

Aktivitas Antibakteri Fraksi Ekstrak Etanol Daun Trembesi (*Samanea saman* (Jacq.) Merr) terhadap *Staphylococcus aureus*

Ni Ketut Sinarsih^{1*}, Wiwik Susanah Rita², Ni Made Puspawati³

¹Universitas Hindu Negeri I Gusti Bagus Sugriwa, Denpasar, Indonesia

^{2,3} Universitas Udayana, Denpasar, Indonesia

*e-mail: nktsinarsih@gmail.com

Abstrak

Penelitian ini dilakukan untuk menentukan aktivitas antibakteri fraksi-fraksi dari partisi ekstrak etanol daun trembesi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*, yang meliputi ekstraksi daun trembesi dengan pelarut etanol, partisi menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat, dan n-butanol, penentuan daya hambat fraksi hasil partisi, serta penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dari fraksi yang menunjukkan aktivitas penghambatan terbaik untuk menghambat pertumbuhan *S. Aureus*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari 2000 g sampel diperoleh ekstrak kental sebanyak 160 g. Proses partisi menghasilkan empat fraksi yaitu fraksi n-heksan yang berwarna hijau tua, fraksi etil-asetat yang berwarna hijau kecoklatan, fraksi n-butanol yang berwarna coklat tua, dan fraksi air yang berwarna coklat pekat. Dari keempat fraksi, hanya fraksi n-butanol yang memberikan efek penghambatan terhadap *S. aureus* secara *in vitro* pada media *Mueller Hinton*, yaitu sebesar 19,3 mm pada konsentrasi 15%. Pada konsentrasi tersebut, aktivitas antibakteri fraksi n-butanol dapat dikategorikan kuat terhadap *S. aureus*. Pengujian KHM dilakukan pada tiga konsentrasi yaitu 0,5; 1; dan 1,5% dengan diameter hambat aktivitas antibakteri secara berturut-turut sebesar 0 mm; 7,3 mm; dan 9,2 mm.

Kata kunci: *Samanea saman*, antibakteri, partisi, *S. aureus*

1. Pendahuluan

Salah satu masalah kesehatan yang sangat umum diderita oleh masyarakat adalah infeksi. Infeksi adalah penyakit yang disebabkan oleh adanya mikroorganisme yang bersifat patogen yang menginvasi dan berproliferasi dalam jaringan tubuh (Kusuma, 2010). Salah satu jenis mikroorganisme yang dapat menyebabkan infeksi adalah bakteri spesies *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*). *S. aureus* dapat menimbulkan penyakit infeksi seperti bisul, jerawat, impetigo, dan infeksi berat seperti pneumonia, mastitis, plebitis, meningitis, infeksi saluran kemih, osteomielitis, dan endokarditis. *S. aureus* juga merupakan penyebab utama infeksi nosokomial, keracunan makanan, dan sindroma syok toksik (Jawetz *et al.*, 1995).

Kumala *et al.* (2007) melaporkan bahwa bakteri *S. aureus* resisten terhadap antibiotik *meticillin*. Peningkatan resistensi bakteri terhadap antibiotik memberikan peluang besar untuk memanfaatkan senyawa bioaktif dari kekayaan keanekaragaman hayati, salah satunya trembesi (*Samanea saman* (Jacq.) Merr). Potensi trembesi sebagai antibakteri sebelumnya telah dilakukan oleh Sinarsih, dkk (2016), dimana ekstrak etanol daun trembesi menunjukkan aktivitas antibakteri lebih baik dibandingkan ekstrak air terhadap *S. aureus* dan *E. coli*. Sementara itu beberapa penelitian melaporkan bahwa senyawa flavonoid mempunyai berbagai aktivitas, salah satunya sebagai antibakteri. Penelitian mengenai aktivitas flavonoid telah dilakukan oleh Parubak (2013), dimana flavonoid dalam daun akway (*Drimys beccariana*) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* dan *B. subtilis*. Berdasarkan fakta-fakta hasil penelitian tersebut maka perlu dilakukan penelitian pendahuluan mengenai aktivitas antibakteri fraksi hasil partisi ekstrak etanol daun trembesi terhadap bakteri *S. aureus* serta menentukan konsentrasi hambat minimum dari fraksi dengan aktivitas terbaik.

2. Metode

Penelitian ini menggunakan rancangan deskriptif eksploratif dan eksperimental. Penelitian deskriptif eksploratif yaitu ekstraksi dan isolasi. Penelitian eksperimental meliputi dua tahapan yaitu Tahap (i) uji aktivitas antibakteri untuk penentuan fraksi hasil partisi terbaik dan (ii) konsentrasi hambat minimum (KHM).

Bahan dan Peralatan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun trembesi segar yang telah dikeringanginkan dan dihancurkan menjadi serbuk, etanol, akuades, kloroform, NaOH, H₂SO₄, pereaksi Meyer, asam asetat anhidrat, nutrient agar, *amoxicillin*, kertas cakram, mikroorganisme (bakteri *S. aureus*). Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah cawan petri untuk pengujian antibakteri, pinset, labu *Erlenmeyer*, *micropipette*, gelas ukur, gelas kimia, *blender*, *rotary evaporator*, kain kasa, aluminium foil, kertas saring, kapas, neraca analitik, tabung reaksi, pipet tetes, labu volumetri, cawan petri, autoklaf, mistar.

Ekstraksi daun trembesi

Ekstraksi daun trembesi dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol. Daun trembesi yang telah dikeringanginkan sebanyak 2000 g digiling hingga membentuk serbuk. Serbuk masing-masing sebanyak 250 g dimasukkan ke dalam delapan toples untuk diekstraksi menggunakan etanol 96%. Ekstraksi dilakukan dengan merendam serbuk sampel dengan etanol, diaduk hingga homogen dan didiamkan 24 jam. Campuran disaring dan diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C sampai seluruh pelarut menguap dan diperoleh ekstrak kental.

Partisi

Partisi bertujuan untuk mengelompokkan metabolit yang terkandung dalam ekstrak kasar berdasarkan perbedaan polaritasnya. Sebelum melakukan partisi, ekstrak etanol kental dilarutkan dalam 100 mL campuran etanol-air (3:7), kemudian dievaporasi hingga semua etanol menguap dan diperoleh ekstrak dalam air. Selanjutnya dipartisi dengan n-heksana (5 x 50 mL). Ekstrak n-heksana dikumpulkan dan residu yang merupakan ekstrak air dipartisi kembali menggunakan etilasetat (5 x 50 mL) kemudian ekstrak etilasetat dikumpulkan. Terakhir ekstrak air dipartisi dengan n-butanol (5 x 50 mL). Ekstrak n-butanol dikumpulkan. Sehingga, pada tahap akhir diperoleh empat ekstrak, yaitu n-heksana, etilasetat, n-butanol, dan air. Keempat ekstrak dievaporasi sehingga diperoleh ekstrak kental. Masing-masing ekstrak selanjutnya diuji aktivitasnya sebagai antibakteri terhadap *S. aureus*.

Pengujian aktivitas antibakteri

Aktivitas antibakteri diuji dengan metode difusi agar menggunakan kertas cakram pada konsentrasi 15% dengan pengulangan sebanyak tiga kali. Kontrol negatif yang digunakan adalah pelarut dari ekstrak, sedangkan kontrol positif adalah *Amoxicillin*. Media menggunakan 20 mL media Nutrien Agar (NA) Mueller-Hinton yang dimasukkan ke dalam cawan petri steril kemudian ditutup dan didinginkan hingga memadat. Suspensi bakteri kemudian ditambahkan ke dalam nutrient agar dengan cara dioleskan pada permukaan media menggunakan kapas steril secara rapat dan didiamkan hingga agak mengering sekitar 5-8 menit sebelum ditempelkan cakram. Kertas cakram ditetesi ekstrak uji sebanyak 20 µL menggunakan mikropipet, dan untuk kontrol negatif ditetesi pelarut 20 µL, kemudian didiamkan ±120 menit. Kertas cakram diletakkan diatas media bakteri dengan pinset dan inkubasi pada suhu 35-37°C selama 24 jam. Diameter hambat dari masing-masing ekstrak diukur setelah periode inkubasi menggunakan mistar. Senyawa yang paling aktif dalam menghambat pertumbuhan bakteri selanjutnya ditentukan konsentrasi hambat minimumnya.

Penentuan konsentrasi hambat minimum

Setelah diketahui fraksi yang paling aktif dalam menghambat bakteri maka ditentukan konsentrasi hambat minimum (KHM). KHM ditentukan untuk ekstrak yang aktif sebagai antibakteri dengan memvariasikan konsentrasinya, yaitu 0,5%; 1,0%; dan 1,5% (b/v). Prosedur penentuan KHM sama dengan pengujian aktivitas antibakteri sebelumnya namun hanya dilakukan variasi konsentrasi.

3. Hasil dan Pembahasan

Ekstraksi dilakukan menggunakan 2000 g daun trembesi dengan metode maserasi diperoleh ekstrak kental sebanyak 160 g. Ekstrak etanol dimurnikan lebih lanjut melalui proses partisi, dimana partisi merupakan metode ekstraksi fase cair-cair dengan penambahan pelarut pengeksrak yang tidak saling melarutkan. Pada tahapan partisi diperoleh empat fraksi yaitu fraksi n-heksan yang berwarna hijau tua, fraksi etil-asetat yang berwarna hijau kecoklatan, fraksi n-butanol yang berwarna coklat tua, dan fraksi air yang berwarna coklat gelap.

Pengujian aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* dari masing-masing fraksi hasil partisi dilakukan pada konsentrasi 15% menggunakan media agar MH (*Mueller Hinton*). Sensitifitas bakteri terhadap sampel uji metode difusi agar dengan kertas cakram ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening di sekitar kertas cakram yang menandakan daerah penghambatan pertumbuhan bakteri ([Sinarsih dkk, 2016](#)). Pemilihan *amoxicillin* sebagai kontrol positif terhadap *S. aureus* karena *amoxicillin* merupakan antibiotik turunan penisilin yang mempunyai spektrum kerja luas, dan mekanisme kerjanya menghambat sintesis dinding sel bakteri, khususnya untuk bakteri Gram positif ([Fatimah dkk, 2015](#)). Pengukuran zona bening pada hasil pengujian aktivitas antibakteri dari fraksi hasil partisi ekstrak etanol daun trembesi terhadap bakteri *S. aureus* memberikan hasil yang seperti terlihat pada Tabel 1.

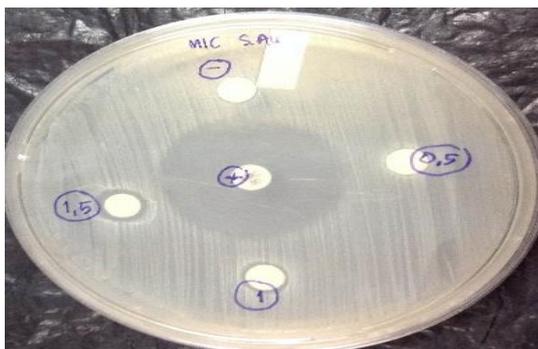
Tabel 1. Diameter Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri *S. aureus* dari Fraksi N-Heksan, Etil Asetat, N-Butanol, dan Air Ekstrak Etanol Daun Trembesi pada Konsentrasi 15%

Bakteri	Fraksi (15%)	Pengukuran Zona Hambat (mm)			Kesimpulan
		I	II	III	
<i>S. aureus</i>	n-heksan	0	0	0	-
	etil asetat	0	0	0	-
	n-butanol	19,5	19,5	18,5	+
	air	0	0	0	-
	kontrol positif	31,5	31	31,5	+
	kontrol negatif	0	0	0	-

Kontrol negatif tidak menunjukkan adanya zona hambat pertumbuhan bakteri, yang berarti bahwa pelarut yang digunakan untuk partisi ekstrak dan pengencerannya tidak berpengaruh terhadap aktivitas antibakteri. Fraksi n-butanol menunjukkan aktivitas antibakteri dengan adanya zona hambat pertumbuhan bakteri rata-rata sebesar 19 mm namun fraksi lainnya tidak menunjukkan adanya zona hambat. Kriteria daya hambat pertumbuhan bakteri menurut [Ardiansyah \(2005\)](#) yaitu apabila ekstrak atau bahan uji memberikan diameter zona bening < 5 mm maka dikategorikan lemah, 5 - 10 mm dikategorikan sedang, >10 - 20 mm dikategorikan kuat, >20 mm dikategorikan sangat kuat. Berdasarkan kategori tersebut, maka fraksi n-butanol ekstrak etanol daun trembesi pada konsentrasi 15% dapat dikategorikan memiliki daya hambat kuat terhadap *S. aureus*.

Suatu senyawa antibakteri dikatakan aktif apabila mampu memberikan daya hambat terhadap pertumbuhan suatu bakteri, dimana daya hambat suatu zat dikatakan efektif apabila besarnya daerah hambat (zona bening) sebanding dengan standar pengujian antibakteri (antibiotik). Apabila dibandingkan zona hambat yang dihasilkan antara fraksi n-butanol terhadap kontrol positif maka kontrol positif memberikan aktivitas antibakteri yang lebih besar. Oleh karena itu, efektivitas fraksi n-butanol dapat dikatakan lebih kecil dibandingkan dengan antibiotik sebagai kontrol positif. Bila dibandingkan dengan fraksi lainnya, hanya fraksi n-butanol yang menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus*. Hasil tersebut kemungkinan disebabkan karena senyawa yang bersifat sebagai antibakteri sebagian besar terlarut dalam fraksi n-butanol, salah satunya golongan isoflavon ([Suteja dkk., 2016](#)). Pada penelitian yang dilakukan [Suteja, dkk \(2016\)](#), dari empat fraksi ekstrak etanol daun trembesi, hanya fraksi n-butanol yang menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* dengan diameter hambat 6,3 mm pada konsentrasi 10%.

Aktivitas antibakteri yang lebih besar pada *S. aureus* kemungkinan disebabkan karena perbedaan kompleksitas dinding sel bakteri. *S. aureus* sebagai bakteri Gram positif tersusun oleh struktur lapisan peptidoglikan yang lebih sederhana dibandingkan *E. coli* sebagai bakteri Gram negatif ([Dewi, 2013](#)). Hal ini menyebabkan senyawa-senyawa yang ada dalam fraksi n-butanol lebih mudah masuk ke dalam sel untuk merusak dinding sel bakteri sehingga fungsi dinding sel sebagai pemberi bentuk sel serta pelindung sel dari lisis terganggu yang mengakibatkan kematian bakteri ([Dewi, 2013](#)). Penentuan konsentrasi hambat minimum (KHM) fraksi n-butanol terhadap *S. aureus* dilakukan dengan uji pada berbagai konsentrasi yaitu 0,5%, 1%, dan 1,5%. Hasil uji antibakteri untuk menentukan KHM disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Daya Hambat Fraksi N-Butanol Pada Berbagai Konsentrasi Pada *S. aureus*

Besarnya diameter zona hambat KHM dari fraksi n-butanol terhadap *S. aureus* ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Diameter Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri Pada Uji KHM *S. aureus* dari Berbagai Konsentrasi Fraksi N-Butanol

Bakteri	Konsentrasi N-butanol	Pengukuran Zona Hambat (mm)			Kesimpulan
		I	II	III	
<i>S. aureus</i>	0,5	0	0	0	-
	1	7	8	7	+
	1,5	9	9	9,5	+
	kontrol negatif	0	0	0	-
	kontrol positif	33	31	32	+

Hasil pengujian menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi fraksi n-butanol ekstrak etanol daun trembesi maka diameter zona hambat semakin besar. Hasil tersebut sesuai dengan pernyataan Rhoades dan Roller (2000) serta Pelczar dan Chan (1988), bahwa pada umumnya besar daya hambat (diameter zona hambat) cenderung meningkat sebanding dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak. Pada konsentrasi 0,5%, fraksi n-butanol tidak menunjukkan adanya efek penghambatan yang ditandai dengan tidak adanya zona bening. Oleh karena itu maka dapat dikatakan bahwa KHM fraksi n-butanol dari ekstrak etanol daun trembesi pada penelitian ini sebesar 1%.

4. Simpulan dan Saran

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa fraksi hasil partisi ekstrak etanol daun trembesi pada konsentrasi 15% yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* adalah fraksi dari n-butanol. Nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) dari fraksi yang aktif sebagai antibakteri yaitu n-butanol sebesar 1%. Penggunaan daun trembesi sebagai antibakteri akan dapat lebih dikembangkan apabila dilakukan penelitian lebih lanjut untuk uji farmakologis aktivitas antibakteri pada hewan coba secara in-vivo, serta uji toksisitas.

Daftar Pustaka

- Ardiansyah. 2005. Daun Beluntas sebagai Bahan Antibakteri dan Antioksidan. Tersedia pada http://www.berita iptek.com/cetak_beritahp?kat=berita &id=33. diakses pada tanggal 18 Juli 2015.
- Dewi, A.K. 2013. Isolasi, Identifikasi dan Uji Sensitivitas *Staphylococcus aureus* terhadap *Amoxicillin* dari Sampel Susu Kambing Peranakan Ettawa (PE) Penderita Mastitis di Wilayah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta. *Jurnal Sain Veteran*. 31(2): 130-138
- Jawetz, E., Melnick, J.L., Adelberg, E.A. 1995. Mikrobiologi Kedokteran. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Fatimah, I., Kisrini, Wibawa, D.A.A. 2015. Uji Kepekaan Bakteri *Klebsiella* sp. Hasil Isolasi Ulkus Diabetes Pasien Rawat Inap Di RSUD Dr. Moewardi terhadap Antibiotik Meropenem, Gentamisin, Seftriakson, dan Siprofloksasin pada Bulan Februari-Maret Tahun 2014. *Jurnal Farmasi Indonesia*.12(1): 33-40

- Kumala, S., E. Agustina, dan P. Wahyudi. 2007. Uji Aktivitas Antimikroba Metabolit Sekunder Kapang Endofit Tanaman Trengguli. *Jurnal Bahan alam Indonesia*. 6(2): 46-48.
- Parubak, A. S. 2013. Senyawa Flavonoid Yang Bersifat Antibakteri dari Akway (*Drimys beccariana* Gibbs), *Chem. Prog.* 6 (1): 34-37. 141-148
- Pelczar, M.J., dan Chan, E.C.S. 2010. Dasar-Dasar Mikrobiologi. Jakarta: UI-Press
- Rhoades, J., Roller, S. 2000. Antimicrobial Actions of Degraded and Native Chitosan against Spoilage Organisms in Laboratory Media and Foods. *Applied And Environmental Microbiology*. 66(1): 80-86
- Sinarsih, N.K., Rita, W.S., Puspawati, N.M., 2016. Uji Efektivitas Ekstrak daun Trembesi (*Samanea saman* (Jacq.)) sebagai Antibakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, *Cakra Kimia*. 4(2): 129-136
- Suteja, IKP., Rita, WS., Gunawan. IWG. 2016. Identifikasi dan Uji Aktivitas Senyawa Flavonoid Dari Ekstrak Daun Trembesi. *Jurnal Kimia*. 10(1).