

Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.F) Bedd) Terhadap *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* dengan Metode Difusi Agar CLSI M02-A11

Tina Rostinawati^{*1}, Shendi Suryana², Maulida Fajrin², Hanny Nugrahani¹

¹⁾ Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran, Jl. Raya Bandung-Sumedang KM 21 Jatinangor 45363

²⁾ Program Studi Farmasi, FMIPA Universitas Garut, Jl. Jati No. 42 B Tarogong, Garut 44151

Abstrak

Tanaman kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.F) Bedd) dikenal memiliki banyak khasiat dan digunakan sebagai tanaman obat di Kalimantan Tengah. Kelakai mengandung senyawa tanin, flavonoid, steroid, alkaloid, lemak, protein, kalsium, mineral Fe, vitamin C, dan vitamin A. Tujuan dari penelitian untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kelakai terhadap *S. typhi* dan *S. aureus* dengan metode difusi agar CLSI M02-A11. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode *disc diffusion* atau difusi cakram. Konsentrasi ekstrak yang digunakan dalam pengujian terhadap kedua bakteri adalah 125000µg/ml, 250000µg/ml, 375000µg/ml, 500000µg/ml dan 1000000µg/ml. Semakin meningkat konsentrasi ekstrak etanol daun kelakai menunjukkan semakin besar diameter zona hambat pertumbuhan bakteri. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak etanol daun kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.F) Bedd) terhadap pertumbuhan *S. aureus* adalah 10,6% (b/v) dan terhadap *S. typhi* adalah 9% (b/v). Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ekstrak etanol daun kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.F) Bedd) terhadap pertumbuhan *S. aureus* adalah 11% (b/v) dan terhadap *S. typhi* adalah 10,8% (b/v). Nilai kesetaraan aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa 1 mg tetrasiklin terhadap bakteri *S. aureus* setara dengan 28,21 mg ekstrak etanol daun kelakai dan terhadap *S. typhi* setara dengan 23,65 mg ekstrak etanol daun kelakai.

Kata kunci: kelakai, antibakteri, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, difusi agar

1. Pendahuluan

Penyakit infeksi merupakan salah satu masalah kesehatan yang paling utama di negara-negara berkembang termasuk Indonesia. Berdasarkan Survey Kesehatan Rumah Tangga tahun 2007, penyebab utama kematian antara lain 28,1 % disebabkan oleh penyakit infeksi dan parasit. Hal inilah yang mendorong dan mendasari pencarian sumber obat-obatan alami yang murah dan memiliki potensi aktivitas antimikroba [1]. Pemanfaatan tanaman herbal untuk pengobatan tradisional telah menyatu di masyarakat. Hal ini dikarenakan tanaman herbal memiliki beberapa keuntungan, salah satunya yaitu memiliki efek samping yang rendah apabila dibandingkan dengan obat yang terbuat dari bahan sintetik. Selain itu, tanaman herbal juga mudah diproduksi, mudah diperoleh dan murah dibandingkan dengan obat sintetik.

Tanaman kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.F) Bedd) sangat dikenal oleh masyarakat Kalimantan Tengah sebagai tanaman obat karena tanaman tersebut mudah didapat dan memiliki banyak manfaat seperti penambah darah, menunda penuaan, antidiare, dan sayuran yang lezat. Daun kelakai dapat digunakan sebagai obat tradisional karena mengandung golongan senyawa flavonoid dan tanin yang diantaranya berfungsi untuk mencegah kekurangan darah (pencegah anemia), menstruasi teratur dan antidiare serta berkhasiat sebagai pereda demam, dan juga mengobati sakit kulit, meningkatkan ASI, dan dapat mengobati kanker [2]. Kandungan kimia yang terdapat pada kelakai antara lain tanin, flavonoid, steroid, alkaloid, lemak, protein, kalsium, mineral Fe, vitamin C, dan vitamin A [2, 3, 4].

* Departemen Biologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran
Email: tinarostinawati@gmail.com

Berdasarkan latar belakang di atas, peneliti tertarik untuk melakukan pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.F) Bedd) terhadap *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* dengan metode difusi agar.



Gambar 1. Tanaman kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.F) Bedd)

2. Metode Penelitian

2.1 Pengambilan Sampel Tanaman dan Determinasi

Sampel daun kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. F) Bedd) diperoleh dari Kota Palangkaraya, Kalimantan Tengah. Determinasi dilakukan di Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati ITB Bandung. Hasil determinasi menunjukkan bahwa bahan penelitian termasuk *Stenochlaena palustris* (Burm. F) Bedd [5]. Pengolahan bahan meliputi sortasi basah, pencucian, pengeringan, sortasi kering, penyimpanan, dan penggilingan hingga diperoleh simplisia dalam bentuk serbuk.

2.2 Karakterisasi Simplisia dan Penapisan Fitokimia

Pemeriksaan karakterisasi simplisia meliputi, pemeriksaan makroskopik, pemeriksaan mikroskopik, penetapan kadar air, penetapan kadar abu total, penetapan kadar abu larut air, penetapan kadar abu tidak larut asam, penetapan kadar sari larut air, penetapan kadar sari larut etanol, dan penetapan susut pengeringan [6, 7, 8]. Penapisan fitokimia dilakukan untuk pemeriksaan senyawa golongan alkaloid, flavonoid, saponin, kuinon, tanin dan steroid [8].

2.3 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Kelakai

Sebanyak 100 g serbuk simplisia ditimbang dan ditambahkan dengan 1 L etanol 96%, kemudian dimaserasi selama 3 kali 24 jam. Ekstrak disaring dengan kain flanel, selanjutnya dengan kertas saring. Kemudian ekstrak dipekatkan dengan menggunakan evaporator agar diperoleh ekstrak kental dengan bobot tetap [9, 10].

2.4 Pembuatan Bakteri Uji

Sebanyak 3,8 gram serbuk agar dilarutkan dalam air suling steril sebanyak 100 mL aquadest, kemudian dipanaskan hingga larut dalam labu erlenmeyer, lalu disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit dengan pH 7,2-7,4 dengan ketebalan media 3-4 mm pada saat pembuatan media di cawan petri. Pembuatan biakan miring yaitu dengan menggoreskan biakan dari stok bakteri ke media *Mueller Hinton Agar* (MHA) miring yang masih baru. Diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Dari biakan tersebut diambil satu ose untuk setiap bakteri uji dan dilarutkan dalam *Mueller Hinton Broth* (MHB), diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C. Suspensi yang telah diinkubasi kemudian dikocok menggunakan pengocok vortex sehingga diperoleh absorban dengan rentang 0,08-0,10 pada 625 nm yang diukur dengan spektrofotometer.

2.5 Pembuatan inokulum standar

Dalam membuat stok bakteri ini digunakan inokulum standar yaitu stok bakteri 10^8 CFU/mL sama dengan standar 0,5 McFarland. Diambil 0,5 mL dari larutan BaCl_2 dengan konsentrasi 0,048 mol/L, yang di tambahkan 99,5 mL larutan H_2SO_4 dengan konsentrasi 0,18 mol/L (0,36 N) (1% v/v). Diukur dengan spektrofotometri Uv-Visibel, panjang gelombang 625 nm dan rentang absorban antara 0,08-0,10 [11, 12]. Koloni diinkubasi selama 1 kali 24 jam sampai terbentuk koloni. Kemudian ambil kurang lebih 3-5 koloni dengan kawat ose, masukan ke dalam 4-5 mL MHB. Inkubasi pada suhu 37 °C selama 2-6 jam. Setiap satu jam sekali diambil dan dicek dalam spektrofotometri sampai menghasilkan absorban yang konstan atau sama dengan nilai absorban inokulum standar.

2.6 Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas daya hambat ekstrak etanol daun kelakai dilakukan pada konsentrasi 12,5 %, 25 %, 37,5 %, 50 % dan 100 %. Sebanyak 10 μL suspensi bakteri *S. typhi* dan 10 μL suspensi bakteri *S. aureus* ditambahkan ke dalam 20 mL media *Mueller-Hinton Agar* (MHA) di dalam cawan petri steril. Campuran kemudian dihomogenkan lalu didinginkan dan dibiarkan memadat. Kertas cakram yang mengandung ekstrak etanol daun kelakai ditempelkan pada media yang sudah memadat. Diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam, diameter hambat diamati setelah periode inkubasi dan dilakukan 3 kali replikasi.

2.7 Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)

Ekstrak yang diperoleh diuji Konsentrasi Hambat Minimumnya terhadap bakteri *S. typhi* dan *S. aureus*.

Ekstrak dicampur pada media MHA, didinginkan dan dibiarkan memadat. Selanjutnya media yang telah memadat digoreskan dengan bakteri menggunakan *cottonbud* steril yang diambil dari suspensi bakteri. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam untuk pengamatan konsentrasi hambat minimum daun kelakai. Kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Diamati zona bening, apabila terdapat zona bening maka diinkubasi kembali selama 24 jam dan diamati kembali zona bening pada petri tersebut apabila tidak ditumbuhi bakteri maka zona bening tersebut merupakan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM).

2.8 Penentuan Kesetaraan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kelakai terhadap Antibakteri Pembanding

Penentuan kesetaraan aktivitas ekstrak etanol daun kelakai terhadap antibakteri pembanding dilakukan dengan metode difusi agar dengan menggunakan paperdisk. Antibakteri yang digunakan adalah Tetrasiklin. Dari hasil pengukuran diameter hambatan antibakteri, dibuat persamaan garis antara logaritma konsentrasi (x) dengan diameter hambatan (y). Persamaan yang didapat selanjutnya digunakan untuk melihat kesetaraan antara ekstrak uji dengan antibakteri pembanding. Hasil yang diharapkan adalah diperoleh nilai kesetaraan nilai aktivitas ekstrak uji dengan antibakteri pembanding.

3. Hasil dan Pembahasan

Pengolahan daun kelakai menjadi simplisia meliputi sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan, sortasi kering dan kemudian dibuat menjadi serbuk simplisia. Proses pengeringan dilakukan dengan menggunakan sinar matahari secara tidak langsung yang ditutup dengan menggunakan kain berwarna hitam, penggunaan kain berwarna hitam bertujuan agar simplisia tidak langsung terpapar oleh sinar matahari dan mencegah kerusakan kandungan zat aktif yang ada dalam tanaman. Pengeringan dilakukan untuk mengurangi kadar air dan mencegah tumbuhnya jamur atau bakteri sehingga simplisia yang diperoleh dapat disimpan lebih lama dan tidak mudah rusak serta komposisi kimianya tidak mengalami perubahan, bahan kering yang diperoleh kemudian di haluskan untuk di dapat serbuk simplisia daun kelakai. Setelah dilakukan pengolahan bahan hingga menjadi serbuk simplisia kering, 100 g serbuk simplisia diekstraksi dengan cara maserasi selama 3 kali 24 jam dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Ekstrak cair yang diperoleh kemudian diuapkan dengan menggunakan penguap vakum putar dan waterbath sehingga dihasilkan ekstrak kental dengan bobot tetap.

Selanjutnya dilakukan penapisan fitokimia yang bertujuan untuk pemeriksaan kandungan kimia secara kualitatif untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam suatu tumbuhan. Hasil positif terdeteksi pada golongan senyawa flavonoid, alkaloid, tannin, dan steroid. Hasil negatif terdeteksi pada golongan senyawa kuinon dan saponin. Daun kelakai mengandung senyawa flavonoid, alkaloid dan steroid merupakan senyawa yang mempunyai efek farmakologi sebagai antibakteri [11]. Flavonoid dengan kemampuannya membentuk kompleks dengan protein dan merusak membran sel dengan cara mendenaturasi ikatan protein pada membran sel, sehingga membran sel menjadi lisis dan senyawa tersebut menembus ke dalam inti sel menyebabkan bakteri tidak berkembang [2]. Sedangkan aktivitas antibakteri dari senyawa tanin adalah dengan cara mengerutkan dinding sel atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas sel itu sendiri. Akibat terganggunya permeabilitas, sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati.

Tabel 1. Hasil Penapisan Fitokimia Simplisia Daun Kelakai

No	Pemeriksaan	Hasil Pengamatan
1	Alkaloid	+
2	Flavonoid	+
3	Saponin	-
4	Tannin	+
5	Kuinon	-
6	Steroid/Triterpenoid	+

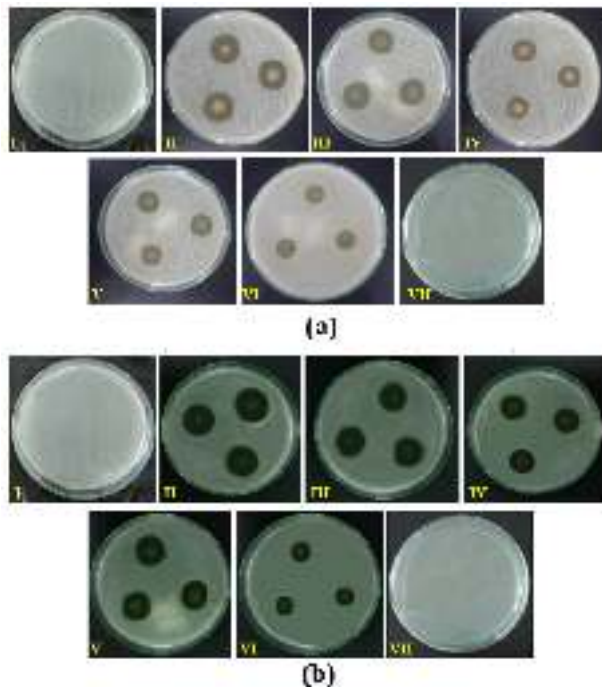
Aktivitas ekstrak etanol daun kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.F) Bedd) dalam menghambat pertumbuhan bakteri Gram negatif *Salmonella typhi* lebih peka bila dibandingkan dengan bakteri Gram positif *Staphylococcus aureus*. Hal ini disebabkan adanya perbedaan struktur dinding sel kedua jenis bakteri tersebut. Dinding sel bakteri Gram positif terdiri atas beberapa lapisan peptidoglikan yang membentuk struktur yang tebal dan kaku serta mengandung substansi dinding sel yang disebut asam teikoat, sedangkan dinding sel bakteri Gram negatif terdiri atas satu atau lebih lapisan peptidoglikan yang tipis dan membran di bagian luar lapisan peptidoglikan, sehingga dinding sel bakteri Gram negatif lebih rentan terhadap guncangan fisik, seperti pemberian antibiotik atau bahan antibakteri lainnya. Selain itu, perbedaan struktur dinding sel inilah yang menyebabkan kedua jenis bakteri tersebut memberikan respon terhadap pewarnaan Gram [13].

Penghambatan pertumbuhan bakteri disebabkan oleh senyawa kimia yang terkandung pada ekstrak etanol daun kelakai. Daun kelakai mengandung zat aktif berupa alkaloid, flavonoid, dan steroid. Hasil pengujian aktivitas antibakteri ditunjukkan dengan adanya zona

Tabel 2.

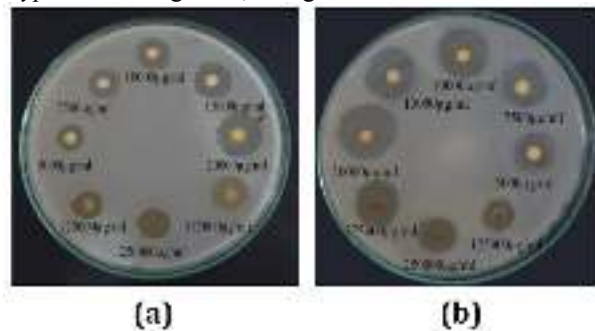
Bakteri Uji	Konsentrasi (µg/ml)	Diameter Hambat (mm) <i>S. aureus</i>			Rata-rata	Standar Deviasi (SD)
		Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3		
<i>S. aureus</i>	1000000	28,02	28,85	28,90	28,59	0,49
	500000	26,30	26,48	25,88	26,22	0,30
	375000	23,28	22,50	23,04	22,94	0,39
	250000	20,15	20,00	20,15	20,10	0,08
	125000	18,26	19,05	18,28	18,53	0,45
<i>S. typhi</i>	1000000	29,01	28,78	28,85	28,88	0,11
	500000	26,75	26,30	26,00	26,00	0,37
	375000	23,40	23,55	23,48	23,47	0,07
	250000	22,30	22,70	21,98	22,32	0,36
	125000	15,24	16,05	15,20	15,20	0,47

bening di sekitar cakram ekstrak uji. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.F) Bedd) memiliki aktivitas antibakteri yang lebih besar terhadap bakteri *Salmonella thypi* dibandingkan bakteri *Staphylococcus aureus*. Hal ini dapat dilihat dari diameter hambat *Staphylococcus aureus* sebesar 17,20 mm sedangkan pada *Salmonella thypi* sebesar 18,16 mm dengan konsentrasi 125.000 µg/mL.



Gambar 2. Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.F) Bedd) terhadap bakteri *S. aureus* (a) dan *S. typhi* (b); (I) Kontrol positif; Konsentrasi ekstrak etanol daun kelakai (II) 1000000 µg/ml; (III) 500000 µg/ml; (IV) 375000 µg/ml; (V) 250000 µg/ml; (VI) 125000 µg/ml; (VII) Kontrol negatif.

Penentuan nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dilakukan pada rentang konsentrasi 1-14% terhadap bakteri *S. aureus* dimana nilai KHM yang didapatkan sebesar 10,6% dan nilai KBM yang diperoleh sebesar 11% sedangkan pada bakteri *S. thypi* nilai KHM yang diperoleh sebesar 9% dan nilai KBM yang diperoleh sebesar 10,8%. Nilai kesetaraan ekstrak terhadap antibakteri pembanding menunjukkan bahwa 1 mg ekstrak etanol daun kelakai terhadap bakteri *S. aureus* setara dengan 28,21 mg tetrasiklin sedangkan *S. thypi* setara dengan 23,65 mg tetrasiklin.



Gambar 3. Kesetaraan antibiotik tetrasiklin dengan ekstrak etanol daun kelakai terhadap bakteri *S. aureus* (a); dan *S. typhi* (b)

4. Kesimpulan

Nilai KHM Ekstrak daun kelakai terhadap *S. aureus* pada konsentrasi 10,6% Sedangkan *S. thypi* pada konsentrasi 9%. Nilai KBM Ekstrak daun kelakai terhadap *S.aureus* pada konsentrasi 11% Sedangkan *S.thypi* pada konsentrasi 10,8%. Nilai kesetaraan 1 mg tetrasiklin terhadap aktivitas ekstrak etanol daun kelakai untuk *S.aureus* adalah sebesar 28,21 mg ekstrak dan untuk *S.thypi* adalah sebesar 23,65 mg ekstrak.

Daftar Pustaka

1. Kumala S, Siswanto EB. 2007. Isolation and Screening of Endophytic from *Morinda citrifolia* and Their Availability

- to Produce Antimicrobial Substance. *Microbial Indonesia*, 1(3) : 145-148.
- Miftahul K. 2012. Skrining Fitokimia Kandungan Golongan Senyawa yang terdapat pada Daun Kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.F) Bedd) sebagai Obat Tradisional. Tugas Akhir Ahli Madya Farmasi, Jurusan Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Palangkaraya. Palangkaraya.
 - Yosika Y, Moniktia. 2014. Etnobotani Tumbuhan Obat oleh Masyarakat Suku Dayak Seruyan Kabupaten Seruyan Provinsi Kalimantan Tengah. Tugas Akhir Sarjana Farmasi, Jurusan Farmasi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Malang.
 - Adenan dan Suhartono. 2010. *Stenochlaena palustris* Aqueous Extract Reduces Hepatic Peroxidative Stress in *Marmota caligata* with Induced Fever. *University Medicina* 29.
 - Herbarium Bandungense. 2015. *Stenochlaena palustris* (Burm.F) Bedd. Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati. Bandung.
 - Syarifah, N. 2011. Aktivitas Antibakteri Etanol dari Lima Tanaman terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dengan Metode Mikrodilusi M7-A6CLSI. Tugas Akhir Sarjana Farmasi, Jurusan Farmasi, FMIPA, Universitas Garut. Garut. Hlm. 20, 31-34.
 - Dirjen POM Depkes RI. 1989. *Materia Medika Indonesia*. Jilid V. Departemen Kesehatan RI. Jakarta. Hlm. 536-553.
 - Rostinawati, T. 2010. Aktivitas Antimikroba Ekstrak Herba Tespong (*Oenanthe javanica* D.C) terhadap *Escheria coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans*. Penelitian Mandiri, Jurusan Farmasi, Universitas Padjajaran. Jatinangor. Hlm. 1, 20, 23, 25.
 - Depkes RI. 2009. *Farmakope Herbal Indonesia*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, Hlm. 169-172.
 - Lestari, N. 2014. Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol Daun Ginseng Jawa (*Talinum triangulare* (Jacq.) Willd.) terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Candida albicans*. Tugas Akhir I, Jurusan Farmasi, FMIPA, Universitas Garut. Garut. Hlm. 1-3, 18-21, 13, 26.
 - Maharani, Haidah, dan Haiyina. 2005. *Studi Potensi Kalakai (Stenochlaenapalustris (Burm.F) Bedd) sebagai Pangan Fungsional*. Universitas Lambung Mangkurat. Banjarbaru.
 - Utami, P. 2012. *Antibiotik Alami untuk Mengatasi Aneka Penyakit*. Penerbit PT. Agro Media Pustaka, Jakarta, Hlm. 1, 7-8.
 - Depkes RI, 2000, "Parameter Standar Umum Pembuatan Ekstrak Tumbuhan Obat", Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, Hlm. 14-17.
 - CLSI M02-A11., 2012, "Update Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing Advance for Medical Laboratory Standards Institute", Vol. 32 No.2, Yonsei University, p. 12, 13, 18, 19, 521982.