UJI AKTIVITAS EKSTRAK ETANOL BAYAM DURI (*Amaranthus spinosus L.*) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* DAN *Pseudomonas aeruginosa* DENGAN METODE DIFUSI AGAR

Rr. Sulistyaningsih, Firmansyah, Ami Tjitraresmi
Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran, Jatinangor, Sumedang

ABSTRAK

Tumbuhan Bayam duri (*Amarhantus spinosus* L.) secara empiris digunakan untuk mengobati berbagai penyakit diantaranya eksim, disentri dan diare. Aktivitas antibakteri dari daun bayam duri ini masih belum banyak diteliti. Tujuan penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antibakteri serta menentukan nilai Konsentrasi Hambat Tumbuh Minimum (KHTM) dari ekstrak etanol bayam duri (*Amarhantus spinosus* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Penelitian ini meliputi ekstraksi daun bayam duri, penapisan fitokimia, kromatografi lapis tipis terhadap ekstrak bayam duri, uji aktivitas antibakteri, penentuan Konsentrasi Hambat Tumbuh Minimum (KHTM) dengan metode difusi agar dan uji banding dengan ekstrak daun sukun (*Artocarpus communis* Forst.). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun Bayam Duri (*Amaranthus spinosus*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* , sedangkan pada *Pseudomonas aeruginosa* tidak memiliki aktivitas. Kosentrasi Hambat Tumbuh Minimum (KHTM) ekstrak etanol daun Bayam Duri (*Amaranthus spinosus* L.)terhadap *Staphylococcus aureus* berada pada rentang 6000 – 7000 ppm. Hasil uji banding daun bayam duri (*Amarhantus spinosus* L.) dengan ekstrak daun sukun (*Artocarpus communis* Forst.) terhadap *Staphylococcus aureus* sebesar 1 : 54,075

Kata kunci: *Amarhantus spinosus* L., Aktivitas antibakteri, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*

ABSTRACT

Spinach spine plant (*Amarhantus spinosus* L.) had been empirically used to treat various diseases including eczema, dysentria and diarrhea. Antibacterial activity of Spinach spine plant is still not much studied. The purpose of this research is conducted to determine the antibacterial activity and determine the value of the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of ethanol extract of spinach spine plant (*Amarhantus spinosus* L.) against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. This research involves the extraction of spinach spine plant, phytochemical screening test, thin layer chromatography of spinach spine plant extract , antibacterial test against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*, determination of Minimum Inhibitory Concentration (MIC) using diffusion method, and comparison with extract of breadfruit leaves (*Artrocarpus communis Forst*.). The results showed that spinach spine plant extract had antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* but did not has antibacterial activity against *Pseudomonas aeruginosa*. The Minimum Inhibitory Concentration of ethanol extract of spinach spine plant(Amaranthus spinosus L..) extract against *Staphylococcus aureus* was on concentration range 6000 – 7000 ppm. The ratio of antibacterial activity between spinach spine plant(Amaranthus spinosus L.) extract and breadfruit leaves (Artrocarpus communis Forst.) extract against Staphylococcus aureus was at 1 : 54.075.

Keywords *: Amarhantus spinosus* L., antibacterial activity, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*

PENDAHULUAN

Tumbuhan Bayam duri (*Amarhantus spinosus* L.) secara empiris digunakan sebagai obat yang memiliki aktivitas antibakteri. Bayam duri dapat menyembuhkan berbagai penyakit, diantaranya eksim, disentri, menurunkan panas (anti piretik), peluruh kemih (diuretik), menghilangkan racun (anti-toksin) menghilangkan bengkak, menghentikan diare dan membersihkan darah (Dalimartha, 1999).

Kulit dan membran mukosa selalu mengandung berbagai kelompok mikroorganisme, diantaranya mikroorganisme flora normal yang berperan mencegah timbulnya penumpuk dan mikroorganisme penyebab penyakit karena pengaruh bakteri dari luar. Jika flora normal terganggu, maka mikroorganisme dari luar dapat bertumpuk dan berproliferasi hingga menyebabkan penyakit (Jawetz, 2007). Bakteri yang menyebabkan infeksi pada kulit umumnya adalah bakteri *Staphylococcus* dan *Streptococcus* (Abdallah *et al*., 2007). *Pseudomonas aeruginosa* juga menyebabkan mayoritas ruam dan infeksi kulit. Pada tahun 1995-1996 menurut Pusat Pengendalian Penyakit dan Pencegahan Amerika Serikat (CDC), dilaporkan wabah penyakit yang ditularkan melalui air, 25%-nya merupakan dermatitis (gatal, sakit kulit). CDC melaporkan bahwa 7 dari 9 wabah dermatitis disebabkan oleh *Pseudomonas aeruginosa* (Levy , 1998).

Staphylococcus aureus adalah bakteri gram positif yang merupakan salah satu dari tiga jenis dari genus *Staphylococcus* dan bersifat patogen bagi manusia (Jawetz, 2007). *Pseudomonas aeruginosa* adalah bakteri gram negatif dan berbentuk tunggal, *Pseudomonas aeruginosa* menghasilkan beberapa eksotoksin yang berperan penting dalam patogenisitas. Bakteri ini menyebabkan infeksi pada luka dan luka bakar, berupa nanah hijau kebiruan yang dikarenakan adanya pigmen piosianin (Tortora, 1997).

Zat antibakteri adalah zat yang dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri sehingga dapat digunakan untuk mencegah atau mengatasi infeksi bakteri. Zat ini merupakan hasil metabolit

sekunder dari mikroba tertentu (antibiotika), diisolasi dari tumbuhan atau hewan dan hasil sintesis kimia (kemoterapeutika, antibiotika sintesis). Penggunaan zat antibakteri sintesis (obat-obat modern) yang terlalu sering dapat menyebabkan menurunnya resistensi inang sehingga inang menjadi lebih rentan terhadap infeksi (Pelczar, 1988).

Berdasarkan latar belakang di atas maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas ekstrak etanol bayam duri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

METODE

Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah maserator, *rotary evaporator* (Buchi Rotavapor R-300), otoklaf (Hirayama), inkubator (Sakura IF-4), cawan petri berdiameter 5 cm, 10 cm, dan 15 cm (Pyrex), jangka sorong, mikropipet volume 20-200 µL (Eppendorf), perforator berdiameter 7 mm, oven (Memmert), penangas air, timbangan digital (Mettler Toledo), tip mikropipet, pelat silika gel, bejana KLT, dan alat-alat gelas yang umum digunakan di Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Farmakognosi.

Bahan

Bahan tumbuhan : Simplisia daun bayam duri (*Amaranthus spinosus*) yang diperoleh dari Perkebunan Manoko, Lembang, Jawa Barat. **Bahan kimia** : etanol 70% (Bratachem), aquadest, NaCl fisiologis, amonia (Merck), kloroform (Bratachem), asam klorida 2 N (Merck), kalium hidroksida 5%, pereaksi Mayer, pereaksi Dragendorff, serbuk magnesium, amil alkohol (Merck), pereaksi besi (III) klorida, larutan gelatin 1%, pereaksi vanilin-asam sulfat, eter (Merck), pereaksi Liebermann-Buchard. **Bakteri uji** : *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* yang diperoleh dari Laboratorium Patologi Klinik Rumah Sakit Hasan Sadikin Bandung.

Medium pertumbuhan bakteri : *Nutrient Agar* (Oxoid) dan *Mannitol Salt Phenol-Red Agar* (Merck).

Metode

Pengumpulan dan Determinasi Bahan : Bahan tumbuhan yang digunakan adalah daun bayam duri (*Amaranthus spinosus*) yang diperoleh dari Perkebunan Manoko, Lembang, Jawa Barat. Determinasi tumbuhan dilakukan di Laboratorium Taksonomi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Padjadjaran.

Ekstraksi : Simplisia daun bayam duri (*Amaranthus spinosus* L.), dirajang, diekstraksi dengan cara maserasi selama 3x24 jam menggunakan pelarut etanol 70%, kemudian diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental, lalu diuapkan lagi di atas penangas air pada suhu 40^{o}C sampai berat ekstrak konstan.

Penapisan Fitokimia Ekstrak : Pemeriksaan golongan alkaloid, flavonoid, tanin, polifenolat, monoterpenoid dan seskuiterpenoid, steroid dan triterpenoid, kuinon, dan saponin.

Kromatografi Lapis Tipis

Ekstrak : Ekstrak dianalisis komponen-komponennya dengan kromatografi lapis tipis dengan fase diam silika gel 60 F_{254}, pengembang kloroform : metanol (9:1),penampak bercak diukur pada sinar tampak UV 254 nm dan UV 366 nm.

Pengujian Aktivitas Antibakteri Ekstrak : Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi agar dengan teknik perforasi. Sebanyak 20 µL suspensi bakteri dimasukkan ke dalam cawan petri, kemudian ditambahkan media *MSA* sebanyak 20 ml yang sudah hangat. Campuran tersebut kemudian dihomogenkan, lalu dibiarkan memadat. Setelah itu, dibuat lubang-lubang dengan perforator (d=7,00 mm). Pada tiap lubang kemudian diisikan suspensi ekstrak daun bayam duri dalam pelarut aquadest dengan konsentrasi 20%, 10%, 5%, dan 1% sebanyak 50 µL menggunakan mikropipet. Cawan petri tersebut kemudian diinkubasikan selama 18 – 24 jam di dalam inkubator pada suhu 37^{0}C. Diameter hambat ditandai dengan adanya zona bening di sekitar lubang, kemudian diameter hambatnya diukur dengan menggunakan jangka sorong. Perlakuan yang sama dilakukan pada bakteri

Peudomonas aeruginosa dimana media yang digunakan diganti dengan *NA.*

Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Ekstrak : Penentuan KHM dilakukan dengan metode pengenceran agar. Sampel ekstrak dengan berbagai konsentrasi, dimasukkan sebanyak 0,5 ml ke dalam cawan petri berdiameter 5 cm lalu dicampurkan dengan 4,5 ml media *MSA* yang masih cair hingga diperoleh medium uji dengan berbagai konsentrasi. Campuran tersebut dihomogenkan, lalu dibiarkan memadat. Pada permukaan masing-masing agar digoreskan suspensi bakteri uji menggunakan kawat ose. Selanjutnya cawan-cawan tersebut diinkubasikan dalam inkubator pada suhu 37 ^{o}C selama 18-24 jam. KHM ditentukan pada cawan dengan konsentrasi ekstrak terkecil yang masih mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji, yang ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan koloni bakteri. Hasil tersebut dibandingkan dengan kontrol negatif (agar) dan kontrol positif (agar ditambah suspensi bakteri uji).

Uji Banding Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Bayam Duri dengan Ekstrak Daun sukun : Uji banding ini dilakukan dengan metode difusi agar menggunakan teknik perforasi. Sebanyak 40 µL suspensi bakteri dimasukkan ke dalam cawan petri lalu ditambahkan 40 mL *MSA* yang masih cair bersuhu 40 ^{o}C lalu dihomogenkan dan dibiarkan memadat. Setelah memadat, dibuat lubang-lubang dengan perforator. Ke dalam lubang-lubang tersebut dimasukkan ekstrak daun sukun dengan konsentrasi 90000 ppm, 70000 ppm, 50000 ppm, 30000 ppm, dan 10000 ppm masing-masing sebanyak 50 µl. Cawan-cawan tersebut diinkubasikan dalam inkubator pada suhu 37 ^{o}C selama 18-24 jam. Diameter zona hambat yang dihasilkan ekstrak daun sukun dan ekstrak daun bayam duri diukur. Diameter hambat (mm) ekstrak daun sukun dipetakan pada sumbu y dan log konsentrasi (ppm) ekstrak daun sukun dipetakan pada sumbu x, kemudian dibuat kurva hubungan serta persamaan regresi liniernya. Kemudian, diameter zona hambat dari ekstrak daun bayam duri yang paling aktif dipetakan ke

dalam persamaan regresi linier dari ekstrak daun sukun yang diperoleh, sehingga diperoleh konsentrasi ekstrak daun sukun yang memiliki aktivitas yang setara dengan ekstrak bayam duri. Nilai banding diperoleh dengan persamaan sebagai berikut:

$$\text{Nilai banding} = \frac{\text{Konsentrasi sampel dari kurva baku}}{\text{Konsentrasi sampel sebenarnya}} \times 100\%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Pengumpulan Bahan dan Determinasi

Bahan tumbuhan daun bayam duri yang telah dikumpulkan dari daerah Lembang dirajang hingga diperoleh simplisia daun bayam duri yang berwarna hijau kecoklatan. Hasil determinasi dari daun bayam duri yang dilakukan di Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Padjadjaran menunjukkan bahwa tumbuhan yang dimaksud adalah *Amaranthus spinosus* L. suku *Amaranthaceae.*

Hasil Ekstraksi

Dari hasil ekstraksi simplisia sebanyak 1089 gram diperoleh ekstrak kental sebanyak 154,3 gram sehingga rendemennya adalah 13,34%.

Hasil Penapisan Fitokimia

Tabel 1. Hasil Penapisan Fitokimia Simplisia Daun Bayam Duri

Golongan Senyawa	Hasil Uji
Alkaloid	+
Flavonoid	-
Polifenolat	-
Tanin	-
Monoterpenoid & Seskuiterpenoid	-
Steroid / Triterpenoid	- / -
Kuinon	-
Saponin	+

Keterangan: + = terdeteksi
- = tidak terdeteksi

Hasil Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Etanol Daun Bayam Duri

Analisis kromatografi lapis tipis ekstrak dilakukan dengan kondisi sebagai berikut:

Fase diam : silika gel 60 F_{254}

Pengembang : kloroform : metanol (9: 1)

Penampak bercak diukur pada sinar tampak : UV 254 nm dan UV 366 nm.

Hasil KLT ekstrak dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2 : Hasil Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Etanol Daun Bayam Duri

Rf	Sinar Tampak	Sinar UV	
		254 nm	366 nm
0,95	Kuning	Biru	-
0,86	Hijau	Hijau kebiruan	Merah muda kehitaman
0,78	-	-	Merah muda
0,75	-	-	Merah muda
0,68	-	-	Merah muda
0,62	-	-	Merah muda
0,58	-	-	Merah muda
0,52	-	-	Ungu
0,50	-	-	Ungu Merah
0,48	-	-	muda
0,32	-	-	Merah muda

Keterangan : - = tidak terdeteksi

Hasil Pengujian Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Bayam Duri

Uji aktivitas antibakteri ekstrak dilakukan dengan konsentrasi 200.000, 100.000, 50.000, dan 10.000 ekstrak daun bayam duri dengan metode difusi agar. Hasil uji aktivitas antibakteri dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3 Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Bayam Duri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*

Konsentrasi Ekstrak (ppm)	*Staphylococcus aureus*	*Pseudomonas aeruginosa*
200.000	+	-
100.000	+	-
50.000	+	-
10.000	+	-

Keterangan: + = memberikan aktivitas antibakteri
- = tidak memberikan aktivitas antibakteri

Data pada Tabel 3 menunjukkan bahwa ekstrak daun bayam duri masih menunjukkan aktivitas antibakteri hingga konsentrasi 10.000 ppm terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* sedangkan pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* tidak menunjukkan aktivitas antibakteri.

Hasil Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Ekstrak Etanol Daun Bayam Duri

Penetapan konsentrasi hambat minimum ekstrak dilakukan pada konsentrasi ekstrak 10.000, 7000, 6000, 5000, dan 4000 ppm untuk bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil uji KHTM ekstrak dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4 Hasil Penentuan KHTM Ekstrak Etanol Daun Bayam Duri terhadap *Staphylococcus aureus*

Konsentrasi Ekstrak (ppm)	Hasil uji
10.000	-
7.000	-
6.000	+
5.000	+
4.000	+

Keterangan : + = ada pertumbuhan bakteri

\- = tidak ada pertumbuhan bakteri

Data pada Tabel 4 menunjukkan bahwa konsentrasi hambat minimum ekstrak terhadap *Staphylococcus aureus* berada pada konsentrasi antara 6000 - 7000 ppm.

Hasil Uji Banding Ekstrak Daun Bayam Duri dengan Ekstrak Daun Sukun

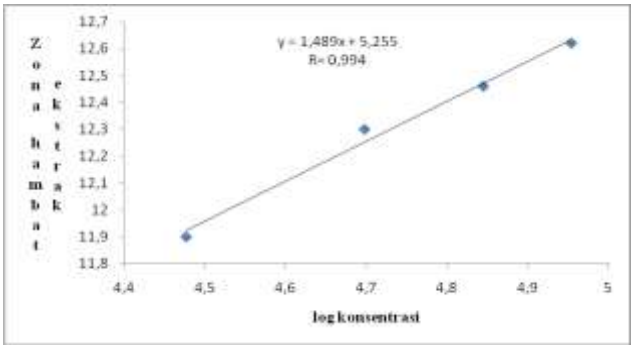
Untuk mendapatkan nilai banding, diperlukan kurva baku ekstrak daun sukun, yang merupakan plot antara log konsentrasi ekstrak daun sukun terhadap diameter zona hambat. Data konsentrasi dan zona hambat ekstrak daun sukun dapat dilihat pada Tabel 6, sedangkan data konsentrasi dan zona hambat ekstrak daun bayam duri dapat dilihat pada tabel 7.

Tabel 6 Hasil Penetapan Diameter Hambat Ekstrak Daun Sukun terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Konsentrasi Ekstrak daun sukun (ppm)		Diameter Hambat (mm)			Diameter Rata-rata (mm)
C	Log C	I	II	III	
10000	4	11,58	11,64	11,58	11,60
30000	4,477	11,88	11,90	11,92	11,90
50000	4,698	12,26	12,36	12,28	12,30
70000	4,845	12,42	12,44	12,52	12,46
90000	4,954	12,62	12,58	12,66	12,62

Keterangan: diameter lubang = 7,00 mm

Berdasarkan data pada Tabel 6 dapat dibuat kurva hubungan log konsentrasi (ppm) ekstrak daun sukun dengan rata-rata zona hambat (mm) ekstrak daun sukun terhadap bakteri uji. Hasilnya dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1 Kurva hubungan antara logaritma konsentrasi (ppm) ekstrak daun sukun dengan rata-rata diameter hambat (mm) ekstrak daun sukun terhadap *Staphylococcus aureus*

Dari kurva pada Gambar 4.1, diperoleh persamaan regresi linier y = 1,489 x + 5,255.

Tabel 7 Hasil Pengukuran Diameter Hambat Ekstrak Etanol Daun Bayam Duri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Konsentrasi Ekstrak (ppm)	Diameter Hambat (mm)
	Staphylococcus aureus
100.000	15,20
	15,24
	15,40
Rata-rata	15,28

Keterangan: diameter lubang = 7,00 mm

Dari data tabel 7 pada konsentrasi 100.000 ppm ekstrak daun bayam duri memberikan diameter hambat rata-rata terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar 15,28 mm. Nilai ini kemudian disubstitusikan dengan menggunakan persamaan regresi linier aktivitas daun sukun terhadap *Staphylococcus aureus* yaitu y = 1,489 x + 5,255 sehingga didapatkan nilai x = 6,733 dan antilog = 5.407.543,229 ppm. Nilai antilog ini menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak daun sukun yang memberikan diameter hambat 15,28 mm adalah sebesar 5.407.543,229 ppm. Nilai banding diperoleh dengan membandingkan konsentrasi ekstrak daun bayam duri dengan konsentrasi ekstrak daun sukun. Konsentrasi ekstrak daun bayam duri sebesar 100.000 ppm dibandingkan dengan konsentrasi daun sukun sebesar 5.407.543,229 ppm, sehingga diperoleh nilai banding ekstrak daun bayam duri dengan ekstrak daun sukun terhadap *Staphylococcus aureus* sebesar 1 : 54,075. Nilai banding ini berarti bahwa untuk menghasilkan diameter hambat yang sama 1 bagian ekstrak daun bayam duri sebanding dengan 54,075 bagian ekstrak daun sukun.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Dari hasil penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun bayam duri (*Amaranthus spinosus*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* sedangkan pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* tidak memiliki aktivitas antibakteri. Konsentrasi Hambat Tumbuh Minimum(KHTM) ekstrak etanol daun bayam duri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* terletak pada rentang konsentrasi 6000 – 7000 ppm. Nilai banding aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun bayam duri dengan

ekstrak daun sukun terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* adalah 1 : 54,075.

Hasil penapisan fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun bayam duri mengandung senyawa alkaloid dan saponin.

Saran

Penelitian mengenai uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun bayam duri (*Amaranthus spinosus*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* merupakan penelitian tahap awal, sehingga pengujian aktivitas antibakteri ekstrak terhadap bakteri lain perlu dilakukan agar dapat melengkapi data penelitian aktivitas antibakteri dari tumbuhan ini. Dengan adanya aktivitas antibakteri yang terkandung dalam daun bayam duri, perlu dilakukan pengujian aktivitas antibakteri dari fraksi-fraksi ekstrak serta analisis lebih lanjut untuk mengetahui dan mengisolasi senyawa aktif antibakteri yang terkandung dalam tumbuhan ini.

DAFTAR PUSTAKA

Abdallah M., Zaki S.M., El-Sayed A. and Erfan D. 2007. Evaluation of secondary bacterial infection of skin diseases in Egyptian inpatients and outpatients and their sensitivity to antimicrobial. *Egyptian Dermatology Online Journal*. 3(2): 3.

Dalimartha, Setiawan. 1999. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Jilid 1. Trubus Agriwidya. Jakarta.

Jawetz, E., Mulnich, J.L. and Adelberg, E, A. 2007. *Mikrobiologi Kedokteran.* Alih bahasa Huriawati hartanto. Edisi ke-23. CV. EGC Penerbit Buku Kedokteran Jakarta. hlm. 225-227, 266-268.

Levy, D., M. Bens, G. Craun, R. Calderon, and B. Herwaldt. December 11, 1998. Surveillance for Waterborne-Disease Outbreaks – United States, 1995-1996. MMWR 47:1-34.

Pelczar, M. and Chan,S. 1986. *Dasar – Dasar Mikrobiologi* 1 & 2. Jakarta: UI-Press. hlm. 175-176.

Tortora, et. al. 1997. *Microbiology an Introduction.* 6 th edition. Addison Wesley Longman, Inc. California. p. 531-536 , 549.