

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Suruhan (*Peperomia pellucida* L. Kunth) terhadap *Klebsiella pneumoniae*

Antibacterial Activity of Suruhan Leaf Extract (*Peperomia pellucida* L. Kunth) against *Klebsiella pneumoniae*

Destik Wulandari^{1*} dan Isna Jati Asih^{2*}
Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi
email: destikhakim@gmail.com

ABSTRAK

Klebsiella pneumoniae merupakan salah patogen yang merupakan bakteri gram negative penyebab penyakit pneumonia. Pengobatan infeksi bakteri *Klebsiella pneumoniae* dilakukan melalui penggunaan antibiotik. Fenomena resistensi telah mendorong pencarian antimikroba berbasis natura dimana salah satu tanaman yang mempunyai potensi besar sebagai antibakteri adalah suruhan (*Peperomia pellucida* L. Kunth).

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri, nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari ekstrak daun suruhan terhadap *Klebsiella pneumoniae* menggunakan metode dilusi cair. Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah dengan maserasi. Ekstrak yang diperoleh kemudian diujikan dengan konsentrasi 100%; 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,562%; 0,781%; 0,391% dan 0,195% (v/v).

Hasil penelitian menunjukkan ekstrak daun suruhan mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Klebsiella pneumoniae* dengan nilai KBM sebesar 25%.

Kata Kunci: *Klebsiella pneumoniae*, *Peperomia pellucida* L. Kunth, dilusi cair, KBM

ABSTRACT

Klebsiella pneumoniae is one of the pathogens which are gram negative bacteria and that causes pneumonia. Treatment of *Klebsiella pneumoniae* bacterial infection is performed through the use of antibiotics. The phenomenon of resistance has encouraged the search for natura-based antimicrobials where one of the plants with antibacterial potency is suruhan (*Peperomia pellucida* L. Kunth).

The purpose of this study was to determine the antibacterial activity, the value of the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and the Minimum Killer Concentration (KBM) from the leaf extract of suruhan leaves on *Klebsiella pneumoniae* using a liquid dilution method. The extraction method used in this study was maceration. The extract obtained tested with a concentration of 100%; 50%; 25%; 12.5%; 6.25%; 3.125%; 1.562%; 0.781%; 0.391% and 0.195% (v / v).

The results showed that leaf extract had antibacterial activity against *Klebsiella pneumoniae* with a KBM value of 25%.

Keywords: *Klebsiella pneumoniae*, *Peperomia pellucida* L. Kunth, broth dilution, MKC

PENDAHULUAN

Klebsiella pneumoniae adalah salah satu bakteri patogen menyebabkan infeksi pada manusia. Bakteri ini merupakan bakteri gram Gram negatif

yang menyebabkan infeksi pada saluran kemih, pernafasan dan menyebabkan terjadinya bakteremia pada individu yang mempunyai daya tahan tubuh lemah (Schroll, *et al.*, 2010). Infeksi yang disebabkan oleh *Klebsiella*

pneumoniae adalah infeksi nosokomial (Adisasmito & Hadinegoro, 2004). *Klebsiella pneumoniae* ditemukan pada tubuh manusia di bagian saluran napas dan feses pada sekitar 5% orang normal (Jawetz et al., 1996).

Salah satu penyakit yang diakibatkan oleh adanya infeksi *Klebsiella* adalah pneumonia yang ditandai oleh demam tinggi, lesu dan disertai batuk kering. Batuk kering akan berlanjut menjadi batuk produktif yang disertai dengan sputum berdarah dan purulent (nanah). Penyakit ini berlanjut akan menyebabkan abses, nekrosis pada jaringan paru dan fibrosis paru-paru. Angka kematian yang disebabkan oleh penyakit ini sekitar 40%-60% (Entjang 2003).

Upaya yang dilakukan untuk pengobatan yang disebabkan oleh infeksi *Klebsiella pneumoniae* adalah dengan antibiotik. Antibiotik yang biasa digunakan untuk menangani *Klebsiella pneumoniae* adalah netilmisin, amikasin, seftriakson, dan amoksisilin asam klavulanat (Refdanita et al., 2004). Solusi yang digunakan untuk mengurangi penggunaan antibiotik salah satunya adalah dengan menggunakan bahan yang berasal dari alam.

Tanaman yang mempunyai potensi besar sebagai antibakteri adalah suruhan (*Peperomia pellucida* L. Kunth). Tumbuhan ini sangat mudah tumbuh diberbagai tempat terutama di daerah tropis yang lembab. Senyawa aktif yang terkandung dalam tanaman ini diantaranya adalah tanin dan flavonoid, dimana kedua senyawa ini dapat berperan sebagai antimikroba. Wei et al (2011) menyatakan bahwa

tanaman suruhan mempunyai potensi sebagai antimikroba. Berdasarkan penelitian yang pernah dilakukan yang menyatakan bahwa daun suruhan mempunyai aktivitas antimikroba maka perlu dilakukan penelitian lainnya untuk menguji senyawa aktif pada daun suruhan dalam menghambat dan membunuh bakteri, salah satunya adalah *Klebsiella pneumoniae*.

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun suruhan, bakteri *Klebsiella pneumoniae*, media *Muller Hinton Agar* (MHA), *Brain Brain Heart Infusion* (BHI), *Nutrient agar* (NA), etanol 70%, quadest, DMSO, cat Gram A, Gram B, Gram C, dan Gram D.

Alat

Erlenmeyer, lampu spiritus, timbangan analitis, gelas Beker, gelas ukur, pipet volume, cawan Petri, tabung reaksi, inkas, jarum Ose, rak tabung reaksi, penangas air, ayakan nomer 60, oven, seperangkat alat *rotary evaporator*, pinset, gelas penyimpanan ekstrak, kertas saring, tabung ekstraksi, mikroskop, batang pengaduk, autoklaf

Jalannya Penelitian

Tahap penelitian dimulai dari identifikasi daun suruhan. Identifikasi ini bertujuan untuk menghindari kesalahan bahan sampel yang akan digunakan untuk penelitian. Tanaman suruhan di determinasi di Laboratorium Morfologi dan Sistematika Tumbuhan, fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi Surakarta.

1. Pembuatan ekstrak daun suruhan

Tumbuhan suruhan yang telah dideterminasi, diambil daunnya dan diekstraksi. Pembuatan ekstrak dilakukan dengan mengeringkan 10 kg daun suruhan yang telah dicuci bersih. Daun suruhan yang telah bersih kemudian dihaluskan dengan cara diblender hingga berbentuk serbuk yang biasa disebut dengan simplisia. Serbuk yang diperoleh kemudian diekstraksi dengan metode maserasi. Pelarut yang digunakan adalah etanol 70% dengan perbandingan antara serbuk dan pelarut adalah 1:5 selama lima hari terlindung cahaya. Selama proses maserasi sesekali diaduk. Endapan dipisahkan dengan cara disaring dan dipisahkan dari pelarutnya dengan *vaccum evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental.

2. Pembuatan suspensi bakteri

Suspensi bakteri *Klebsiella pneumoniae* yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri dengan kepadatan 10^6 CFU/ml. Pembuatan suspensi bakteri distandarisasi dengan standar McFarland 0,5 yakni setara dengan kepadatan bakteri 10^6 CFU/ml (Sutton, 2011). Pembuatan suspensi bakteri menggacu pada metode Assidqi dkk (2012). Bakteri diambil sebanyak 1 Ose dari media NA yang telah diinkubasi selama 24 jam, dimasukkan kedalam tabung yang berisi media BHI. Suspensi bakteri disetarakan kekeruhannya dengan larutan standar McFarland 0,5.

3. Identifikasi *Klebsiella pneumoniae*

Identifikasi bakteri secara mikroskopis dilakukan dengan pewarnaan Gram dan kapsul. Pewarnaan Gram untuk membedakan bakteri dalam dua golongan

berdasarkan sifat Gramnya yakni Gram positif atau negatif. *Klebsiella pneumoniae* termasuk bakteri Gram negatif yang ditandai dengan warna merah pada sel bakteri diakhir pewarnaan. Pewarnaan Gram dimulai dengan membuat preparat apusan pada objek glass dan dilakukan fiksasi. Selanjutnya apusan ditetesi dengan Gram A (kristal violet) kemudian ditetesi dengan Gram B (mordant) kemudian ditetesi Gram C (pelarut), dan terakhir ditetesi dengan Gram D (safranin). Preparat kemudian diamati dibawah mikroskop perbesaran 100x

Pewarnaan kapsul dilakukan dengan menggunakan metode *Burry Gins*. Dua buah objek glass disiapkan, kemudian satu tetes tinta cina diletakkan disalah satu ujung objek glass dan dicampurkan dengan 1 tetes biakan *Klebsiella pneumoniae*. Apusan dibuat dengan menggunakan objek glass yang lain dan dibiarkan kering tanpa difiksasi. Preparat apusan kemudian ditetesi dengan kristal violet dan didiamkan selama 2 menit kemudian kelebihan cat dicuci dengan air mengalir. Selanjutnya preparat dikeringkan dan diamati dengan mikroskop pada perbesaran 100x.

4. Penentuan KHM dan KBM.

Uji aktivitas anti bakteri dengan metode dilusi dilakukan untuk menentukan nilai KHM dan KBM. Penelitian ini menggunakan 12 tabung reaksi yang terdiri dari 10 konsentasi pengenceran yakni 100%; 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,562%; 0,781%; 0,391%; 0,195% dan kontrol negatif serta kontrol positif. Pengencer yang digunakan untuk membuat seri pengenceran adalah DMSO 2%

KHM dari ekstrak daun suruhan diperoleh dengan cara menambahkan 0,5 ml biakan cair *Klebsiella pneumoniae* dengan kepadatan 10^6 CFU/ml ke dalam masing-masing tabung reaksi yang berisi 1 ml larutan uji dengan berbagai seri pengenceran. Tabung reaksi tersebut diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37° C. Pertumbuhan bakteri ditandai dengan terjadinya kekeruhan pada tabung reaksi yang berisi ekstrak etanol daun suruhan. Kekeruhan yang dihasilkan selanjutnya dibandingkan dengan kontrol.

Penentuan KBM dilakukan dengan metode *streak plate*. Kultur ulang ini dilakukan dengan menggoreskan larutan pada tabung reaksi yang tetap bening setelah dilakukan perlakuan (hasil KHM) pada media MHA. Kultur diinkubasi selama 24-48 jam dalam suhu 37° C. KBM diperoleh dengan cara melihat ada tidaknya koloni bakteri yang tumbuh. Media MHA yang tidak ditumbuhi bakteri ditentukan sebagai KBM.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Determinasi dan pembuatan ekstrak daun suruhan

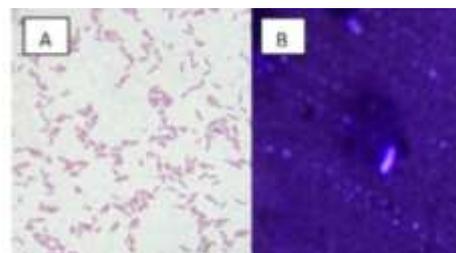
Tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman suruhan yang telah diidentifikasi di Laboratorium Morfologi dan Sistematika Tumbuhan, Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi Surakarta. Daun suruhan yang digunakan dalam penelitian ini adalah seberat 60 kg, dikeringkan dan dibuat serbuk. Serbuk yang diperoleh adalah sebesar 650 gr. Serbuk kemudian diekstrak menggunakan pelarut etanol 70% dan

jumlah ekstrak yang diperoleh adalah sebesar 114 gr dengan rendemen sebesar 17,53%.

2. Identifikasi *Klebsiella pneumoniae*

Identifikasi dilakukan secara mikroskopis yakni dengan cara pewarnaan Gram dan pewarnaan kapsul, selain itu juga dilakukan identifikasi secara biokimia dengan ditanam di media KIA, SIM, LIA dan Citrat.

Hasil pewarnaan Gram pada *Klebsiella pneumoniae* menunjukkan warna sel adalah merah, sehingga disimpulkan bahwa *Klebsiella pneumoniae* bersifat Gram negatif. Bentuk sel dari bakteri ini adalah batang pendek dan tidak berkoloni. Metode pewarnaan kapsul yang digunakan adalah metode Burri-Gins. Hasil pewarnaannya adalah sel bakteri berwarna violet (ungu), latar belakang berwarna hitam dan kapsul akan berwarna transparan (Gambar 1A.). Kapsul pada bakteri tidak berwarna dikarenakan kapsul pada bakteri mudah ditembus oleh cat warna tetapi tidak dapat mengikat cat warna (Gambar 1B).



Gambar 1. Pewarnaan Gram, sel berwarna merah (A), pewarnaan kapsul dengan menggunakan metode Burri-Gins (B).

Identifikasi lain yang digunakan untuk memastikan kebenaran *Klebsiella pneumoniae* adalah uji biokimia dengan ditanam pada media SIM, KIA, LIA dan Sitrat. Hasil uji biokimia dapat dilihat di Tabel 1 dan Gambar 2.

Tabel 1. Hasil uji biokimia

Uji	Hasil	Pustaka
SIM	---	---
KIA	A/A G ⁺ S ⁻	A/A G ⁺ S ⁻
LIA	K/K S	K/K S
Citrat	+	+



Gambar 2. Hasil uji biokimia dengan media KIA, SIM, Citrat dan LIA

3. Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun suruhan terhadap *Klebsiella pneumoniae* dengan metode dilusi

Uji aktivitas anti bakteri ekstrak daun suruhan terhadap *Klebsiella pneumoniae* menggunakan metode dilusi. Tahap pertama dalam uji aktivitas anti bakteri ini dimulai dengan pembuatan suspensi dengan cara menanam bakteri pada media BHI kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam kemudian suspensi bakteri disetarakan dengan McFarland 0,5 yang setara dengan 10⁶ CFU/ml bakteri.

Suspensi bakteri yang sudah dihitung kepadatannya kemudian

digunakan untuk uji antibakteri dengan metode dilusi untuk nilai KHM) dan KBM) ekstrak daun suruhan terhadap *Klebsiella pneumoniae*. Nilai KHM tidak dapat diketahui karena warna ekstrak daun suruhan yang gelap yakni hijau tua sehingga kekeruhan yang diakibatkan oleh pertumbuhan bakteri tidak dapat dilihat (Gambar 3). Dzen (2003) salah satu cara yang dapat dilakukan untuk menentukan nilai KHM jika hasil ekstrak terlalu keruh adalah dengan cara difusi cakram atau metode *E test*. Pertumbuhan bakteri terjadi pada kontrol positif yang berisi biakan bakteri, sedangkan pada kontrol negatif yang berisi ekstrak daun suruhan tidak terjadi pertumbuhan bakteri.



Gambar 3. Uji aktivitas antibakteri dengan metode dilusi

Keterangan:

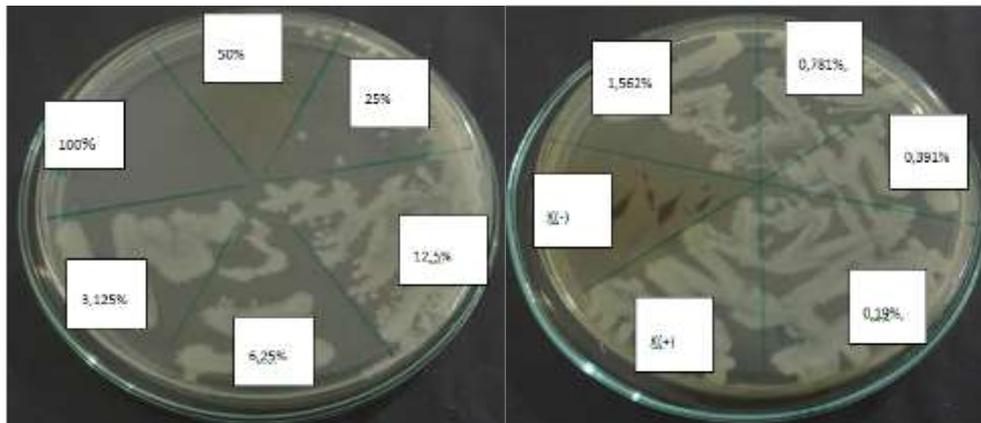
- A: ekstrak daun Suruhan 100% + bakteri *Klebsiella pneumoniae*
- B: ekstrak daun Suruhan 50% + bakteri *Klebsiella pneumoniae*
- C: ekstrak daun Suruhan 25% + bakteri *Klebsiella pneumoniae*
- D: ekstrak daun Suruhan 12,5% + bakteri *Klebsiella pneumoniae*
- E: ekstrak daun Suruhan 6,25% + bakteri *Klebsiella pneumoniae*
- F: ekstrak daun Suruhan 3,125% + bakteri *Klebsiella pneumoniae*
- G: ekstrak daun Suruhan 1,562% + bakteri *Klebsiella pneumoniae*

- H: ekstrak daun Suruhan 0,781%, + bakteri *Klebsiella pneumoniae*
- I: ekstrak daun Suruhan 0,391% + bakteri *Klebsiella pneumoniae*
- J: ekstrak daun Suruhan 0,19%, + bakteri *Klebsiella pneumoniae*
- K(+): Suspensi Bakteri
- K(-): Ekstrak daun suruhan 100%

Penentuan nilai KBM dilakukan dengan cara menggoreskan campuran pada masing-masing tabung reaksi hasil uji aktivitas bakteri dengan teknik dilusi cair ke media MHA (Gambar 4).

Hasil positif ditandai dengan terjadinya pertumbuhan bakteri di media MHA. Hasil penggoresan dapat dilihat di Tabel 2

Data yang diperoleh dari hasil penggoresan setiap konsentrasi hasil uji aktivitas antibakteri metode dilusi cair pada media MHA menunjukkan pada replikasi 1 dan 2 nilai KBM ekstrak daun suruhan terhadap *Klebsiella pneumoniae* adalah 25%. Hal ini ditunjukkan dengan tidak ditumbuhinya bakteri 25% di kuadran pada konsentarsi 25%.



Gambar 4. Hasil uji penentuan nilai KBM dengan penggoresan pada media MHA

Tabel 2. Penentuan nilai KBM dengan penggoresan pada media MHA

Konsentrasi (%)	Replikasi		
	1	2	3
50	-	-	-
25	-	-	+
12,5	+	+	+
6,25	+	+	+
3,125	+	+	+
1,562	+	+	+
0,781	+	+	+
0,391	+	+	+
0,19	+	+	+

K +	+	+	+
K -	-	-	-

- + : terdapat pertumbuhan bakteri
- : tidak terdapat pertumbuhan Bakteri

KESIMPULAN

1. Ekstrak daun *Piperomia pellucida* L. Kunt) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Klebsiella pneumoniae*.
2. Secara *in vitro* nilai KHM, ekstrak daun suruhan terhadap *Klebsiella pneumoniae* tidak dapat ditentukan,

sedangkan nilai KBM-nya adalah sebesar 25%.

DAFTAR PUSTAKA

- Adisasmito, A. W. & Hadinegoro, S. R. S., 2004, Infeksi Bakteri Gram Negatif di ICU Anak: Epidemiologi, Manajemen Antibiotik dan Pencegahan, *Sari Pediatri*, 6 (1), 32-39.
- Azrifitria, Aziz S, Chairul. 2010. Aktivitas antibakteri ekstrak etanolik daun dan umbi *Crinum asiaticum* L. terhadap bakteri penyebab jerawat. *Majalah Farmasi Indonesia* 21(4):256-241
- Brooks GF, JS. Butel, SA Morse. 2005. *Medical Microbiologi Kedokteran*. Jakarta: Binarupa Aksara. Hlm 39-46
- Cappucino, James G., Laboratory Manual, 6th Edition. Sinauer Associates, Inc. Sunderland
- Dalimartha, S. 2006. Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 4. Puspas
- Dzen SM. 1994. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
- Edwards P.R and W. H. Ewing, 1972. *Identification of Enterobacteriaceae*. Third edition. Burgess Publishing Company.
- Entjang, I., 2003, *Mikrobiologi dan Parasitologi untuk Akademi Keperawatan*. PT Citra Aditya Bakti: Bandung
- Harbone JB, 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan Terbitan kedua*. Bandung: ITB Press.
- Hariana, H.A. 2006. Tumbuhan Obat dan Khasiatnya, seri 3 Agrisehat. Penebar Swadaya, Jakarta
- Jawetz, E, J. L., Adelberg, E. A., 1996, *Mikrobiologi Kedokteran*, Edisi XXII, Diterjemahkan oleh Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Salemba Medika.: Jakarta.
- Miranti M, Prasetyorini dan Suwary C. 2013. Perbandingan aktivitas antibakteri ekstrak etanol 30% dan 96% kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. *Ekologia* 13 (1): 9-18
- Pulak, M, Priya, A, Satya V. 2011. Ethno-medicinal, Phytochemical and Pharmacological review of an amazing medicinal herb *Peperomia pellucida* (L.) HBK, *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical*. Vol 2(4), 358-364
- Refdanita., Maksum, R., Nurgani, A., & Endang, P., 2004, *Pola Kepekaan Kuman Terhadap Antibiotika Di Ruang Rawat Intensif Rumah Sakit Fatmawati Jakarta Tahun 2001-2002*. Repositori UI
- Schroll, C., Barken, K. B., Krogfelt, K. A., & Struve, C., 2010, Role Of Type 1 And Type 3 Fimbriae In *Klebsiella pneumoniae* Biofilm Formation, *biomedcentral*. 1471-2180 / 10 / 179.
- Syarfati, Eriani dan Damhoeri. 2011. A the potential of Jarak China (*Jatropha multifida* L) Secretion in healing new-wounded mice. *Jurnal Natural* :11.
- Tarigan, I.M. br, S. Bahri dan A. Saragih. 2012. Aktivitas Antihiperurisemia Ekstrak Etanol Herba Suruhan (*Peperomia pellucida* (L.) Kunth) Pada Mencit Jantan. *Journal of Pharmaceutics and Pharmacology* 1(1):37-43.
- Wei, L.S., W. Wee, J.Y.F. Siong, & D.F. Syamsumir. 2011. Characterization of Anticancer, Antimicrobial, Antioxidant Properties and Chemical Compositions of *Peperomia pellucida* Leaf Extract. *Acta Medica Iranica* 49(10): 670-674