

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI DIKLOROMETAN HERBA SISIK
NAGA (*Drymoglossum piloselloides*) TERHADAP BAKTERI
Escherichia coli DAN *Staphylococcus epidermidis***

Yashinta¹, Hariyanto I.H¹, Ari Widiyantoro²

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura Pontianak

²Program Studi Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Tanjungpura Pontianak

Abstrak: Salah satu faktor utama penyebab diare adalah kolonisasi bakteri *Escherichia coli* sedangkan penyebab infeksi kulit adalah kolonisasi bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *Drymoglossum piloselloides* telah banyak diteliti aktivitasnya sebagai antibakteri. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui aktivitas antibakteri dan konsentrasi hambat minimal fraksi diklorometan herba sisik naga. Simplisia dimaserasi menggunakan pelarut metanol. Ekstrak metanol yang diperoleh di fraksinasi menggunakan pelarut n-heksan. Kemudian difraksinasi lagi menggunakan diklorometan. Fraksi diklorometan herba sisik naga dibuat menjadi 3 seri konsentrasi yaitu 0,5%; 1% dan 2,5%. Kontrol positif yang digunakan adalah siprofloksasin 50µg/ml, sedangkan kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO 15%. Pengujian aktivitas antibakteri fraksi dilakukan dengan metode difusi cakram. Hasil penelitian menunjukkan rata – rata diameter zona hambat ekstrak metanol 1%; fraksi diklorometan herba sisik naga konsentrasi 0,5%; 1% dan 2,5% terhadap bakteri *E. coli* masing - masing $9,750 \pm 2,250$; $11,166 \pm 5,076$; $12,000 \pm 3,929$ dan $15,916 \pm 3,125$ mm, sedangkan terhadap bakteri *S. epidermidis* masing – masing $10,410 \pm 1,376$; $9,250 \pm 0,750$; $11,160 \pm 2,126$ dan $15,333 \pm 2,184$ mm. Hasil analisis menunjukkan bahwa fraksi diklorometan herba sisik naga konsentrasi 2,5% pada bakteri *E. coli* dan *S. epidermidis* memberikan efek antibakteri yang paling optimal dan berbeda bermakna dibandingkan dengan kontrol positif ($p < 0,05$). Sedangkan, konsentrasi hambat minimal fraksi diklorometan herba sisik naga yaitu pada konsentrasi 0,5%

Kata Kunci: *Drymoglossum piloselloides*, *Escherichia coli*, kadar hambat minimal dan *Staphylococcus epidermidis*

PENDAHULUAN

Infeksi merupakan penyakit yang disebabkan bakteri dan banyak diderita oleh masyarakat. Salah satu penyebab infeksi adalah bakteri *Enterobacteria* dari golongan *Escherichia coli* yang merupakan penyebab terjadinya infeksi saluran kemih (ISK), infeksi saluran cerna, aliran darah, paru-paru dan kulit¹. Prevalensi penyakit diare disebabkan *E. coli* berdasarkan data dari profil kesehatan Indonesia tahun 2000 – 2010 terlihat kecenderungan insiden naik. Pada tahun 2000 *incidence rate* penyakit diare 301/1000 penduduk, tahun 2003 naik menjadi 374/1000 penduduk, tahun 2006 naik menjadi 423/1000 penduduk dan tahun 2010 menjadi 411/1000 penduduk². Bakteri lainnya yang dapat menyebabkan infeksi adalah bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *S. epidermidis* merupakan salah satu penyebab infeksi kulit pada manusia yang dapat menyebabkan jerawat dan *Staphylococcal Scalded Skin Syndrome* (SSSS) pada neonatus dan anak-anak.

Pengobatan utama yang dilakukan terhadap infeksi yang disebabkan oleh bakteri adalah dengan menggunakan antibiotik. Antibiotik yang umum digunakan adalah *Amoxicillin*, *Ampicillin*, *Chloramphenicol* dan *Penicillin G*. Namun, pada perkembangannya terdapat banyak bakteri yang mengalami resistensi terhadap antibiotik. Resistensi terhadap antibiotik dikarenakan bakteri lama kelamaan memiliki kemampuan mengubah struktur enzim atau membran bakteri sehingga dapat bertahan terhadap antibiotik. Resistensi *E. coli* terhadap berbagai antibiotik telah banyak dilaporkan^{3, 4, 5}. Seperti halnya *Enterobacteriaceae*, *E. coli* telah banyak yang resisten terhadap golongan betalaktam, fosfomisin, dan golongan kuinolon^{3, 4, 5}. *S. epidermidis* merupakan bakteri yang mengalami resistensi terhadap beberapa antibiotik asam nalidiksat dan antibiotik golongan sefalosporin⁶

Terjadinya resistensi menyebabkan kegagalan dari terapi. Sehingga dibutuhkan antibiotik pengganti untuk membasmi bakteri yang telah resisten. Pengobatan alternatif yang telah diteliti dan dikembangkan sebagai antibakteri, yaitu menggunakan bahan alam. Salah satu tanaman yang saat ini dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri yaitu herba sisik naga (*Drymoglossum piloselloides*). Hasil dari penelitian-penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa minyak atsiri, triterpen/steroid, fenol, flavonoid dan tanin merupakan senyawa-senyawa bioaktif yang dapat bersifat antibakteri dan antifungi. Penelitian yang telah dilakukan, menunjukkan ekstrak etanol daun sisik naga mempunyai aktivitas menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *Streptococcus aureus*, sedangkan ekstrak airnya hanya dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus aureus*⁷.

Berdasarkan uraian di atas, maka dilakukan pengujian aktivitas antibakteri fraksi diklorometan herba sisik naga terhadap bakteri *E. coli* dan *S. epidermidis*.

METODOLOGI

Alat:

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain alat – alat gelas, *maserator*, *vacuum rotary evaporator* (Rotavapor II BUCHI), *water bath* (Memmert WNB 22), timbangan analitik (Ohaus PA2102), oven (Memmert UP400), krusibel porselen, desikator, corong pisah, kertas saring, pinset, *laminar air flow* (LAF) *cabinet*, *autoclave* (HL 36Ae), vial, cawan Petri (Iwaki Pyrex), jangka sorong, jarum Ose, dan mikropipet (Rainin E1019705K), pH meter (Hanna), pembakar Bunsen

Bahan:

Bahan – bahan yang digunakan antara lain herba sisik naga, akuades, metanol, etanol, n-heksan, diklorometan, DMSO 15%, aluminium foil, media *Muller Hinton Agar*, spiritus, kertas merang, kain kasa, kapas, plastik tahan panas (Wayang), pereaksi Mayer, kalium iodida (KI) (Merck), magnesium (Mg) (Merck), asam klorida (HCL) pekat (Merck), besi (III) klorida ($FeCl_3$) 1%, asam asetat (CH_3COOH) glacial (Merck), H_2SO_4 pekat (Merck), kloroform (CH_3Cl) (Merck), larutan Standar Mc. Farland no. 0,5 (Merck), karbol kristal ungu, lugol, air fukhsin, dan larutan natrium klorida (NaCl) 0,9% (Merck). Bakteri uji yang digunakan pada penelitian ini antara lain kultur murni *E. coli* dan *S. Epidermidis* yang merupakan koleksi dari unit Laboratorium Bakteriologi Poltekes Pontianak. Antibiotik pembanding yang digunakan pada penelitian ini adalah Siprofloksasin.

Tahapan Penelitian

Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah herba sisik naga yang diperoleh di Punggur, Kalimantan Barat. Sampel yang diperoleh dideterminasi di Laboratorium Sistemik Tumbuhan Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Sampel kemudian dibuat menjadi simplisia dan dimaserasi menggunakan pelarut metanol.

Ekstrak metanol yang diperoleh di fraksinasi menggunakan pelarut n-heksan. Fraksi metanol dan fraksi n-heksan yang diperoleh dipisahkan. Kemudian fraksi metanol difraksinasi lagi menggunakan diklorometan .

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan terhadap ekstrak metanol dan fraksi diklorometan herba sisik naga meliputi pemeriksaan alkaloid, flavonoid, fenolik, tanin, triterpenoid, steroid dan saponin

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi

Uji aktivitas antibakteri dari ekstrak metanol dan fraksi diklorometan herba sisik naga dilakukan dengan metode *disc diffusion*. Ekstrak metanol herba sisik naga yang digunakan yaitu konsentrasi 1%. Fraksi diklorometan herba sisik naga terdiri dari tiga variasi konsentrasi: 0,5%; 1% dan 2,5%. Kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO 15%. Kertas cakram dimasukkan ke dalam larutan ekstrak, fraksi, kontrol positif dan kontrol negatif. Kertas cakram kemudian diletakkan pada permukaan media Mueller-Hilton Agar (MHA) telah diinokulasikan bakteri *E. coli* dan *S. epidermidis* . Petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam.

Analisis Data

Data kuantitatif yang diperoleh meliputi diameter zona hambat ekstrak dan fraksi. Analisis data dilakukan dengan menggunakan program SPSS. Uji normalitas data dilakukan dengan uji *Saphiro-Wilk*. Uji homogenitas data dilakukan dengan uji *Levene's Test of Homogeneity of Variance*. Data kemudian dianalisis dengan *One Way ANOVA (Analysis of Varians)* untuk membandingkan nilai signifikansi diameter zona hambat dari ekstrak1%, fraksi konsentrasi 0,5%; 1% dan 2,5%, kontrol positif dan kontrol negatif.

HASIL

Determinasi Sampel Tumbuhan

Berdasarkan hasil identifikasi tanaman yang dilakukan di Laboratorium Sistemik Tumbuhan Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta menyatakan bahwa tanaman yang digunakan pada penelitian ini adalah tanaman herba sisik naga dengan spesies *Drymoglossum pilloseloides*.

Skrining Fitokimia

Hasil skrining fitokimia terhadap ekstrak metanol dan fraksi diklorometan herba sisik naga ditunjukkan pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol dan Fraksi Diklorometan Herba Sisik Naga

No	Pemeriksaan	Reagen	Ekstrak	Fraksi
1	Alkaloid	Mayer	-	-
		Dragendrof	-	-
		Wagner	-	-
2	Fenolik	FeCl ₃ 1%	+	+
3	Flavonoid	Mg, HCl	+	+
4	Saponin	Air, HCl	+	+
5	Steroid	Lieberman Burchard	-	-
6	Triterpenoid	Lieberman Burchard	+	+
7	Tanin	FeCl ₃ 5%	+	+

Keterangan: (+) positif : mengandung golongan senyawa; (-) negatif: tidak mengandung golongan senyawa

Hasil skrining menunjukkan ekstrak metanol herba sisik naga mengandung senyawa fenolik, flavonoid, saponin, triterpenoid dan tanin. Fraksi diklorometan hanya mengandung senyawa flavonoid, saponin dan triterpenoid.

Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode *disc diffusion*. Metode *disc diffusion* adalah metode untuk menentukan aktivitas suatu agen antimikroba. Kontrol positif yang digunakan adalah siprofloksasin dan kontrol negatif yang digunakan ialah larutan DMSO 15%. DMSO merupakan senyawa *amphipatic* yang memiliki gugus polar dan non polar, sehingga ia dapat larut pada akuades dan senyawa organik. Hasil pengujian aktivitas antibakteri dari ekstrak dan fraksi diklorometan herba sisik naga terhadap bakteri *E. coli* dan *S. epidermidis* dapat dilihat pada tabel 2, gambar 1 dan gambar 2.

Tabel 2. Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi

Sampel	DiameterZona Hambat (mm)	
	Escherichia coli	Staphylococcus epidermidis
Ekstrak 1%	9,750±2,250 ^{xy}	10,410±1,376 ^{xy}
Fraksi 0,5%	11,166±5,076 ^{xy}	9,250±0,750 ^{xy}
Fraksi 1%	12,000±3,929 ^{xy}	11,160±2,126 ^{xy}
Fraksi 2,5%	15,916±3,125 ^{xy}	15,333±2,184 ^{xy}
Kontrol positif	24,500±9,128 ^y	27,083±2,376 ^y
Kontrol negatif	0,000 ± 0,000 ^x	0,000 ± 0,000 ^x

Keterangan : ^x = berbeda bermakna dengan kontrol negatif ;

^y = berbeda bermakna dengan kontrol positif ;

^{xy} = berbeda bermakna dengan kontrol positif dan kontrol negatif



Gambar 1. Hasil Pengujian Ekstrak dan Fraksi pada Bakteri *Staphylococcus epidermidis*



Gambar 2. Hasil Pengujian Ekstrak dan Fraksi pada Bakteri *Escherichia coli*

PEMBAHASAN

Hasil uji aktivitas antibakteri dari kontrol negatif tidak menunjukkan adanya zona hambat. Aktivitas tertinggi pada fraksi ditunjukkan oleh fraksi diklorometan herba sisik naga dengan konsentrasi 2,5%. Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak metanol dan fraksi diklorometan herba sisik naga memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli* dan *S. epidermidis*. Struktur bakteri Gram negatif memiliki membran bagian luar yang menyelimuti lapisan tipis peptidoglikan. Gram negatif memiliki kandungan lipid yang tinggi pada lapisan dinding selnya, sehingga akan lebih mudah ditembus oleh senyawa nonpolar. Perbedaan struktur dinding sel inilah yang menyebabkan perbedaan besar diameter zona hambat pada *E. coli* dan *S. epidermidis*. Hasil yang sama juga terjadi pada senyawa triterpenoid yang diisolasi dari ekstrak n-heksan biji pepaya memiliki zona hambat yang lebih besar pada *E. coli* dibandingkan dengan *S. Epidermidis* ⁸.

Senyawa yang diduga berperan sebagai antibakteri ialah senyawa flavonoid, triterpenoid dan saponin. Terpenoid memiliki aktivitas antibakteri dengan mekanisme yaitu bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri. Permeabilitas dinding sel ini akan mengganggu masuk keluarnya nutrisi dan senyawa lainnya, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati. ⁹

Analisis perbandingan aktivitas antibakteri dari ekstrak dan ketiga konsentrasi fraksi dilakukan dan hasilnya menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri dari ekstrak dan ketiga konsentrasi fraksi tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna terhadap bakteri *E. coli*. Hal ini ditunjukkan dari nilai $p > 0,05$. Analisis perbandingan aktivitas antibakteri dari ekstrak dan ketiga konsentrasi fraksi dilakukan dan hasilnya menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri dari fraksi diklorometan herba sisik naga konsentrasi 2,5% dengan ekstrak, fraksi 0,5% dan 1% menunjukkan perbedaan yang bermakna terhadap bakteri *S. epidermidis*. Hal ini ditunjukkan dari nilai $p < 0,05$. Analisis perbandingan aktivitas antibakteri dari ekstrak, ketiga konsentrasi fraksi, kontrol positif dan kontrol negatif dilakukan dan hasilnya menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri ekstrak dan ketiga konsentrasi dengan kontrol negatif dan kontrol positif menunjukkan perbedaan yang bermakna terhadap bakteri *E. coli* dan *S. epidermidis*. Hal ini ditunjukkan dari nilai $p < 0,05$.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa Fraksi diklorometan herba sisik naga memiliki aktivitas antibakteri pada bakteri *E. coli* dan *S. epidermidis*. Golongan senyawa dari fraksi diklorometan herba sisik naga yang diduga menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. epidermidis* adalah triterpenoid, saponin dan flavonoid. Konsentrasi hambat minimum fraksi diklorometan herba sisik naga pada bakteri *E. coli* dan *S. epidermidis* adalah 0,5%.

DAFTAR PUSTAKA

1. Brooks GF, Janet SB, Stephen AM, Jawetz E, Melnick, dan Adelberg. Mikrobiologi Kedokteran. 1st Alih bahasa oleh Mudihardi E, Kuntaman, Wasito EB, Mertaniasih NM, Harsono S, dan Alimsardjono L. Jakarta: Salemba Medika. 2001
2. Kementerian Kesehatan RI. Buletin Jendela Data dan Informasi Kesehatan : Situasi Diare di Indonesia. Jakarta : Kementerian Kesehatan RI. 2011
3. Lindgren P K, Karlsson A, Hughes D. Mutation Rate and Evolution of Fluoroquinolone Resistance in *Escherichia coli* Isolates from Patients with Urinary Tract Infections. Antimicrob Agents Chemother. 2003 ; 47 : 3222-32
4. McDonald L C, Chen FJ, Lo HJ, Yin HC, Lu PL, Huang CH, et al. Emergence of Reduced Susceptibility and Resistance to Fluoroquinolones in *Escherichia coli* in Taiwan and Contributions of Distinct Selective Pressures. Antimicrob Agents Chemother. 2001 ; 45 : 3084-91
5. Nilsson AI, Berg OG, Aspeval O, Kahlmeter G, Andersson DI. Biological Costs and Mechanisms of Fosfomycin Resistance in *Escherichia coli*. Antimicrob Agents Chemother. 2003 ; 47: 2850-8
6. Siti Fauziah Noer. Pola Bakteri dan Resistensinya Terhadap Antibiotik yang Ditemukan pada Air dan Udara Ruang Instalasi Rawat Khusus RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar. Makassar : Universitas Islam Makassar. 2012 ; Vol 16 : 73-78
7. Susilowati, L. Nuraini. *Drymoglossum heterophyllum* C. Chr. Daya Antibakteri Daun *Drymoglossum heterophyllum* C. Chr terhadap *Escherichia coli* dan *Streptococcus aureus* serta Skrining Fitokimianya. FF UGIV . 1988 ; No. 171
8. Sukadana IM, Santi SR, Juliarti NK. Aktivitas Antibakteri Senyawa Golongan Triterpenoid dari Biji Pepaya (*Carica papaya* L.). Jurnal Kimia. 2008;2(1):15-18
9. Cowan M. Plant Product as Antimicrobial Agent. Clinical Microbiology Reviews. 1999;12(4):564-582