

Studi Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanolik, Ekstrak Metanol dan Infus Daun Bayam Duri (*Amaranthus spinosus*) dan Herba Cakar Ayam (*Sellaginella doederleinii* Hieron) terhadap Bakteri Penyebab Pneumonia

Antibacterial Activity Studies Ethanolic Extract, Methanol Extract and The Infusion of Bayam Duri (*Amaranthus spinosus*) Leaves and Cakar Ayam (*Sellaginella doederleinii* Hieron) Herbs toward Bacteria Caused Pneumonia

OPSTARIA SAPTARINI

Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi

Jln. Letjen Sutoyo-Mojosongo Surakarta-57127 Telp. 0271-852518

(Diterima 18 Februari 2011, disetujui 2 Maret 2011)

Abstrak

Pneumonia merupakan penyakit sistem pernapasan dimana alveoli mengalami peradangan dan terjadi penimbunan cairan. Ada banyak bakteri penyebab penyakit pneumonia antara lain seperti yang digunakan dalam pengujian ini adalah *Streptococcus pneumonia*, *Klebsiella pneumonia*, *Streptococcus haemolyticus alpha* dan *beta*. Tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah herba cakar ayam dan daun bayam duri. Metode mikrodilusi digunakan untuk pengujian aktivitas antibakterinya. Pengujian ini dilakukan terhadap ekstrak etanol, ekstrak methanol dan infuse dari daun bayam duri dan cakar ayam dengan konsentrasi yang sama dengan konsentrasi terbesar adalah 1024 $\mu\text{g/ml}$ konsentrasi berikutnya berdasarkan pengenceran terus dilakukan sampai pada kolom ketiga yang akan memiliki konsentrasi terkecil. Pelat diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam kemudian diamati bagian yang jernih (tidak ada pertumbuhan mikroba). Konsentrasi terkecil di mana tidak terlihat pertumbuhan mikroba ditetapkan sebagai MIC (NCCLS 2003). Berdasarkan pengujian aktivitas antibakteri terhadap infus, ekstrak methanol dan ekstrak etanol daun bayam duri dan herba cakar ayam, dengan metode *broth microdilution*, terlihat bahwa ekstrak yang paling aktif adalah ekstrak etanol daun bayam duri dan ekstrak etanolik herba cakar ayam pada bakteri *Streptococcus Pneumonia*, *Streptococcus haemolyticus alpha* dan *Streptococcus haemoyiticus beta* dan *Klebsiella pneumonia* meskipun efeknya lebih rendah dibandingkan dengan obat standart tetrasiklin.

Kata kunci: Aktivitas antibakteri, mikrodilusi, daun bayam duri dan herba cakar ayam, tetrasiklin, bakteri pneumonia

Abstract

Pneumonia is a respiratory system disease which the alveoli become inflamed and have fluid accumulation. Pneumonia is a serious infection that affects many children and adults in a fundamental way around the world. There are many bacteria that cause diseases such as pneumonia, among others, are used in this test are *Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus haemolyticus alpha* and *beta*. Plants used in this study are bayam duri leaves and cakar ayam herbs.

Mikrodilusi methods used for testing antibacterial activity. The test is performed to extract ethanol, methanol extracts and infusions of leaves patikan kebo and herbaceous rumput mutiara with the same concentration with the largest concentration is 1024 ug / ml following concentration by dilution continued until the third column will have the smallest concentration. Plates were incubated at 37 ° C for 24 h and then observed the clear (no microbial growth). The smallest concentration at which no visible microbial growth defined as the MIC (NCCLS, 2003).

Based on the testing of antibacterial activity of the infusion, methanol extract and ethanol extract of leaves of bayam duri leaves and cakar ayam herbs, with the broth method microdilution, it appears that the most active extracts were ethanolic extract of bayam duri leaves and ethanolic extract cakar ayam herbs on the bacteria *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus haemolyticus alpha* and *Streptococcus haemolyticus beta*, and *Klebsiella pneumoniae* although the effect is lower than the standard drug tetracycline

Keywords: antibacterial activity, mikrodilusi, *Amaranthus spinosus*, *Sellaginella doederleinii* Hieron, tetracycline, bacterial pneumonia

Pendahuluan

Pneumonia merupakan masalah kesehatan di dunia karena angka kematiannya tinggi, tidak saja di negara berkembang, tapi juga di negara maju seperti AS, Kanada dan negara-negara Eropa. Di AS misalnya, terdapat dua juta sampai tiga juta kasus pneumonia per tahun dengan jumlah kematian rata-rata 45.000 orang. Di Indonesia, pneumonia merupakan penyebab kematian nomor tiga setelah kardiovaskuler dan tuberkulosis. Faktor sosial ekonomi yang rendah mempertinggi angka kematian. Gejala pneumonia adalah demam, sesak napas, napas dan nadi cepat, dahak berwarna kehijauan atau seperti karet, serta gambaran hasil ronsen

memperlihatkan kepadatan pada bagian paru. Kepadatan terjadi karena paru dipenuhi sel radang dan cairan yang sebenarnya merupakan reaksi tubuh untuk mematikan luman.

Bakteri penyebab pneumonia yang termasuk dalam bakteri gram positif adalah strain *Streptococcus* dan *Staphylococcus*, sedangkan yang termasuk dalam bakteri basil gram negatif (enterik) adalah *Klebsiella pneumoniae*. Yang termasuk dalam bakteri Gram negatif non enterik adalah *Pseudomonas aeruginosae*, *Haemophilus influenzae*, and *Moraxella cathartalis*. Seringnya penggunaan

obat antimikroba dan penggunaan antimikroba yang kerap kali untuk tujuan profilaksis telah dikaitkan dengan risiko resistensi terhadap antibiotik pada infeksi pneumokokus. Frekuensi resistensi juga meningkat pada bakteri yang berbeda, terutama pada negara-negara berkembang dimana antimikroba dapat tersedia tanpa resep. Penelitian terbaru menunjukkan bahwa penggunaan obat antibiotika yang berlebihan dan tidak tepat, khususnya di kalangan pasien perkotaan merupakan salah satu faktor pencetus resistensi (Hofmann *et al* 2009)

Pada penelitian ini menggunakan tanaman bayam duri dan cakar ayam. Tanaman ini di pilih dengan alasan secara tradisional berdasarkan pengalaman, tanaman obat tersebut dapat menyembuhkan beberapa penyakit akibat infeksi oleh jamur maupun bakteri. Hal ini mengindikasikan bahwa dalam tanaman obat tradisional terkandung suatu senyawa yang mempunyai bioaktivitas sebagai antibakteri atau antijamur. Selain itu secara empiris tanaman tersebut digunakan oleh masyarakat luas sebagai obat batuk, menanggulangi sesak napas sampai dengan bronchitis. dan beberapa dari tanaman tersebut juga telah diuji antibakteri atau antifungi (Linsuwitri 2005; Depkes RI 1992; Anonim 2005)

Ekstrak dari tanaman yang akan diuji aktivitas antibakteri dengan metode mikrodilusi dibuat dengan menggunakan penyari etanol hingga diperoleh ekstrak yang kental sedangkan infuse dibuat dengan cara menambahkan air sebanyak 100 ml kedalam 10 gram serbuk tanaman.

kemudian dilakukan uji aktivitas antibakteri dengan metode mikrodilusi.

Metode Penelitian

Bahan

Daun bayam duri dan herba cakar ayam, metanol, etanol 96%, tetrasiklin, aquadest, asam sulfat, acetone, toluena, etil asetat, Media agar BHI, TSA, TSB, MHA, NA.

Alat

Peralatan maserasi, alat penguap hampa udara berputar, neraca analitik, pipa kapiler, krus silikat, cawan penguap, gelas piala, labu Erlenmeyer, panic infuse, batang pengaduk, pipet tetes, pipet ukur, pipet volume, *pipet otomatis*, cawan petri, jarum ose, bunsen, pelat mikro 96 lubang, tabung reaksi, tip, eppendorf, spatel, oven, vortex, alat swab dan inkubator.

Mikroba Uji

Streptococcus haemolyticus Alpha dan *Beta*, *Streptococcus pneumonia* dan *Klebsiella pneumonia* diperoleh dari Laboratorium Diagnostik PT. Biofarma.

Ekstraksi Simplisia

Serbuk simplisia ditimbang sebanyak 200 gram, dimaserasi dengan 1000 mL etanol 96 % dalam suatu bejana gelap. Perendaman dilakukan selama 3 hari dengan dilakukan pengocokan secara berkala. Residu dimaserasi kembali dua kali dengan etanol 96 %. Filtrat

yang diperoleh disatukan kemudian dipekatkan dengan alat penguap hampa udara berputar. Ekstrak dipekatkan di atas tangas air bersuhu 50°C sampai diperoleh ekstrak kental.

Pembuatan Infuse Tanaman

Menambahkan aquadest sebanyak 100 ml ke dalam 10 gram serbuk tanaman, kemudian di panaskan dalam paci infuse selama 15 menit terhitung setelah suhu mencapai 90 derajat celcius

Pengujian Aktivitas Antimikroba dengan Metode *Broth Microdilution*

Sebanyak 100 μ L *nutrient broth* dimasukkan dalam pelat mikro pada kolom pertama (sebagai kontrol negatif). Suspensi mikroba sebanyak 5 μ L ditambahkan ke dalam 10 mL *nutrient broth* kemudian diaduk dengan alat vortex. Sebanyak 100 μ L campuran tersebut dimasukkan dalam pelat mikro pada kolom kedua sampai kedua belas. Pada kolom kedua belas, ditambahkan 100 μ L larutan antibiotik atau ekstrak kemudian dihomogenkan. Dari kolom kedua belas, diambil 100 μ L kemudian dipindahkan ke kolom kesebelas. Pengenceran terus dilakukan sampai pada kolom ketiga yang akan memiliki konsentrasi terkecil. Pelat diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam kemudian diamati bagian yang jernih (tidak ada pertumbuhan mikroba). Konsentrasi terkecil di mana tidak terlihat pertumbuhan mikroba ditetapkan sebagai MIC (NCCLS 2003).

Sebanyak 5 μ L alikuot dari setiap bagian yang jernih dipindahkan dalam nutrient agar

dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam kemudian diamati. Konsentrasi terendah di mana tidak terlihat adanya pertumbuhan mikroba ditetapkan sebagai MBC.

Hasil dan Pembahasan

Pada awal penelitian, tumbuhan yang digunakan dideterminasi untuk mengetahui kebenaran identitas botani tumbuhan tersebut. Hasil determinasi tumbuhan menunjukkan bahwa jenis tumbuhan adalah bayam duri dan herba cakar ayam. Ekstraksi yang dilakukan dengan menggunakan pelarut metanol, air dan etanol. Kemudian dilakukan uji aktivitas terhadap bakteri *Klebsiella pneumonia*, *Streptococcus haemolyticus alpha* dan *beta* serta *Streptococcus pneumonia*.

Etanol merupakan pelarut universal yang dapat menarik sebagian besar senyawa polar, sebagian kecil senyawa semi polar, dan sebagian kecil senyawa nonpolar sehingga diharapkan dapat menarik berbagai senyawa dalam simplisia. Etanol dapat melarutkan alkaloid basa, minyak menguap, glikosida, kumarin, flavonoid, antrakinon, steroid, dan klorofil. Lemak, malam, tanin, dan saponin hanya sedikit larut. Etanol dipertimbangkan sebagai larutan penyari karena lebih selektif, kapang dan kuman sulit tumbuh dalam etanol 20% ke atas, tidak beracun, netral, absorpsinya baik, etanol dapat bercampur dengan air pada skala perbandingan dan panas yang diperlukan lebih sedikit .

Tabel 1. Hasil penapisan fitokimia ekstrak

Golongan senyawa	Ekstrak etanolik	
	Bayam duri	Cakar ayam
tanin	+	+
flavonoid	+	+
kuinon	-	-
saponin	-	-
alkaloid	-	-
steroid	+	-
triterpenoid	-	-

Keterangan:

- + = ekstrak mengandung golongan senyawa tersebut
- = ekstrak tidak mengandung golongan senyawa tersebut

Berdasarkan penapisan fitokimia yang dilakukan, ekstrak etanol bayam duri mengandung tannin, flavonoid, dan steroid dan herba cakar ayam mengandung tannin, flavonoid, saponin, kuinon, alkaloid dan steroid.

Tabel 2. Hasil penentuan nilai MIC dan MBC daun bayam duri

Mikroba	Ekstrak etanolik		Ekstrak metanol		Infus		Tetrasiklin	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
Str α	512	> 1024	1024	> 1024	1024	> 1024	128	512
Str β	256	> 1024	1024	> 1024	512	> 1024	64	128
Klb p	512	> 1024	256	> 1024	1024	> 1024	128	512
Str p	256	> 1024	512	> 1024	1024	> 1024	64	256

Tabel 3. Hasil penentuan nilai MIC dan MBC herba cakar ayam

Mikroba	Ekstrak etanolik		Ekstrak metanol		infus		Tetrasiklin	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
Str α	256	1024	512	> 1024	512	> 1024	128	512
Str β	256	1024	512	> 1024	> 1024	> 1024	64	128
Klb p	1024	1024	256	> 1024	512	> 1024	128	512
Str p	512	1024	1024	> 1024	> 1024	> 1024	64	256

Keterangan:

- MIC = Minimum Inhibitory Concentration
- MBC = Minimum Bactericidal Concentration
- Str α = *Streptococcus haemolyticus* α
- Str β = *Streptococcus haemolyticus* β
- Klb p = *Klebsiella pneumonia*
- Dipl = *Streptococcus pneumonia*

Hasil pengujian adanya aktivitas antimikroba terhadap bakteri *Streptococcus haemolyticus* tipe *alpha* dan *beta*, *Streptococcus pneumonia* dan *Klebsiella pneumonia* dilakukan dengan menggunakan metode *broth microdilution*. Dari ke dua tanaman yang digunakan pada pengujian ini yang memberikan aktivitas penghambatan (MIC) yang paling baik adalah ekstrak etanol daun bayam duri yaitu rata rata 512 $\mu\text{g/ml}$ terhadap bakteri *Streptococcus haemolyticus* tipe *alpha*, 512 $\mu\text{g/ml}$ terhadap bakteri *Klebsiella pneumonia* dan konsentrasi 256 $\mu\text{g/ml}$ untuk bakteri *Streptococcus haemolyticus* tipe *beta*, dan *Streptococcus pneumonia*. Sedangkan pada ekstrak herba cakar ayam rata rata 512 $\mu\text{g/ml}$ pada bakteri uji *Streptococcus haemolyticus* tipe *beta* dan *Streptococcus pneumonia* dan rata rata konsentrasi 1024 $\mu\text{g/ml}$ terhadap bakteri *Klebsiella pneumonia*, tetapi efek antibakterinya lebih rendah jika dibandingkan dengan obat pembanding yaitu tetrasiklin.

Dari data hasil pengujian mikrodilusi di atas, aktivitas antibakteri dari ekstrak metanol dari daun bayam duri memiliki MIC pada konsentrasi 1024 $\mu\text{g/ml}$ bakteri yaitu *Streptococcus alpha* dan *Streptococcus beta haemolyticus* sedangkan untuk bakteri *Klebsiella pneumonia*, *Streptococcus pneumonia* memiliki MIC pada konsentrasi 256 dan 512 $\mu\text{g/ml}$. aktivitas antibakteri dari ekstrak metanol dari herba cakar ayam memiliki MIC pada konsentrasi 512 $\mu\text{g/ml}$ bakteri yaitu *Streptococcus alpha* dan *Streptococcus beta haemolyticus* sedangkan untuk bakteri *Klebsiella pneumonia* dan *Streptococcus*

pneumonia, memiliki MIC pada konsentrasi 1024 $\mu\text{g/ml}$. Aktivitas antibakteri infus dari herba cakar ayam memiliki MIC pada konsentrasi 1024 $\mu\text{g/ml}$ bakteri yaitu *Streptococcus alpha* dan *Streptococcus Pneumonia haemolyticus* sedangkan untuk bakteri *Klebsiella pneumonia* dan *Streptococcus beta*, memiliki MIC pada konsentrasi 512 $\mu\text{g/ml}$. Aktivitas antibakteri infus dari daun bayam duri memiliki MIC dan MBC melebihi dari 1024 $\mu\text{g/ml}$ terhadap keempat bakteri yaitu *Klebsiella pneumonia*, *Streptococcus pneumonia*, *Streptococcus alpha* dan *Streptococcus beta haemolyticus*.

Ini berarti jika dibandingkan dengan obat standart dalam hal ini adalah tetrasiklin atau dengan ekstrak etanol dari daun bayam duri dan herba cakar ayam diasumsikan bahwa infus dan ekstrak metanol daun bayam duri dan herba cakar ayam tidak memberikan aktivitas antibakteri yang baik jika akan digunakan sebagai obat.

Aktivitas antibakteri pada tanaman tersebut di atas ini diduga karena kandungan kimia yang dimiliki oleh kedua ekstrak tanaman tersebut.

Kesimpulan

Berdasarkan pengujian aktivitas antibakteri terhadap infus, ekstrak metanol dan ekstrak etanol daun bayam duri dan herba cakar ayam, dengan metode *broth microdilution*, terlihat bahwa ekstrak yang paling aktif adalah ekstrak etanol daun bayam duri dan ekstrak etanolik herba cakar ayam pada bakteri, *Streptococcus Pneumonia*, *Streptococcus haemolyticus alpha*

dan *Streptococcus haemolyticus* beta dan *Klebsiella pneumoniae*.

Daftar Pustaka

- Aniel KO, Mutyala NL, Raja KG. 2010. Antibacterial evaluation of snake weed (*Euphorbia hirta* L.). *Journal of Phytology* 2(3):08–12.
- Antoniadou A, Kontopidou F, Poulakou G, Koratzanis E, Galani I, Papadomichelakis E, Kopterides P, Souli M, Armaganidis A, Giamarellou H. 2006. Colistin-resistant isolates of *Klebsiella pneumoniae* emerging in intensive care unit patients: first report of a multiclonal cluster. *J Antimicrob Chemother.* 59(4): 786-790.
- Anonim. 2005. *Tanaman obat Indonesia* [online]. Available from: URL: http://www.iptek.net.id/cakra_obat/tanamanobat.php?id=54. [15 Juni 2011].
- Ariyanti R, Wahyuningtyas N, Wahyuni A. 2009. Pengaruh pemberian infusa daun salam terhadap penurunan kadar asam urat mencit putih yang diinduksi dengan potassium oxonate. *Pharmacon* 8(2): 56–63.
- Basma AA, Zakaria Z, Latha LY, Sasidharan S. 2011. Antioxidant activity and phytochemical screening of the methanol extracts of *Euphorbia hirta* L. *Asian Pac J Trop Med.* (5):386-390. Epub 2011 Jun 22.
- Hariana A. 2004. *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*. Seri 1. Jakarta: Penerbit Penebar Swadaya. 72- 74.
- Hariana A. 2005. *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*. Seri 2. Jakarta: Penerbit Penebar Swadaya. 170- 172.
- Hugo and Russel. 1998. *Pharmaceutical Microbiology*. 6th edition. Toronto: McGraw- Hill.
- Hofmann J, Cetron MS, Farley MM, Baughman WS, Facklam RR, Elliott JA, Deaver KA, and Breiman RF. 2005. Prevalence of drug resistant *Streptococcus pneumoniae* in Atlanta. *N Engl J Med.* 333(8): 481.
- Kakizoe and Tadao. 2003. Chemoprevention of cancer focusing on clinical trials. *Jpn J. Clin. Oncol.* 33(9): 421-442.
- Kasper DL and Harrison TR. 2005. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 16th Ed. New York: McGraw-Hill.
- NCCLS [National Committee for Clinical Laboratory Standards]. 2008. *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically Approved Standard*. 8th edition. Volume 29. Wayne: NCCLS. 15-18.
- Sandhyarani N. 2008. *Klebsiella pneumoniae*. U RL www.buzzle.com/articles/klebsiella-pneumoniae. [Mei 2011].
- Sofyan T. 2005. *Ramuan Tradisional Madura*. Jakarta: Penebar Swadaya. 39.