

Potensi Antibakteri Ekstrak Etanol dan Etil Asetat Daun Benalu *Dendrophthoe pentandra* terhadap *Klebsiella pneumoniae* Penghasil ESBL

Antibacterial Potency of *Dendrophthoe petandra* Ethanol and Ethyl Asetate Leaves Extract against ESBL Producing *Klebsiella pneumoniae*

Ardy Prian Nirwana * dan Indah Tri Susilowati

Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta

*Corresponding author: ardypriannirwana@gmail.com

ABSTRAK

Antibiotik yang diberikan berlebihan, tidak adekuat dan monoton, dapat mengurangi efektifitas antibiotik, sehingga menimbulkan resistensi terutama pada bakteri. Resistensi Klebsiela sp terhadap antibiotik disebabkan salah satunya karena mampu menghasilkan enzim extended spectrum β -lactamase (ESBL). ESBL merupakan enzim yang dapat menghidrolisis penicillin, cephalosporin generasi I, II, III dan aztreonam. *Dendrophthoe pentandra* mengandung senyawa metabolit sekunder yang bersifat bakterisida. Penelitian ini bertujuan mengetahui potensi antibakteri ekstrak etanol dan etil asetat daun *D. pentandra* terhadap *K. pneumoniae* penghasil ESBL.

Daun *D. pentandra* diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% dan etil asetat. Kandungan antibakteri diidentifikasi secara kualitatif dengan uji skrining fitokimia. Desain penelitian adalah deskriptif eksperimental dengan mengukur zona hambat radikal. Uji pendahuluan dan daya hambat bakteri dilakukan dengan metode difusi cakram dikomparasikan dengan kontrol antibiotik cefotaxim, ceftazidim, ceftriaxone dan ciprofloxacin.

Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol dan etil asetat *D. pentandra*, keduanya mengandung senyawa antibakteri seperti flavonoid, alkaloid, terpenoid, tanin, dan saponin. Konsentrasi hambat tumbuh minimum untuk ekstrak etanol dan etil asetat adalah 50% dengan rata-rata diameter zona hambat radikal secara berturut-turut adalah 7,25 mm dan 7,38 mm. Uji sensibilitas menunjukkan bahwa bakteri resisten terhadap antibiotik cefotaxim, ceftazidim, dan ceftriaxone tetapi sensitif terhadap ciprofloxacin. Ekstrak etanol dan etil asetat *D. pentandra* pada konsentrasi 100% memiliki potensi antibakteri terhadap *K. pneumonia* lebih baik dibanding kontrol antibiotik beta-laktam dengan zona penghambatan radikal secara berturut-turut adalah 13,55 mm dan 15,38 mm.

Kata kunci: ekstrak etanol, ekstrak etil asetat, daun benalu *Dendrophthoe pentandra*, *K. pneumoniae*, ESBL

ABSTRACT

Antibiotics were given excessive, inadequate and monotonous, can reduce the effectiveness of antibiotics, causing resistance, especially in bacteria. Klebsiela sp antibiotic-resistant infections caused one of them for being able to produce the enzyme extended spectrum β -lactamase (ESBL). ESBL is an enzyme that can hydrolyze penicillin, cephalosporin generation I, II, III and aztreonam. *Dendrophthoe pentandra* contain secondary metabolites that are bactericidal. This study aims to determine the antibacterial potency of ethanol and ethyl acetate extracts of the leaves *D. pentandra* against ESBL-producing *K. pneumoniae*.

D. pentandra leaf mistletoe a extracted using maceration method with 96% ethanol and ethyl acetate. The content of antibacterial identified qualitatively phytochemical screening test. The study design was descriptive experimentally by measuring the inhibition zone radical. Preliminary test and the inhibition of bacteria carried by disc diffusion method dikomparasikan control antibiotic cefotaxime, ceftazidim, ceftriaxone and ciprofloxacin.

Phytochemical screening results showed that ethanol and ethyl acetate extracts *D. pentandra*, both containing antibacterial compounds such as flavonoids, alkaloids, terpenoids, tannins and saponins. The minimum growth inhibitory concentration for ethanol and ethyl acetate extract is 50% with an average diameter of inhibitory zone radical respectively are 7.25 mm and 7.38 mm. Sensibility test showed that bacteria resistant to the antibiotic cefotaxime, ceftazidim, and ceftriaxone but sensitive to ciprofloxacin. The ethanol extract and ethyl acetate *D. pentandra* at 100% concentration has antibacterial activity against *K. pneumoniae* better than control beta-lactam antibiotics with a zone of inhibition of radical respectively is 13.55 mm and 15.38 mm.

Keywords: ethanol extract, ethyl acetate extract, *Dendrophthoe pentandra* leaves, *K. pneumoniae*, ESBL

PENDAHULUAN

Antibiotik dikonsumsi secara berlebihan, tidak memadai, monoton dapat menimbulkan resistensi terutama pada bakteri gram negatif. Bakteri gram negatif yang paling sering diisolasi di ICU anak di antaranya adalah *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumoniae*. Sumber bakteremia tersering adalah infeksi saluran kemih dan pneumonia. *Klebsiela sp* merupakan salah satu bakteri dari famili Enterobacteriaceae penghasil enzim extended spectrum β -lactamase (ESBL) yang resisten terhadap cefotaxime di Jerman pada tahun 1983 (Adisasmitho, 2004).

ESBL berasal dari mutasi β -laktamase yang menyebabkan peningkatan aktivitas enzimatik β -laktamase sehingga enzim ini dapat menghidrolisis cephalosporin generasi III dan aztreonam (Pajirau, 2010). Resistensi mikroba yang meluas terhadap obat-obatan mendorong pentingnya penggalian sumber antimikroba dari bahan alam. Tanaman obat diketahui potensial dikembangkan lebih lanjut pada penyakit infeksi namun masih banyak yang belum dibuktikan aktivitasnya secara ilmiah (Agustiningsih, 2010). Salah satu sumber alam yang dapat dimanfaatkan sebagai obat adalah tanaman benalu *Dendrophoe pentandra*.

Dendrophoe pentandra merupakan jenis benalu yang masuk dalam suku Loranthaceae yang dapat memarasit berbagai jenis tumbuhan inang, semak maupun pohon (Sunaryo, 2008). Daun *D. pentandra* memiliki khasiat antibakteri, hal ini dibuktikan pada penelitian Anita *et. al.*, (2014), dimana ekstrak metanol daun *D. pentandra* mengandung senyawa yang bersifat bakterisida terhadap bakteri di antaranya adalah flavonoid, alkaloid, steroid, polifenol, dan kuinon.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi antibakteri ekstrak etanol dan etil asetat daun *D. pentandra* terhadap pertumbuhan *K. pneumoniae* dikomparasikan dengan antibiotik kontrol uji pembentukan ESBL pada bakteri sesuai standar CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*) (2011), serta antibiotik kon-

trol positif yang digunakan adalah ciprofloxacin.

BAHAN DAN METODE

Alat dan bahan

Daun benalu *Dendrophoe pentandra*, inkubator, ohse, pembakar spirtus, object glass, mikroskop, neraca, gelas ukur, pipet ukur, saringan, batang pengaduk, *clinic pipet*, *paper disc*, ciprofloxacin, ceftriaxon, ceftazidime, cefotaxime, DMSO, sampel bakteri *K. pneumoniae* penghasil ESBL, *Mac Conkey*, media uji biokimia, kovac, barried, methyl red, FeCl₃ 10%, KOH 40%, Standard *Mc farland* no. 0,5, *Nutrient agar*, aquades, *Nutrient broth*, *Nutrient agar plate*, NaCl 0,9% steril, HCl 2M, NaCl, reagen Wagner, reagen Dogendarf, reagen Meyer HCl pekat, etanol 96%, etil asetat.

Cara Kerja

Persiapan Sampel

Sampel daun *D. pentandra* dikeringkan di bawah sinar matahari secara tidak langsung dengan cara ditutup dengan kain hitam selama 6 hari, kemudian dilanjutkan di dalam inkubator dengan suhu 50°C (Andriyani *et. al.*, 2010).

Ekstraksi

Daun *D. pentandra* kering digiling hingga halus dan diayak, selanjutnya ditimbang. Sebanyak masing-masing 100 gram sampel yang telah dihaluskan, dimaserasi dalam 750 ml etanol 96% dan etil asetat selama 5 hari sambil diaduk-aduk. Dilakukan penyaringan dengan kertas saring. Ekstrak yang diperoleh dilakukan pengeringan dengan *Rotavapour* hingga kental. Hasil ekstrak berwarna kental hitam kehijauan.

Analisis skrining fitokimia

- 1) Skrining flavonoid dilakukan dengan cara ditambahkan serbuk Mg dan 2 ml HCl 2N pada 2 mL larutan ekstrak. Senyawa flavonoid akan menunjukkan warna jingga sampai merah.
- 2) Skrining alkaloid dilakukan dengan cara 3 ml larutan ekstrak ditambahkan dengan 1 ml HCl 2N

dan 6 ml air suling, kemudian dipanaskan selama 2 menit, didinginkan dan disaring. Filtrat diperiksa dengan pereaksi Mayer terbentuk endapan putih.

3) *Skrining saponin* dilakukan dengan sampel ditambahkan aquades. Kemudian dikocok vertikal selama 10 detik. Hasil uji positif jika timbul busa stabil selama 10 menit (Harborne, 1987 dalam Sukandar *et. al.*, 2008).

4) *Skrining tanin* dilakukan dengan cara sebanyak 1 mL larutan ekstrak uji direaksikan dengan FeCl₃ 10%, adanya tanin ditunjukkan dengan terbentuknya warna biru tua atau hitam kehijauan.

5) *Skrining terpenoid* dilakukan dengan cara bahan uji dilarutkan dengan kloroform, kemudian ditambahkan dengan asam asetat anhidrat sebanyak 0,5 ml, selanjutnya ditambahkan 2 ml asam sulfat pekat melalui dinding tabung. Adanya triterpenoid ditandai dengan terbentuknya cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan larutan, sedangkan adanya steroid ditandai dengan terbentuknya cincin biru kehijauan (Padmasari *et. al.*, 2013).

Uji Daya Hambat Difusi Cakram

Pembuatan Standar Kekeruhan Larutan

Larutan asam sulfat 0,36 N sebanyak 99,5 ml dicampurkan dengan larutan BaCl₂.2H₂O 1,175 % sebanyak 0,5 mL dalam erlenmeyer kemudian dikocok sampai terbentuk larutan yang keruh. Kekeruhan ini dipakai sebagai standar kekeruhan suspensi bakteri uji. Pembuatan suspensi bakteri uji bakteri uji pada media agar miring diambil dengan kawat ose steril lalu disuspensi-kan ke tabung yang berisi 2 mL larutan NaCl 0,9 % hingga diperoleh kekeruhan yang sama dengan standar kekeruhan larutan Mc. Farland (Ngajowa *et. al.*, 2013).

Uji antibakteri ekstrak *D.pentandra*

Uji aktivitas antibakteri ekstrak benalu menggunakan metode difusi disk yang telah dimodifikasi. Suspensi bakteri *K.pneumonie* (10^8 CFU/mL) disebar merata pada media *Nutrient Agar* dengan teknik swab, selanjutnya, kertas cakram ditetes dengan variasi konsentrasi masing-masing ekstrak *D.pentandra*, kontrol negatif (aquades steril), dan untuk mengkonfirmasi resistensi sampel bakteri terhadap antibiotik, digunakan kontrol antibiotik beta-laktam dari golongan Cephalosporin (Ceftriaxon, cefotaxime, dan ceftazidime) control positif dengan antibiotic ciprofloxacin. Cawan petri kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Amati adanya diameter zona hambat radikal yaitu daerah jernih tanpa pertumbuhan bakteri (CLSI, 2011; Pajirau, 2010; Widyaningtyas *et. al.*, 2014).

Hasil

Analisis Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui metabolit sekunder dalam ekstrak *D.pentandra* yang bersifat antibakteri (Tabel 1).

Berdasarkan Tabel 1. Baik ekstrak etanol dan etil asetat mengandung flavonoid, alkaloid, tannin, terpenoid dan saponin.

Uji sensibilitas kontrol antibiotik

Tabel 2. Menunjukkan bahwa sampel bakteri *K. pneumoniae* resisten terhadap kontrol antibiotik beta-laktam dan sensitif terhadap ciprofloxacin

Uji antibakteri ekstrak *D.pentandra*

Hasil uji pendahuluan menunjukkan bahwa konsentrasi hambat tumbuh minimum untuk

Tabel 1. Hasil uji skrining fitokimia ekstrak daun *D.pentandra*

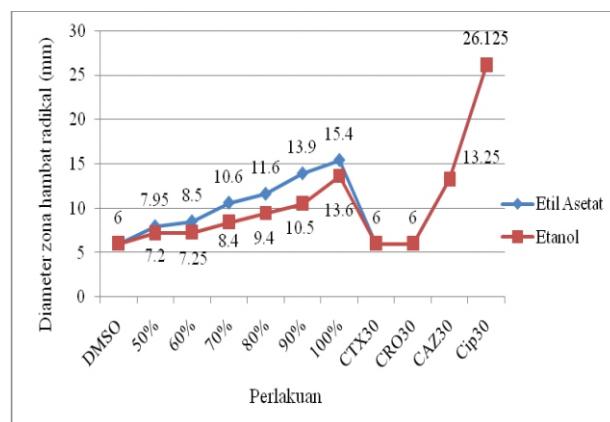
No	Uji	Hasil	
		Etanol	Etil Asetat
1	Flavonoid	(+) Jingga	(+) Jingga
2	Alkaloid	(+) Endapan putih	(+) Endapan putih
3	Tanin	(+) Endapan coklat kehijauan	(+) Endapan coklat kehijauan
4	Terpenoid	(+) Cincin coklat	(+) Cincin coklat
5	Saponin	(+) Busa	(+) Busa

Tabel 2. Hasil Uji Sensibilitas

Antibiotik	Interpretasi Sensibilitas (CLSI, 2011)			Rata-rata diameter zona hambat (mm)
	Sensitif	Intermediet	Resisten	
Ciprofloxacin	≥ 21	16–20	≤ 15	26,125
Cefotaxime	≥ 26	23–25	≤ 22	6
Ceftazidime	≥ 21	18–20	≤ 17	13,25
Ceftriaxone	≥ 23	20–22	≤ 19	6

Tabel 3. Pendahuluan Antibakteri

Konsentrasi	Rata-rata zona hambat radikal (mm)	
	Etil Asetat	Etanol
100%	10,875	11,75
50%	7,375	7,25
25%	6	6
12,5%,	6	6
6,25%,	6	6
3,125%	6	6
1,6525%	6	6



Gambar 1. Hasil Uji Difusi Cakram

ekstrak etanol dan etil asetat sama yaitu pada konsentrasi ekstrak 50%, konsentrasi ini dijadikan patokan untuk uji selanjutnya (Tabel 3).

PEMBAHASAN

Klebsiella pneumoniae merupakan bakteri Gram negatif dan dikategorikan ke dalam anaerob fakultatif, bakteri ini termasuk dalam famili Enterobacteriaceae (Jawetz *et al.*, 2008). Bakteri golongan Enterobacteriaceae banyak ditemukan mengalami resistensi terhadap antibiotik golongan beta-laktam, hal ini terjadi salah satunya disebabkan oleh penggunaan antibiotik yang tidak bijak (Pajirau, 2010; Sari, 2015). Resistensi bakteri terhadap antibiotik golongan beta-laktam terjadi karena bakteri mampu menghasilkan ESBL yang merupakan enzim plasmid yang memerlukan terjadinya hidrolisis dan inaktivasi dari antibiotika beta-laktam termasuk

seflosforin generasi ketiga, penisilin dan aztreonam (Irawan, 2012). Pengujian skrining dan konfirmatif untuk mengetahui kemampuan *K.pneumoniae* dalam menghasilkan ESBL dapat dilakukan dengan uji sensibilitas menggunakan beberapa antibiotik, di antaranya adalah Ceftazidime, Cefotaxime, dan Ceftriaxone (CLSI, 2011).

Hasil uji antibakteri metode difusi cakram (Gambar 1) menunjukkan bahwa ekstrak etanol dan etil asetat *D.pentandra* pada konsentrasi 100% memiliki potensi antibakteri yang lebih baik dalam menghambat pertumbuhan *K.pneumoniae* dibandingkan dengan kontrol antibiotik ESBL (cefotaxime, ceftazidime, dan ceftriaxone). Potensi penghambatan ini dikarenakan kandungan antibakteri dalam kedua ekstrak tersebut antara lain; flavonoid, alkaloid, terpenoid, tanin dan saponin.

Flavonoid memiliki aktivitas sebagai anti-

bakteri karena dapat mendenaturasi protein sel dan merusak membran sel bakteri. Mekanisme flavonoid sebagai antibakteri berhubungan dengan pembentukan ikatan kompleks dengan protein pada membran (protein-fenol) sehingga menyebabkan permiabilitasnya turun. Ikatan kompleks yang telah terbentuk kemudian terurai dan berpenetrasi ke dalam sel sehingga terjadi koagulasi protein dan menyebabkan enzim bakteri tidak aktif. Akibatnya dinding sel bakteri tidak terbentuk dengan baik sehingga terjadi kebocoran sel dan bakteri mati (Zabadi, 2011). Alkaloid sebagai agen antibakteri bekerja dengan cara menghambat sintesis dinding sel bakteri dan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut. Mekanisme antibakteri steroid yaitu dengan menghambat sintesis dinding sel bakteri dengan cara menghasilkan membran sehingga menyebabkan kebocoran pada liposom yang merupakan penyusun dinding sel bakteri (Ambarsari, 2013). Tanin diduga dapat mengkerutkan dinding sel. Rusaknya dinding sel akan menyebabkan terhambatnya perumbuhan sel bakteri, dan pada akhirnya bakteri akan mati. Secara umum adanya kerja suatu bahan kimia sebagai zat antibakteri dapat mengakibatkan terjadinya perubahan-perubahan yang mengarah pada kerusakan hingga terhambatnya pertumbuhan sel bakteri tersebut (Retnowati *et. al.*, 2011).

Walaupun demikian tidak ada di antara variasi konsentrasi ekstrak etanol dan etil asetat yang memiliki potensi penghambatan menyamai antibiotik ciprofloxacin, hal ini bisa terjadi kemungkinan karena antibiotik merupakan dosis tunggal yang kemampuan bakterisidalnya telah teruji. Rieuwpassa dan Hatta (2009) menjelaskan bahwa ciprofloxacin merupakan agen generasi kedua, salah satu obat sintetik derivat quinolon. Mekanisme kerjanya adalah menghambat aktivitas DNA gyrase bakteri, bersifat bakterisidal dengan spektrum luas terhadap bakteri Gram-positif maupun negatif.

Berdasarkan Gambar 1. ekstrak etil asetat *D. pentandra* yang memiliki potensi antibakteri lebih dibanding ekstrak etanol 96%. Septiana dan Asnani (2012) menjelaskan bahwa hasil total etanol dalam suatu bahan dengan metode ekstraksi baik menggunakan 1 maupun 2 tahap, didapatkan total fenol (flavonoid, tannin) paling tinggi pada pelarut etil asetat diikuti oleh etanol dan yang paling rendah adalah aquades, kemungkinan hal inilah yang menyebabkan potensi antibakteri ekstrak etil asetat yang lebih baik.

KESIMPULAN

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol dan etil asetat pada konsentrasi *D. pentandra* memiliki potensi antibakteri dalam menghambat pertumbuhan *K. pneumoniae* penghasil ESBL lebih baik dari pada antibiotik cefotaxime, ceftazidime.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustiningsih, E.T. 2010. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Benalu Jambu Air (*Dendrophoe falcata* (L.f.) Ettingsh) Terhadap *Escherichia coli* Dan *Staphylococcus aureus*. Skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta
- Ambarsari, M.A. 2013. Aktivitas Antibakteri Fraksi N-Heksan Ekstrak Etanol Daging Buah Sirsak (*Annona muricata* L.) Terhadap *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella sonnei* dan Serta Bioautografinya. Skripsi. Universitas Muhammadiyah Surakarta
- Andriyani, D., Utami, P I., Dhiani, B A. 2010. Penetapan Kadar Tanin Daun Rambutan (*Nephelium lappaceum*.L) Secara Spektrofotometri Ultraviolet Visibel. Pharmacy 07 (02): 1-11.
- Anita, A.,Siti, K & Yanti, A.H. 2014. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Benalu Jambu Air (*Dendrophoe pentandra* (L.) Miq) Terhadap Pertumbuhan *Salmonella typhi*. Probiot 3 (2): 268 – 272
- CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). 2011. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-First Informational Supplement. Replaces M100-S20 and M100-S20-U. Vol. 31 No. 1
- Irawan, D., Hamidah., Purwati, Triyono, E.A., & Bramantono. 2012. Profil Penderita Sepsis Akibat Bakteri Penghasil ESBL. Jurnal Penyakit Dalam 13 (1): 63-68
- Jawetz, Melnick, dan Adelberg. 2008. Mikrobiologi Kedokteran Edisi 23. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC
- Ngajowa, M., AbidJulua, J & Kamua, V.S. 2013. Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara In vitro. Jurnal MIPA Unsrat Online 2 (2): 128-132
- Padmasari, P D., Astuti, K W., Warditiani, N K. 2013. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 70% Rimpang Bangle (*Zingiber purpureum* Roxb.). Jurnal Farmasi Udayana 2 (4): 1-4
- Pajirau, A. 2010. Infeksi Oleh Bakteri Penghasil Extended-Spectrum Beta-Lactamase (ESBL) Di RSUP Dr. Kariadi Sema-

- rang: Faktor Risiko Terkait Penggunaan Antibiotik. Artikel Ilmiah. Program Pendidikan Sarjana Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang
- Retnowati, Y., Bialangi, N & Posangi, N.W. 2011. Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Pada Media Yang Diekspos Dengan Infus Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*). Saintek Vol 6, No 2
- Rieuwpassa, I E dan Hatta, M. 2009. Deteksi Mutasi Gen Gyrase A Porphyromonas gingivalis Resisten terhadap Ciprofloxacin berdasarkan teknik Polymerase Chain Reaction. Jurnal Kedokteran Yarsi 17 (1) : 011-020
- Sari, M. 2015. Uji Bakteriologis dan Resistensi Antibiotik Terhadap Bakteri Escherichia coli dan Shigella sp Pada Makanan Gado-gado di Kantin UIN Syarif Hidayatullah Jakarta. Skripsi. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta
- Septiana, A T dan Asnani, A. 2012. Kajian Sifat Fisiokimia Ekstrak Rumput Laut Coklat *Sargassum duplicatum* menggunakan berbagai pelarut dan Metode Ekstraksi. Agrointek 6 (1): 22-28
- Sukandar, D., Hermanto, S., & Lestari, E. 2008. Uji Toksisitas Ekstrak Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). Jurnal Valensi 1 (2): 63-70
- Sunaryo. 2008. Pemarasitan Benalu *Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq. pada Tumbuhan Koleksi Kebun Raya Cibodas, Jawa Barat. Bidang Botani, Puslit Biologi – LIP. Jurnal Natur Indonesia 11(1): 48-58
- Widyaningtias, N. M. S. R., Yustiantara, P. S., & Paramita, N. L. P.V. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Terpurifikasi Daun sirih hijau (*Piper betle* L.) Terhadap Bakteri Propionibacterium acnes. Jurnal Farmasi Udayana 3 (1): 50-53
- Zabadi, F. 2011. Daya Hambat Fraksi Semipolar Ekstrak Etanol Daun Benalu Mangga (*Dendrophthoe petandra* (L.) Miq.) Terhadap Pertumbuhan Escherichia coli Serta Brine Shrimp Lethality Test. Skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta