

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Tapak Dara (*Catharantus roseus* (L.) G. Don.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*

Antibacterial Activities of Tapak Dara (*Catharantus roseus* (L.) G. Don.) Leaf Extracts Against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* Bacteria

Selvia Indri Pratiwi Dwijayanti, Guruh Sri Pamungkas
Program D-III Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Setia Budi

ABSTRAK

Tingkat mobilitas masyarakat yang semakin tinggi, dapat memicu peningkatan potensi kecelakaan sehingga berakibat terjadinya luka. Luka tersebut jika tidak dirawat dengan benar maka akan sangat rentan mengalami infeksi kulit. Infeksi kulit umumnya disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Seiring dengan perkembangan teknologi, tanaman Tapak Dara (*Catharantus roseus* (L.) G. Don.) sekarang ini mulai diminati sebagai alternatif antibakteri. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak daun Tapak Dara (*Catharantus roseus* (L.) G. Don.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* dan mengetahui konsentrasi yang mempunyai daya hambat terbesar

Daun Tapak Dara diperoleh dari Desa Ngumpen, Karangpandan, Jawa Tengah. Daun yang digunakan adalah daun berwarna hijau dan masih segar, tidak terkena hama serta saat tanaman mulai berbunga. Sebanyak 200g serbuk daun Tapak Dara diekstraksi dengan metode perkolasi dengan pelarut etanol 70%. Perkolat kemudian ditambahkan Aquadest steril dan dibuat seri konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%. Selanjutnya dilakukan uji aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* secara difusi. Data diameter daya hambat dianalisis uji Anova 2 arah (Two Way Anova) dan diuji lanjut dengan uji SNK (Student- Newman- Keulis).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun Tapak Dara mempunyai aktivitas antibakteri yang sama terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* maupun *Pseudomonas aeruginosa*. Ekstrak daun Tapak Dara (*Catharantus roseus* (L.) G. Don.) pada konsentrasi 100% mempunyai aktivitas antibakteri paling baik terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* dengan diameter zona hambat sebesar 26,67 mm dan 25,67mm.

Kata kunci: aktivitas antibakteri, daun tapak Dara, zona hambat, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*

ABSTRACT

More improved mobility can lead to an increase in accident rates which cause people to be more posed to wounds. Wounds which do not receive proper treatments will be more prone to skin infections. Skin infections are generally caused by *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* bacteria. Today, due to technology advancements, *Catharantus roseus* (L.) G. Don. as alternative antibacterial plants are getting more popular among people. This study aims at finding out the antibacterial activities of *Catharantus roseus* (L.) G. Don. leaf extracts against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* bacteria, and investigating concentration with the highest inhibition zones.

Catharantus roseus (L.) G. Don. leaves were obtained from Ngumpen Village, Karangpandan, Central Java. The leaves used in this research were the green-colored and fresh ones, which were free from pests and picked when flowers were blooming. A total of 200g *Catharantus roseus* (L.) G. Don. leaf powder was extracted using percolation method with ethanol 70% solution. Percolators were later added with sterilized aquadest and a series of concentrations of 25%, 50%, and 75% were prepared. Antibacterial activity tests against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* were then carried out using diffusion method. Data on inhibition zone diameters were analyzed with two-way Anova test and further tested with Student-Newman-Keulist (SNK) test.

The findings indicate that *Catharantus roseus* (L.) G. Don. leaf extracts have the same antibacterial activities against both *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. Tapak dara leaf extracts at 75% concentration have the best antibacterial activities against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* with inhibition zone diameters of 20.00 mm and 17.33 mm.

Keywords: antibacterial activity, tapak dara (*Catharantus roseus* (L.) G. Don) leaves, inhibition zone, *Staphylococcus aureus*, and *Pseudomonas aeruginosa*.

PENDAHULUAN

Tingkat mobilitas masyarakat yang semakin tinggi, dapat memicu peningkatan potensi kecelakaan sehingga berakibat terjadinya luka hal ini berdasarkan data WHO tahun 2011 menyebutkan bahwa ada 67% korban kecelakaan lalu lintas. Luka tersebut jika tidak dirawat dengan benar maka akan sangat rentan mengalami infeksi kulit. Penyakit infeksi kulit pada umumnya disebabkan oleh bakteri dengan cara mengontaminasi kulit. Beberapa bakteri yang dapat menyebabkan infeksi kulit pada hewan dan manusia di antaranya bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Diperkirakan 75% kematian yang diakibatkan oleh luka disebabkan karena infeksi, baik sistemik maupun lokal (Bowler *et al.*, 2001).

Seiring dengan perkembangan teknologi saat ini, telah banyak diproduksi obat-obatan modern yang dibuat dari bahan kimia. Obat-obat kimia ini jika tidak digunakan secara tepat dan rasional dapat menyebabkan adanya efek samping yang merugikan bagi kesehatan bahkan dapat terjadi resistensi, sehingga diperlukan alternatif menggunakan tanaman obat yang lebih aman dan memiliki efek samping lebih ringan. Tumbuhan obat merupakan aset nasional yang perlu digali, diteliti, dikembangkan dan dioptimalkan pemanfaatannya. Namun dari beberapa faktor, banyak orang yang belum mengetahui manfaat dan efek samping dari tanaman obat tersebut sehingga perlu dilakukan penelitian dan uji klinis (Rahmi, 2015)

Salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai obat tradisional adalah Tapak Dara (*Catharantus roseus* (L.) G. Don.). Tapak Dara memiliki senyawa aktif alkaloid seperti alkaloid reserpin, vindolin, katarantin, leurosin, adenosin, dan tetrahidroalstonina yang berada pada seluruh bagian tanaman (Latief, 2009). Tapak Dara juga mengandung akuamina, β - Sitosterol dan kaemferol pada bagian seluruh tanaman serta saponin, flavonoid dan tanin pada bagian daun (Gunanawan dalam Saln, 2013).

Berdasarkan kandungan tersebut maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pada tanaman Tapak Dara terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Tapak Dara (*Catharantus roseus* (L.) G. Don.)

Morfologi tanaman

Tapak Dara merupakan semak tegak, hidup menahun dengan akar tunggang, tinggi 0,2 m – 0,8 m dan batang bergetah. Daun bertangkai pendek, berbentuk bulat telur dengan ujung tumpul. Bunga tunggal atau majemuk berkarang, mahkota bunga berbentuk terompet, ujung melebar, berbulu, tepi mahkota bunga rata, taju bulat telur terbalik, dan bunga berwarna merah muda atau putih. Buah berbentuk silindris tipis, berbulu dan berbiji banyak (Santosa *et al.*, 2004)

Kandungan kimia tanaman Tapak Dara

Alkaloid

Alkaloid merupakan golongan senyawa yang bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen dalam bentuk gabungan sebagai bagian dari sistem siklik. Alkaloid biasanya tidak berwarna dan berbentuk kristal (Fitriana, 2008).

Saponin

Saponin adalah senyawa aktif permukaan dan bersifat seperti sabun. Berdasarkan kemampuannya membentuk busa bila dikocok dalam air dan pada konsentrasi rendah sering menyebabkan hemolisis pada sel darah merah. Mekanisme sebagai antibakteri dengan menurunkan tegangan permukaan sel sehingga menyebabkan kerusakan sel (Perwita, 2011).

Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan dalam semua tumbuhan berpembuluh, zat warna dalam bunga-bunga, batang maupun

daun-daunan. Flavonoid berperan sebagai antioksidan dengan cara mendonasikan atom hidrogennya dan berada dalam bentuk glukosida atau dalam bentuk bebas yang disebut aglikon (Harborne, 2006).

Tanin

Tanin merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang termasuk dalam golongan polifenol. Tanin mempunyai target pada polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna. Hal ini menyebabkan sel bakteri menjadi lisis karena tekanan osmotik maupun fisik sehingga sel bakteri akan mati (Sari, 2011).

B. Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses melarutkan dan menarik senyawa dengan menggunakan pelarut yang tepat. Prinsip utama ekstraksi adalah yang berkaitan dengan kelarutan, yaitu senyawa polar lebih mudah larut dalam pelarut polar dan senyawa nonpolar akan mudah larut dalam pelarut nonpolar (Emilan, 2011).

Metode ekstraksi Perkolasi

Metode perkolasi adalah cara ekstraksi yang dilakukan dengan mengalirkan cairan penyari melalui simplisia yang telah dibasahi. Perkolasi dibuat dengan menempatkan serbuk simplisia dalam suatu bejana silinder yang bagian bawahnya diberi sekat berpori. Kekuatan yang berperan pada perkolasi yaitu gaya berat, daya larut, kekentalan, tegangan permukaan, osmosis, difusi, adhesi, daya kapiler, dan daya geseran (Depkes, 1986).

Pelarut

Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 70% karena pelarut tersebut bersifat semi polar yang artinya dapat melarutkan senyawa polar dan nonpolar. Pada umumnya zat aktif yang terkandung dalam suatu tanaman bersifat polar sehingga pelarut etanol tersebut diha-

rapkan mampu mengambil sebagian metabolit sekunder di dalam simplisia dari daun Tapak Dara (Rahmi, 2015).

C. *Staphylococcus aureus*

Klasifikasi *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut :

Kingdom: Bacteria

Phylum: Firmicutes

Kelas: Bacilli

Ordo: Bacillales

Family: Staphylococcaceae

Genus: Staphylococcus

Spesies: *Staphylococcus aureus*

(Todar dalam Sulistiyarningsih, 2010)

Staphylococcus aureus merupakan bakteri berbentuk bulat. Berdiameter 0,8 – 1 µm, susunan berkelompok, tidak beraturan, tidak bergerak, dan tidak berspora. Pada pewarnaan Gram bersifat Gram positif dengan koloni berbentuk menyerupai buahanggur. *Staphylococcus aureus* mempunyai kemampuan koagulase positif terhadap plasma dan mampu menimbulkan hemolisis terhadap sel darah merah.

D. *Pseudomonas aeruginosa*

Klasifikasi *Pseudomonas aeruginosa* adalah sebagai berikut :

Kingdom: Prokaryota

Division: Prothophyt

Subdivisi: Schizomycetae

class: Schizomycetes

Ordo: Pseudomonadales

Family: Pseudomonadaceae

Genus: Pseudomonas

Spesies: *Pseudomonas aeruginosa*

(Radji, 2010)

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri gram negatif berbentuk basil berukuran 0,5 – 1 µm x 3 – 4 µm dan 2 – 3 flagel tunggal bersifat polar. *Pseudomonas aeruginosa* dapat menghasilkan pigmen piosianin yang berwarna biru kehijauan dan pigmen fluorescine yang berwarna kehijauan (Suryono, 1995).

E. Antibakteri

Antibakteri adalah senyawa yang digunakan untuk mengendalikan pertumbuhan bakteri yang bersifat merugikan. Mekanisme penghambatan terhadap bakteri oleh senyawa antibakteri dapat berupa perusakan dinding sel, merubah permeabilitas sel, merubah molekul protein dan asam nukleat.

F. Pengujian Aktivitas Antibakteri

Uji ini digunakan untuk mengukur respon pertumbuhan populasi bakteri terhadap zat antimikroba yang diujikan dan untuk memperoleh sistem pengobatan yang efektif dan efisien.

Uji kepekaan antibakteri dapat dilakukan dengan 2 cara, yaitu melalui metode turbidimetri (dilusi) dan metode difusi. Metode dilusi dilakukan dengan mengukur KHM (Konsentrasi Hambat Minimal) atau KBM (Konsentrasi Bunuh Minimal) (Pradani, 2012).

G. Hipotesis

1. Ada Pengaruh Ekstrak daun Tapak Dara (*Catharanthus roseus* (L.) G. Don.) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*.
2. Semakin besar konsentrasi ekstrak daun Tapak Dara maka semakin besar pada zona hambatan terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

METODE PENELITIAN

Bahan Sampel

Bahan yang digunakan untuk pembuatan sampel adalah daun Tapak Dara (*Catharanthus roseus* (L.) G. Don). Daun ini diperoleh dari beberapa tempat di Desa Ngumpen, Karangpan- dan, Jawa Tengah.

Teknik sampling yang dilakukan dalam penelitian ini adalah *non random quota sampling*. Kriteria daun yang digunakan adalah daun berwarna hijau dan masih segar, tidak terkena hama serta saat tanaman mulai berbunga (Gunawan dan Mulyani, 2004).

Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2015 - Februari 2016.

Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Fitokimia Universitas Setia Budi, Surakarta

Bahan dan Alat Penelitian

Bahan penelitian

Sampel yang digunakan untuk penelitian ini adalah ekstrak perkolasi daun Tapak Dara. Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi, Surakarta. Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah media *Vogel Johnson Agar* (VJA), media *Brain Heart Infusion* (BHI), media *Mueller Hinton Agar* (MHA), media *Pseudomonas Selectif Agar* (PSA), dan uji biokimia medium yang digunakan adalah KIA, LIA, SIM dan Citrat. Bahan kimia yang digunakan untuk penelitian ini adalah Spirtus, Cat Gram A, cat Gram B, cat Gram C, dan cat Gram D, Minyak imersi, Etanol 70%, Alkohol 70%, Larutan H₂O₂ 3%, Standard Mc Farland 0,5, Aquadest, NaCl 0,9% steril, Aquabidest P.I, Amoxicilin syrup kering

Alat penelitian

Alat yang digunakan untuk penelitian ini yaitu: nampan, mesin penggiling, ayakan, alat perkolator, *becker glass*, evaporator, *oven*, neraca analitik, cawan petri steril, kapas lidi steril, pipet ukur steril, *clinipette*, *yellow tip*, api spiritus, inkas, tabung reaksi steril, jarum ose dan ent, *object glass*, pembakar spiritus, korek api, rak pengecatan, mikroskop, inkubator, *autoclave*, kompor, botol sampel steril, *boorproof*, mistar, Alat Pelindung Diri (APD) lengkap.

Metode Penelitian

Metode pengujian aktivitas antibakteri yang

digunakan dalam penelitian ini adalah metode difusi teknik sumuran. Pembuatan ekstrak daun Tapak Dara dilakukan dengan cara perkolasi.

Prosedur Penelitian

a. Pembuatan ekstrak Perkolasi Daun Tapak Dara.

Ditimbang masing-masing 200 gram serbuk daun Tapak Dara. Masing-masing serbuk dimasukkan dalam *beacker glass* dan dibasahi dengan etanol 70%, ditutup plastik dan dibiarkan selama 24 jam kemudian dimasukkan kedalam suatu bejana silindris yang diberi sekat berpori. Etanol 70% dialirkan dari atas ke bawah melalui serbuk tersebut secara terus menerus dengan kecepatan 1ml per menit dan diatur sedemikian rupa sehingga cairan yang keluar seimbang dengan cairan yang ditambahkan dari atas perkolator. Perkolasi dihentikan jika cairan yang keluar tidak berwarna dan jika diuapkan tidak meninggalkan sisa. Etanol 70% akan melarutkan zat aktif sel-sel yang dilalui hingga mencapai keadaan jernih (Fatimah, 2006).

b. Pembuatan prosentase konsentrasi ekstrak Daun Tapak Dara.

Preparasi perkolat daun Tapak Dara dibuat dalam beberapa seri konsentrasi (25%, 50%, dan 75%), Tabel 1.

c. Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* 1) Identifikasi *Staphylococcus aureus* pada media *Vogel Johnson Agar* (VJA)

Pertama, suspensi *Staphylococcus aureus* dari media Brain Heart Infusion (BHI) diinokulasi secara goresan pada media *Vogel Johnson Agar* (VJA) yang sebelumnya ditambah dengan kalium tellurit 1%, kemudian diinkubasi suhu 37°C selama 24 jam. Koloni *Staphylococcus aureus* ditandai dengan warna hitam, cembung

dan mengkilap dengan media di sekitar koloni berwarna kuning.

2) Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus* dengan Uji Katalase dan Koagulase

Uji katalase dapat dibuat dengan cara mencampurkan 1 tetes H₂O₂ 3% dengan 1 ohse biakan *Staphylococcus aureus* diatas *object glass*. Hasil positif akan terbentuk gelembung gas.

Uji koagulase dapat dilakukan dengan cara meneteskan 1 tetes NaCl 0,9% diatas *object glass* lalu ditambahkan 1 ohse biakan *Staphylococcus aureus* kemudian dihomogenkan. Plasma ditambahkan sebanyak 1 tetes dan dihomogenkan kembali. Reaksi positif akan terlihat aglutinasi berupa presipitat granuler (Bruckler dalam Dewi, 2013)

d. Identifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

1) Identifikasi Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada media *Pseudomonas Selektif Agar* (PSA)

Suspensi *Pseudomonas aeruginosa* diinokulasi secara goresan pada medium *Pseudomonas Selektif Agar* (PSA) kemudian diinkubasi suhu 37°C selama 24 jam. Koloni yang dihasilkan berwarna hijau dan berfluoresensi.

2) Inokulasi Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan Uji Biokimia

Koloni *Pseudomonas aeruginosa* dari *Pseudomonas Selektif Agar* diinokulasi dengan cara tusuk gores pada media KIA dan LIA, ditusuk pada media SIM dan digores pada media Citrat, kemudian diinkubasi suhu 37°C selama 24 jam.

e. Pengecatan Gram

Kultur bakteri dari media *Brain Heart Infusion* (BHI) diambil sebanyak 1-2 ohse bulat steril dan ditempatkan di atas *object glass* steril. Suspensi diratakan dengan membentuk area pre-

Tabel 1. Konsentrasi Ekstrak Daun Tapak Dara

| Konsentrasi ekstrak daun Tapak Dara | Ekstrak daun Tapak Dara (gram) | Aquadest steril (ml) |
|-------------------------------------|--------------------------------|----------------------|
| 25% | 1,25 | 3,75 |
| 50% | 2,50 | 2,50 |
| 75% | 3,75 | 1,25 |

parat. Preparat dikeringkan pada suhu ruang dalam beberapa menit. Preparat dilewatkan di atas spirtus untuk difiksasi. Selanjutnya preparat digenangi cat Gram A selama 3 menit dilanjutkan cat Gram B selama 2 menit lalu dicuci dengan air mengalir. Preparat dicuci dengan Gram C hingga warna luntur. Preparat digenangi cat Gram D selama 1 menit, lalu dicuci dengan air mengalir. Preparat dikeringkan dan diamati dengan mikroskop perbesaran 100x.

f. Pengujian antibakteri

- 1) Kapas lidi steril dicelupkan kedalam suspensi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang sudah distandarisasi kekekeruhannya dan tunggu sebentar supaya cairan dapat meresap di dalam kapas. Kemudian lidi dapat diangkat dan diperas dengan menekan pada dinding tabung bagian dalam sambil diputar – putar.
- 2) Kapas lidi steril diratakan pada permukaan *Mueller Hinton Agar* sampai merata dan diamkan 5 menit.
- 3) Pada media *Mueller Hinton Agar* dibuat enam lubang sumuran dengan menggunakan *boorprof*. Satu sumuran untuk kontrol positif, satu sumuran lagi untuk kontrol negatif dan keempat sumuran diisi dengan ekstrak Tapak Dara.

- 4) Pengisian sumuran ekstrak daun Tapak Dara sebanyak 50 µl. Keempat sumuran diisi dengan ekstrak perkolasi daun Tapak Dara yang sudah diencerkan dengan aquabidest dalam berbagai konsentrasi. Media yang telah diisi dengan sampel ekstrak daun Tapak Dara tersebut, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, zona hambat yang terbentuk diukur dengan menggunakan mistar berskala dengan satuan milimeter (mm).

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

1. Hasil Identifikasi Organoleptis Daun Tapak Dara

Identifikasi organoleptis serbuk daun Tapak Dara yang dilakukan di Laboratorium Fitokimia Universitas Setia Budi diamati secara visual (Tabel 2).

2. Hasil Identifikasi Kandungan Kimia Daun Tapak Dara

Identifikasi terhadap kandungan kimia perkolat etanol 70% daun Tapak Dara meliputi identifikasi terhadap alkaloid, saponin, flavonoid dan tanin (Kabesh, 2015) (Tabel 3).





3. Hasil Inokulasi *Staphylococcus aureus* pada Media *Vogel Johnson Agar* (VJA)

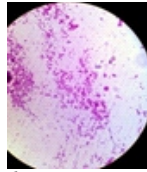
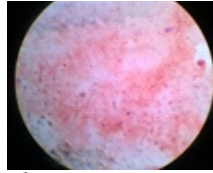
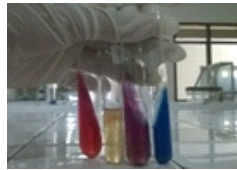
Hasil identifikasi *Staphylococcus aureus*

Tabel 4. Hasil Pemeriksaan Organoleptis

| No. | Identifikasi Spesifik | Hasil Penelitian | |
|-----|-----------------------|------------------|--|
| | | Tapak Dara | |
| 1 | Bentuk | Serbuk | |
| 2 | Warna | Hijau Tua | |
| 3 | Bau | Langu | |
| 4 | Rasa | Pahit | |

Tabel 5. Hasil Identifikasi Kandungan Kimia Perkolat etanol 70% Daun Tapak Dara

| Kandungan kimia | Test | Hasil | Pustaka | Ket |
|-----------------|--|--|---|-----|
| Alkaloid | 5 ml filtrat + 5 ml kloroform + 3 tetes amoniak, dipanaskan + 5 tetes H ₂ SO ₄ 2 N + 3 tetes larutan meyer | Terbentuk endapan putih |  Terbentuk endapan putih | + |
| Saponin | 5 ml filtrat + air panas. Dinginkan lalu kocok kuat selama 10 detik. Diamkan. | Terbentuk buih yang stabil setelah ditambah 1 tetes HCl 2N |  Terbentuk buih stabil setelah ditambah 1 tetes HCl 2N | + |
| Flavonoid | 5 ml filtrat + etanol, dikocok, dipanaskan + Mg 0,2 g + 3 tetes HCl | Warna merah pada lapisan etanol |  Warna merah pada lapisan etanol | + |
| Tanin | 5 ml filtrat + 20 ml air. Disaring + 5 tetes FeCl ₃ | Warna hijau kehitaman |  Warna hijau kehitaman | + |

Gambar 1. Identifikasi *Staphylococcus aureus* dengan Pengecatan GramGambar 2. Identifikasi *Pseudomonas aeruginosa* dengan Pengecatan GramGambar 3. Identifikasi *Pseudomonas aeruginosa* dengan Uji Biokimia

yang diinokulasikan pada media *Vogel Johnson Agar* (VJA) dengan penambahan Kallium Telurit 1% kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam dihasilkan koloni berwarna hitam, cembung dan mengkilap dengan daerah sekitar koloni berwarna kuning.

4. Hasil Identifikasi *Staphylococcus aureus* dengan Pengecatan Gram

Morfologi bakteri yang ditemukan pada preparat pengecatan Gram (Gambar 1) adalah:

| | |
|----------------|----------------|
| Bentuk | : coccus |
| Susunan | : bergerombol |
| Warna sel | : ungu |
| Latar Belakang | : merah muda |
| Cat | : Gram |
| Sifat Cat | : Gram positif |

5. Hasil Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus* dengan Uji Koagulase dan Uji Katalase

a. Uji Katalase

Hasil uji katalase dengan menggunakan larutan H₂O₂ 3% adalah positif terbentuk gelembung gas. Hasil ini membuktikan genus dari *Staphylococcus*.

b. Uji Koagulase

Hasil uji koagulase dengan penambahan plasma adalah positif terbentuk aglutinasi. Hasil ini

menunjukkan adanya enzim koagulase bakteri *Staphylococcus aureus*.

6. Hasil Inokulasi *Pseudomonas aeruginosa* pada Media *Pseudomonas Selektif Agar* (PSA)

Hasil identifikasi *Pseudomonas aeruginosa* yang diinokulasikan pada media *Pseudomonas Selektif Agar* (PSA) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dihasilkan koloni berwarna kehijauan dan berfluoresensi.

7. Hasil Identifikasi *Pseudomonas aeruginosa* dengan Pengecatan Gram

Morfologi bakteri yang ditemukan pada preparat pengecatan Gram (Gambar 2) adalah:

| | |
|-----------------|----------------|
| Bentuk | : basil |
| Susunan | : menyebar |
| Warna sel | : merah |
| Latar Belakang: | merah muda |
| Cat | : Gram |
| Sifat Cat | : Gram negatif |

8. Identifikasi Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan Uji Biokimia

Hasil uji biokimia (Gambar 3) dengan menggunakan medium KIA menunjukkan hasil K/K s (-), medium SIM menunjukkan hasil - ++, medium LIA menunjukkan hasil K/K s (-), dan me-

dium Citrat menunjukkan hasil (+)

9. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun Tapak Dara terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* dengan metode difusi menggunakan konsentrasi 25%, 50%, dan 75% dengan menggunakan kontrol positif Amoxicilin kemudian diinkubasi 37°C selama 24 jam dan dilihat ada tidaknya zona hambat di sekitar sumuran, Tabel 4 dan 5.

10. Pembahasan

Pada penelitian dengan metode difusi ini menggunakan konsentrasi ekstrak 25%, 50%, dan 75% menunjukkan adanya zona hambat pada masing-masing konsentrasi. Pada ekstrak daun Tapak Dara terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi 25% adalah 13,33 mm, konsentrasi 50% adalah 17,33 mm, dan konsentrasi 75% adalah 20 mm. Ekstrak daun Tapak Dara terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan konsen-

tasi 25% adalah 12 mm, konsentrasi 50% adalah 15,67 mm, dan konsentrasi 75% adalah 17,33 mm.

Berdasarkan hasil penelitian tersebut terdapat senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam daun Tapak Dara diantaranya alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin (Saln, 2013).

Alkaloid pada daun Tapak Dara menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara mengganggu komponen penyusunan lapisan peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Rahmi, 2015).

Flavonoid pada daun Tapak Dara menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara inaktivasi protein pada membran sel sehingga mengakibatkan struktur protein menjadi rusak. Ketidakstabilan pada dinding sel dan membran sitoplasma bakteri menyebabkan sel bakteri menjadi terganggu. Hal ini akan berakibat pada hilangnya makromolekul dan ion dari sel sehingga sel menjadi kehilangan bentuk dan lisis (Rahmi, 2015)

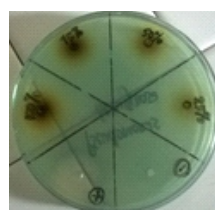
Tabel 4. Hasil Pengamatan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Tapak Dara Terhadap *Staphylococcus aureus*

| Jenis | | Diameter Zona Hambatan (mm) | | | Rata-rata diameter zona hambatan (mm) |
|--------------------------------|-------------------|-----------------------------|---------|---------|---------------------------------------|
| | | Cawan 1 | Cawan 2 | Cawan 3 | |
| Konsentrasi Ekstrak Tapak dara | 25 % | 12 | 13 | 15 | 13,33 |
| | 50 % | 16 | 18 | 18 | 17,33 |
| | 75% | 18 | 21 | 21 | 20 |
| Kontrol | Amoxicilin (+) | 35 | 36 | 35 | 35,33 |
| | Aquabidest PI (-) | - | - | - | - |



Tabel 5. Hasil Pengamatan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Tapak Dara Terhadap *Pseudomonas aeruginosa*

| Jenis | | Diameter Zona Hambatan (mm) | | | Rata-rata diameter zona hambatan (mm) |
|--------------------------------|-------------------|-----------------------------|---------|---------|---------------------------------------|
| | | Cawan 1 | Cawan 2 | Cawan 3 | |
| Konsentrasi Ekstrak Tapak dara | 25 % | 10 | 13 | 13 | 12 |
| | 50 % | 16 | 15 | 16 | 15,67 |
| | 75% | 18 | 17 | 17 | 17,33 |
| Kontrol | Amoxicilin (+) | 38 | 38 | 39 | 38,33 |
| | Aquabidest PI (-) | - | - | - | - |



Saponin pada daun Tapak Dara menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks dengan membran sel melalui ikatan hidrogen sehingga dapat menghancurkan permeabilitas dinding sel dan akhirnya menimbulkan kematian sel (Perwita, 2011).

Tanin pada daun Tapak Dara menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara menginaktivasi adhesin sel mikroba yang terdapat pada permukaan sel sehingga polipeptida dinding sel akan menyebabkan kerusakan dinding sel kemudian bakteri akan terdenaturasi dan metabolisme bakteri akan terganggu yang kemudian sel akan mengalami kerusakan (Sari, 2011)

Kontrol positif yang digunakan adalah Amoxicilin yang merupakan antibiotik dalam golongan penisilin dengan aktivitas antibakteri yang spektrum luas yang bersifat bakterisid. Golongan penisilin sangat aktif terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif. Mekanisme kerjanya dengan menggunakan zat aktif dalam amoxicilin yaitu beta laktam yang mencegah sintesis dinding sel bakteri dengan menghambat enzim DD-transpeptidase bakteri akibatnya bakteri tidak dapat berkembang biak (Dewi, 2013).

Pengujian statistika menggunakan uji Anova dengan Klasifikasi 2 arah (*Two Way Anova*) menunjukkan bahwa pada perbandingan antara *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* menunjukkan nilai Sig sebesar 0,075 ($>0,05$), hal ini menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang nyata diameter zona hambat antara *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Hal ini menunjukkan ekstrak daun tapak dara memiliki aktivitas antibakteri yang sama terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

Pada perbandingan antara konsentrasi ekstrak menunjukkan nilai Sig sebesar 0,00 ($<0,05$), hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata diameter zonahambat antara konsentrasi ekstrak, kontrol negatif, dan kontrol positif. Hal tersebut menunjukkan semakin besar konsentrasi ekstrak daun Tapak Dara maka semakin be-

sar terbentuk zona hambatan terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

Setelah mengetahui ada perbedaan diantara perlakuan kemudian dilanjutkan uji PostHoc Student-Neuman-Keuls untuk mengetahui ekstrak dan konsentrasi yang mempunyai aktivitas antibakteri paling baik. Hasil perhitungan statistik menunjukkan bahwa ekstrak yang mempunyai aktivitas antibakteri paling baik adalah ada- lah konsentrasi 75% dengan nilai *mean* sebesar 18.67 mm, akan tetapi masih lebih rendah dibandingkan kontrol positif Amoxicilin yaitu sebesar 36.83 mm.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

- Ekstrak daun Tapak Dara (*Catharantus roseus* (L.) G. Don) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*.
- Ekstrak daun Tapak Dara (*Catharantus roseus* (L.) G. Don) pada konsentrasi 75% mempunyai aktivitas antibakteri paling baik terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* dengan nilai rata-rata zona hambat masing-masing sebesar 20,00 mm dan 17,33 mm.

Saran

- Perlu dilakukan pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun Tapak Dara pada konsentrasi yang lebih kecil ($<25\%$) dengan menggunakan bagian tumbuhan yang lain terhadap bakteri patogen lainnya yang menyebabkan penyakit pada manusia.
- Perlu dilakukan uji kimia dengan metode KLT agar dapat diketahui kadar bahan kimia antibakteri yang terdapat pada ekstrak Tapak Dara secara lebih tepat.

DAFTAR PUSTAKA

- Bowler, P.G, Duerden, B.I, Armstrong, D.G.2001. *Wound Microbiology and Associated Approaches to Wound Management*. Clinical MicrobiologyReviews. April vol 14 (2);hal: 244-269.
- Darmawi, Z. H. Manaf dan F. Putranda. 2013. "Daya Hambat Getah Jarak Cina (*Jatropha multifida* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* secara In Vitro". *Jurnal Medika Veterinaria*. VII(2): 113-115

- Departemen Kesehatan RI. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, hal. 6-7
- 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 Veteriner* 31(2) ISSN : 0126 – 0421. Universitas Gadjah Mada
- Emilan, T., A. Kurnia, B. Utami, L.N. Diyani dan A. Maulana. 2011. “Konsep Herbal Indonesia: Pemastian Mutu Produk Herbal”. Depok: Progam Studi Magister Ilmu Herbal Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia
- Fatimah,Cut, U. Harahap, I. Sinaga, Safrida dan Ernawati. 2006. “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Angsana (*Pterocarpus indicus* Willd) Secara In Vitro”. *Jurnal Ilmiah PANNMED*. 1(1):1-8
- Fitriana, S. 2008. Penapisan Fitokimia dan Uji Aktivitas Anthelmintik Ekstrak Daun Jarak (*Jatropha curcas* L.) terhadap Cacing *Ascaridia galli* secara in vitro. *Skripsi*. Fakultas Peternakan. Institut Pertanian Bogor
- Gunawan dan Sri Mulyani. 2004. Ilmu Obat Alami (Farmakognosi) Jilid 1. Bogor: Penerbit Swadaya
- Harborne, J.B..2006. Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan Edisi II Terbitan kedua. Bandung: ITB Bandung, hal. 70 – 71
- Hernani dan R. Nurdjanah. 2009. ” Aspek Pengeringan Dalam Mempertahankan Kandungan Metabolit Sekunder Pada Tanaman Obat”. *ISSN*, Vol.21 (2): 33-39
- Kabesh. K, P. Senthilkumar1, R. Rangunathan and R. Raj Kumar. 2015. “Phytochemical Analysis of *Catharanthus roseus* Plant Extract and its
- Mawaddah, R. 2008. Kajian Hasil Riset Potensi Antimikroba Alami dan Aplikasinya dalam Bahan Pangan di Pusat Informasi Teknologi Pertanian Fateta IPB. *Skripsi*. Bogor
- Perwita, F.A.. 2011. “ Teknologi Ekstraksi Daun Ungu (*Graptophyllum pictum*) Dalam Etanol 70% Dengan Metode Perkolasi” *Skripsi*. Surakarta:Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret
- Pradani, N. R. 2012. “ Uji Aktivitas Antibakteri Air Perasan Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolin*, *Swingle*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro”. *Skripsi*. Jember: Fakultas Kedokteran, Universitas Jember
- Radji. M. 2010. Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran. Jakarta : Buku Kedokteran EGC, hal 179-205
- Rahmi A. 2015. “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Beluntas (*Pluchea indica* (L.) Less.) Terhadap *Propionibacterium acnes* Penyebab Jerawat”. *ISSN*, Vol. 9(1):141-161.
- Saln, M dan V. Sharma. 2013. “*Catharanthus roseus* (An anticancerous drug yielding plant) - A Review of Potential Therapeutic Properties”. *International Journal of Pure & Applied Bioscience* 1 (6): 139-142
- Santoso, Djoko dan D. Gunawan. 2004. *Ramuan Tradisional Untuk Penyakit Kulit*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Sari, F.P dan S.M. Sari. 2011. *Ekstraksi Zat Aktif Antimikroba dari Tanaman Yodium (*Jatropha Multifida* Linn) sebagai Bahan Baku Alternatif Antibiotik Alami*. *Artikel Ilmiah*. Universitas Diponegoro
- Sugiyono, 2014. *Metode Penelitian Manajemen*. Bandung: Alfabeta.
- Sulistiyaningsih. 2010. “ Uji Kepekaan Beberapa Sediaan Antiseptik Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus aureus* Resisten Metisilin (MRSA)”. Tesis. Jatinangor: Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran
- Suryono, Bambang. 1995. *Bakteriologi Umum dan Bakteriologi Klinik*. Kediri: Akademi Analisis Kesehatan Bhakti Wiyata.