadap pertumbuhan bakteri *Escherchia coli*.

Nilai KHM ekstrak etanol batang bajakah tampala yaitu konsentrasi 6,25% karena merupakan konsentrasi paling kecil yang memiliki zona hambat. Dikarenakan pada konsentrasi 3,125% tidak memiliki zona hambat untuk pertumbuhan *E. coli*.

Tabel 2. Data Hasil Uji Penelitian

Perlakuan	Diameter Zona Hambat				Diameter rata-rata (mm) ± SD
	I	II	III	IV	
Konsentrasi 3,123%	-	-	-	-	0 ± 0
Konsentrasi 6,25%	10,1	9,95	9,25	9,9	9,8 ± 0,376
Konsentrasi 12,5%	11,45	11,5	10,45	13,45	11,71 ± 0,501
Konsentrasi 25%	15,9	15,35	16,7	15,4	15,83 ± 0,626
Konsentrasi 50%	19,8	20,6	20,4	20,5	20,32 ± 0,359
Kontrol Positif	30,05	30,15	31,15	31,85	30,8 ± 0,858
Kontrol Negatif	-	-	-	-	0 ± 0

Keterangan (-) = tidak ada zona hambat

Analisis Data

Berdasarkan uji normalitas data >0,05 dan homogenitas <0,05. Berdasarkan uji *one-way Anova* hasil taraf signifikansi <0,05 yang menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna rata-rata diameter zona hambat setiap konsentrasi terhadap bakteri *E. coli*.

Pada konsentrasi 3,125% dan 6,25%, 12,5% dan 25%, 25% dan 50% terdapat perbedaan yang bermakna antara zona hambat pada karena nilai signifikansinya <0,05. Secara statistik tidak terdapat perbedaan antara konsentrasi 6,25 dan 12,5% karena nilai signifikansi >0,05.

SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang dilakukan bahwa ekstrak etanol batang bajakah tampala memiliki aktivitas antibakteri pada bakteri *E. coli*. Konsentrasi hambat minimum yaitu pada konsentrasi 6,25%. Konsentrasi 3,125% dan 6,25%, 12,5% dan 25%, 25% dan 50% terdapat perbedaan yang bermakna antara zona hambat. Konsentasi 6,25 dan 12,5% tidak terdapat perbedaan bermakna antara konsentrasi.

DAFTAR PUSTAKA

1. World Health Organization (WHO). The World Medicine Situation 2011

3ed. Rational Use of Medicine. Geneva. 2011.

2. Dewi, A. P. (2017) 'Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Mahoni (*Swietenia mahagoni*) Terhadap *Shigella dysenteriae*', *Journal Of Pharmacy & Science*, 1, pp. 15–21.
3. Kemenkes RI, 2018. *Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian RI tahun 2018*.
4. Radji, H. dan M. (2008) *Analisis Hayati* Buku Ajar Program Studi Farmasi Universitas Indonesia. Jakarta : ECG.
5. Ariyanti, N. K. (2012) 'Daya Hambat Ekstrak Kulit Daun Lidah Buaya (*Aloe Barbadensis Miller*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*', *Orthosiphon stamineus Benth. E-Journal Planta Husada* Vol.2, No.1.
6. Rider, N. J. W. A. (1998) 'Historical Biogeography of *Spatholobus* and *Allies in SE Asia*', *Biogeography and Geological Evolution of SE Asia*, pp: 259-277, Leiden, The Netherlands.
7. Zamzani (2011), *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Tanaman Serai (Cymbopogon Nardus (L.) Rendle) Terhadap Pertumbuhan Staphylococcus aureus dan Escherichia coli*', *Skripsi*.

8. Saputera, M.M.A., 2018. *Uji Efektivitas Ekstrak Etanolik Batang Bajakah Tampala (Spatholobus littoralis Hassk.) Terhadap Waktu Penyembuhan Luka*. Jurnal Ilmiah Ibnu Sina, 2018; 3(2), 318-327.
9. Yuda, P., Cahyaningsih, E. and Winariyanthi, N. (2017) 'Skrining Fitokomia Dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Tanaman Patikan Kebo (*Euphorbia hirta L.*)', *Medicamento*, 3(2), pp. 61–70.
10. Rijayanti, R. P. (2014) 'Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mangga Bacang (*Mangifera foetida L.*) Terhadap *Staphylococcus aureus* secara *In Vitro*', Universitas Tanjung Pura. Pontianak.
11. Davis, S. & (1971) 'Disc Plate Method Of Microbiological Antibiotic Essay', *Journal Of Microbiology*. Vol 22 No 4.
12. Toy (2015) 'Uji daya hambat ekstrak rumput laut *gracilaria Sp* terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*', *jurnal e-Gigi (Eg)*, 3(1); 153-159.
13. Tortora, G. J. F. B. R. & C. C. L. (2010) *Microbiology an introduction 10th edition*, Pearson edition, Publishing as Pearson Benjamins Cummings, San Francisco, 1301 Sansome.
14. Radji, H. dan M. (2008) *Analisis Hayati* Buku Ajar Program Studi Farmasi Universitas Indonesia. Jakarta : ECG.
15. Agustin, B.A., Puspawaty, N., Rukmana, R. M. (2018) 'Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Etanolik Daun Beluntas (*Pluchaea indica Less.*) dan Meniran (*Phyllanthus niruri L.*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*', *Indonesian Journal of Clinical Pharmacy*.
16. Pratiwi, S. T. (2008) *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta : Erlangga.
17. Kusuma, S.A.F., 2010. *Escherichia coli*. Univ. Padjadjaran Fak. Farm, Jatinangor.
18. Saraswati, F. N. (2015) 'Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 96% Limbah Kulit Pisang Kepok Kuning (*Musa Balbisiani*) Terhadap Jerawat Penyebab Jerawat (*Stapylococcus Aureus, Stapylococcus Aureus Dan Proponiu Acnes*)', 70(1), pp. 54–55.
19. Pincus, M. (2011) *Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*, New York: Elsevier Saunders.
20. Febrianti, D.R., Khairina, N., & Alisa, P. N., 2018. Uji Aktivitas Antimikroorganisme Ekstrak Jeriangau (*Acorus calamus L.*) Terhadap Jamur *Candida albicans* Dan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*, 2018; 1(1): 96-103.