

Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) terhadap *Salmonella typhi* secara *In Vitro*

Antibacterial Activity of Ethanolic Extract from Tempuyung Leaf (Sonchus arvensis L.) againsts Salmonella typhi by In Vitro Study

¹Rinda Yanuarisa, ²Dini Agustina, ^{3,4}Ali Santosa

¹Mahasiswa Fakultas Kedokteran, Universitas Jember

²Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran, Universitas Jember
Jalan Kalimantan No. 37 Kampus Tegalboto Jember Kode Pos 68121

³SMF Ilmu Penyakit Dalam, RSD dr.Soebandi Jember

⁴Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Jl. dr.Soebandi No. 124, Jember 68111, Indonesia. Telp.: (+62331) 487441. Fax: (+62331) 487564
e-mail korespondensi : ichayint@gmail.com

Abstrak

Demam tifoid yang disebabkan oleh *Salmonella typhi* (*S. typhi*) merupakan penyakit endemik di Indonesia. *S. typhi* mulai resisten terhadap kloramfenikol, sehingga diperlukan penelitian tentang bahan alam sebagai obat tradisional, seperti tempuyung. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) terhadap pertumbuhan *S. typhi*. Penelitian ini adalah penelitian eksperimental semu dengan rancangan penelitian yang digunakan adalah *post test only control group design*. Perlakuan terdiri dari 8 konsentrasi ekstrak daun tempuyung dengan 4 kali pengulangan yaitu 2,5 µg/disk, 5 µg/disk, 10 µg/disk, 20 µg/disk, 30 µg/disk, 40 µg/disk, 60 µg/disk, dan 80 µg/disk. Tiap konsentrasi ekstrak diteteskan ke disk sebanyak 10 µl dan disk diletakkan pada *Mueller Hinton Agar*. Setelah itu diinkubasi selama 18 jam pada suhu 37°C. Pengamatan diameter zona hambat dilakukan dengan jangka sorong. Hasil penelitian yang diperoleh menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun tempuyung pada konsentrasi 10 µg/disk, 20 µg/disk, 30 µg/disk, 40 µg/disk, 60 µg/disk, dan 80 µg/disk dapat menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi*. Kadar Hambat Minimal ekstrak daun tempuyung adalah 10 µg/disk secara kualitatif dan 4,43 µg/disk secara kuantitatif.

Kata kunci: *Sonchus arvensis L.*, *Salmonella typhi*, antibakteri

Abstract

Tifoid fever caused by Salmonella typhi (S. typhi) is endemic disease in Indonesia. S. typhi begin to resist to chloramphenicol, so it is necessary to study about natural material as traditional medicine such as tempuyung. The aim of this research was to study antibacterial activity and Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of ethanolic extract from tempuyung leaf (Sonchus arvensis L.) againsts growth of S. typhi. This research used quasy experimental methods with post test only control group design. Treatment consisted of 8 concentrations with 5 replications was 2,5 µg/disc, 5 µg/disc, 10 µg/disc, 20 µg/disc, 30 µg/disc, 40 µg/disc, 60 µg/disc, and 80 µg/disc. As much as 10 µl from each concentration was dropped into disc and placed in Mueller Hinton Agar. Then incubated for 18 hours to 37°C. Observation of bacterial inhibition zone by using a caliper. Result of this research that the leaf extract at a concentration 10 µg/disc, 20 µg/disc, 30 µg/disc, 40 µg/disc, 60 µg/disc, and 80 µg/disc can inhibit the growth of Salmonella typhi. Minimum Inhibitory Concentration of ethanolic extract from tempuyung leaf was 10 µg/disc qualitatively and 4,43 µg/disc quantitatively.

Key words: *Sonchus arvensis L.*, *Salmonella typhi*, antibacterial

Pendahuluan

Indonesia merupakan salah satu negara yang sedang berkembang. Sebagai negara yang sedang berkembang, Indonesia memiliki berbagai masalah kesehatan, terutama penyakit infeksi. Indonesia yang termasuk negara tropis ini mempunyai berbagai penyakit infeksi endemik, salah satu penyakit tersebut adalah demam tifoid (Widodo, 2009). Menurut data *World Health Organization* (WHO) tahun 2003, terdapat 17 juta kasus demam tifoid di seluruh dunia dengan angka kematian mencapai 600.000 kasus per tahun. Pada tahun 2000, diperkirakan bahwa lebih dari 2,16 juta episode tifoid terjadi di seluruh dunia dan terjadi 216.000 kematian.

Lebih dari 90% dari morbiditas dan mortalitas ini terjadi di Asia. Di Indonesia, ada sekitar 900.000 kasus per tahun dengan angka kematian mencapai 20.000 kasus. Menurut laporan WHO, 91% kasus demam tifoid terjadi pada usia 3-19 tahun (WHO, 2003). Hasil Riset Kesehatan Dasar tahun 2007 menunjukkan bahwa persentase penduduk yang terjangkit demam tifoid dibandingkan dengan seluruh penduduk di Indonesia sebesar 1,6% (Risksedas, 2007). Insidensi demam tifoid bervariasi di setiap daerah dan biasanya terkait dengan sanitasi lingkungan. Di daerah rural seperti Jawa Barat ditemukan 157 kasus per 100.000 penduduk, sedangkan di daerah urban ditemukan 760-810 per 100.000 penduduk (Widodo, 2009).

Saat ini banyak bakteri yang resisten terhadap berbagai antibiotik, salah satunya adalah *S. typhi*. Selama 10 tahun terakhir, *S. typhi* dengan *plasmid-encoded* resisten terhadap kloramfenikol yang sebelumnya adalah *drug of choice* untuk demam tifoid. Resistensi ini terjadi di negara Indian *subcontinent*, Asia Tenggara, dan Afrika (Gama, 2012). Banyaknya kejadian resistensi terhadap antibiotik menyebabkan berkembangnya penelitian mengenai obat-obat tradisional dalam bidang kesehatan. Salah satu tanaman yang bermanfaat dalam bidang kesehatan adalah daun tempuyung (*Sonchus arvensis L.*).

Daun tempuyung memiliki banyak manfaat, antara lain sebagai diuretik, pereda batuk, dan penurun kadar kolesterol. Selain itu daun tempuyung juga

dapat mengatasi berbagai penyakit, seperti batu ginjal dan batu empedu (Cendrianti et al, 2013). Secara umum daun tempuyung mengandung triterpenoid, flavonoid, inositol, manitol, dan kalium (Sulaksana et al, 2004). Triterpenoid banyak ditemukan dalam famili Asteraceae. Senyawa triterpenoid dan turunannya dilaporkan mempunyai aktivitas sebagai antibakteri terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* (Sukadana dan Santi, 2011). Penelitian tentang aktivitas antibakteri daun tempuyung terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* juga pernah dilakukan oleh Rumondang et al., (2013). Penelitian tersebut menunjukkan bahwa ekstrak daun tempuyung dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus* (Rumondang et al, 2013).

Tujuan penelitian adalah membuktikan adanya aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) terhadap pertumbuhan *Salmonella typhi* dan untuk menentukan konsentrasi minimum ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) yang mampu menghambat pertumbuhan *S. typhi*.

Subyek dan Metode

Jenis penelitian yang digunakan adalah *Quasi Experimental Design* dengan rancangan penelitian *Post test only Control Group Design*. Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah koloni bakteri *Salmonella typhi* dari *stock culture* milik Fakultas Kedokteran Universitas Jember yang disesuaikan dengan standar 0,5 Mc Farland ($1-1,5 \times 10^8$ CFU/ml).

Tanaman tempuyung diperoleh dari Kebun Raya Purwodadi yang telah diidentifikasi. Pembuatan Ekstrak dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Jember. Uji aktivitas antibakteri dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Daun tempuyung dicuci bersih kemudian dikeringkan dengan menganggi-anginkan selama 3 hari. Kemudian daun tempuyung dihaluskan menggunakan *blender* kemudian diayak. Selanjutnya direndam dalam etanol 96% selama kurang lebih 3 hari lalu disaring menggunakan kertas saring. Setelah itu dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*.

Analisis Data

Rancangan penelitian ini, sampel dibagi menjadi kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Kelompok kontrol adalah kontrol positif yaitu kloramfenikol dan kelompok kontrol negatif yaitu DMSO. Perlakuan terdiri dari 8 konsentrasi ekstrak daun tempuyung dengan 4 kali pengulangan yaitu 2,5 µg/disk, 5 µg/disk, 10 µg/disk, 20 µg/disk, 30 µg/disk, 40 µg/disk, 60 µg/disk, dan 80 µg/disk. Tiap konsentrasi ekstrak diteteskan ke disk sebanyak 10 µl dan disk diletakkan pada Mueller Hinton Agar. Setelah itu diinkubasi selama 18 jam pada suhu 37°C. Diameter zona hambat diukur menggunakan jangka sorong. Data selanjutnya dianalisis menggunakan uji *Shapiro Wilk*, uji korelasi *Spearman*, dan uji regresi logaritmik.

Hasil

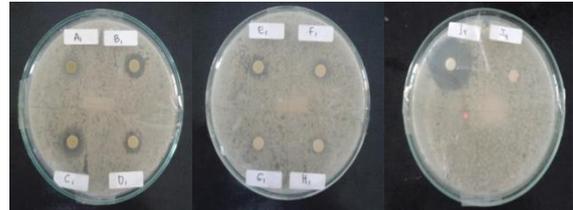
Hasil penelitian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun tempuyung terhadap pertumbuhan *Salmonella typhi* dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rata-rata diameter zona hambat pertumbuhan *Salmonella typhi*

Konsentrasi (µg/disk)	Diameter rata-rata (mm)	Keterangan
K (-)	6,0	Resisten
2,5	6,0	Resisten
5	6,0	Resisten
10	7,1	Sensitif
20	8,2	Sensitif
30	8,9	Sensitif
40	14,3	Sensitif
60	10,8	Sensitif
80	8,9	Sensitif
K (+)	28,5	Sensitif

Berdasarkan Tabel 1., zona hambat mulai terbentuk pada konsentrasi 10 µg/disk. Mulai konsentrasi 10 µg/disk hingga 40 µg/disk rata-rata mengalami peningkatan diameter zona hambat. Hal tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak, maka semakin lebar diameter zona hambat yang terbentuk. Setelah konsentrasi 40 µg/disk, yaitu

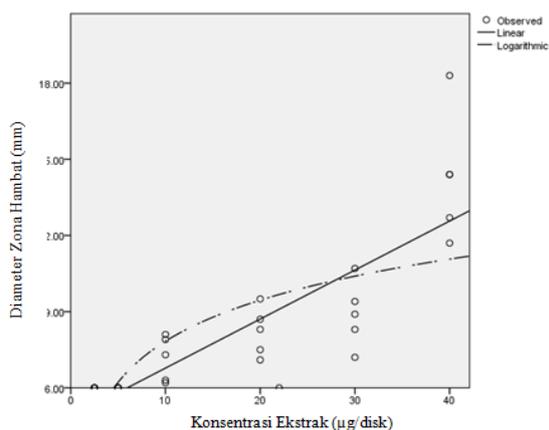
konsentrasi 60 µg/disk dan 80 µg/disk diameter zona hambat yang terbentuk mulai menurun. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) mempunyai aktivitas antibakteri dalam menghambat pertumbuhan *S. typhi* secara *in vitro*.



Gambar 1. Diameter zona hambat pertumbuhan *S. typhi*

Analisis data yang pertama kali dilakukan adalah uji normalitas data menggunakan uji *Shapiro Wilk*. Uji ini dipilih karena jumlah sampel yang digunakan ≤ 50 . Hasil uji *Shapiro Wilk* didapatkan nilai $p = 0,000$ dan nilai $\alpha = 0,05$. Nilai $p < \alpha$ ($p < 0,05$) menunjukkan data tidak terdistribusi secara normal. Kemudian data ditransformasi dan didapatkan nilai signifikansi kurang dari 0,05 sehingga dapat ditarik kesimpulan bahwa data tidak terdistribusi normal. Setelah diuji normalitas dilanjutkan uji korelasi *Spearman* karena data tidak terdistribusi normal. Hasil uji korelasi *Spearman* didapatkan nilai $p = 0,000$. Nilai $p < 0,05$ membuktikan bahwa terdapat korelasi yang signifikan antara variabel bebas dan variabel terikat. Hasil uji korelasi *Spearman* juga didapatkan nilai koefisien korelasi antara konsentrasi ekstrak dan diameter zona hambat sebesar 0,881. Nilai koefisien yang mendekati 1 maka dapat disimpulkan bahwa hubungan antara konsentrasi ekstrak etanol daun tempuyung dengan diameter zona hambat sangat kuat.

Selanjutnya dilakukan uji regresi logaritmik untuk menentukan KHM secara kuantitatif. Gambar 2 menunjukkan grafik dari hasil uji regresi logaritmik. Hasil uji regresi logaritmik didapatkan persamaan $y = 2,333 + 2,461 \ln X$, didapatkan nilai $\ln X = 1,49$, sehingga didapatkan nilai X sebesar 4,43. Jadi, didapatkan KHM secara kualitatif sebesar 10 µg/disk dan secara kuantitatif sebesar 4,43 µg/disk.



Gambar 2. Grafik hasil uji regresi logaritmik

Diskusi

Hasil dari penelitian ini adalah ekstrak etanol daun tempuyung memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan *S. typhi* secara *in vitro*. Hal tersebut dapat dibuktikan dengan terbentuknya zona bening di sekitar dan di bawah disk setelah ditetesi ekstrak etanol daun tempuyung dalam berbagai konsentrasi. Zona bening tersebut menandakan penghambatan pertumbuhan *S. typhi* secara *in vitro*.

Disk yang ditetesi DMSO sebagai kontrol negatif, terlihat pada Gambar 1 di sekitar dan di bawah disk tidak terbentuk zona hambat. Kontrol negatif yang tidak membentuk zona hambat ini membuktikan DMSO yang digunakan sebagai pelarut ekstrak, tidak memiliki aktivitas untuk menghambat pertumbuhan *S. typhi* secara *in vitro*. Selain itu, dengan adanya kontrol negatif membuktikan bahwa ekstrak yang diuji mempunyai efek terhadap pertumbuhan *S. typhi* (Emrizal et al, 2012).

Kontrol positif yang digunakan pada penelitian ini adalah kloramfenikol. Di sekitar ataupun di bawah disk yang telah ditetesi suspensi kloramfenikol, terlihat adanya zona bening yang menunjukkan penghambatan pertumbuhan terhadap *S. typhi*. Hasil kontrol positif menunjukkan adanya zona hambat rata-rata sebesar 28,5 mm. Bakteri dianggap masih sensitif terhadap kloramfenikol apabila diameter zona hambat yang terbentuk lebih dari 18 mm (WHO, 2003). Jadi, pada penelitian ini *S. typhi* sensitif terhadap kloramfenikol.

Data hasil penelitian dapat dilihat pada Tabel 1. Berdasarkan tabel tersebut dapat dilihat bahwa pada konsentrasi ekstrak 2,5 µg/disk dan 5 µg/disk tidak terdapat zona hambat di sekitar disk. Hal ini berarti pada konsentrasi tersebut, ekstrak belum dapat menghambat pertumbuhan bakteri karena konsentrasi ekstrak daun tempuyung masih sangat rendah sehingga tidak mampu merusak membran sel dan mengganggu proses fisiologi sel bakteri (Cowan, 1999). Sementara itu mulai konsentrasi 10 µg/disk sampai konsentrasi 40 µg/disk mengalami peningkatan diameter zona hambat. Diameter zona hambat yang semakin besar pada konsentrasi 10 µg/disk sampai konsentrasi 40 µg/disk menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol daun tempuyung maka semakin besar efek antibakteri yang ditunjukkan dengan semakin besarnya zona hambat. Penurunan diameter zona hambat pada konsentrasi ekstrak etanol daun tempuyung disebabkan pada saat pengenceran secara bertingkat, terjadi pengurangan zat aktif dari ekstrak etanol daun tempuyung sehingga efek antibakterinya pun berkurang (Sari dan Suryani, 2014).

Berbeda dengan konsentrasi 10 µg/disk hingga konsentrasi 40 µg/disk, pada konsentrasi 60 µg/disk dan 80 µg/disk zona hambat yang terbentuk semakin kecil. Kondisi ini memperlihatkan efek hormesis bahan kimia, yaitu fenomena menurunnya presentase hambatan saat konsentrasi ekstrak tertinggi. Efek hormesis ditunjukkan dengan adanya peningkatan efek ekstrak pada konsentrasi rendah dan penurunan efek ekstrak pada titik tertentu saat ekstrak mencapai konsentrasi yang tinggi (Calabrese dan Baldwin, 1998). Faktor-faktor yang berpengaruh terhadap diameter zona hambat yang dihasilkan pada metode difusi antara lain kecepatan difusi, sifat media agar yang digunakan, jumlah organisme yang diinokulasi, serta konsentrasi bahan kimia (Ariyanti et al, 2012).

Sifat antibakteri dari ekstrak etanol daun tempuyung didapat dari senyawa flavonoid dan triterpenoid. Flavonoid memiliki mekanisme kerja dalam menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara inaktivasi protein pada membran sel (Singh et al, 2005). Flavonoid berikatan dengan protein melalui ikatan hidrogen sehingga mengakibatkan struktur

protein menjadi rusak. Sebagian besar struktur dinding sel dan membran sitoplasma bakteri mengandung protein dan lemak, sehingga mengakibatkan ketidakstabilan pada dinding sel dan membran sitoplasma. Ketidakstabilan tersebut mengakibatkan fungsi permeabilitas selektif, fungsi pengangkutan aktif, pengendalian susunan protein dari sel bakteri menjadi terganggu, yang akan berakibat pada hilangnya makromolekul dan ion dari sel, sehingga sel bakteri menjadi kehilangan bentuk dan terjadi lisis (Susanti, 2008).

Mekanisme triterpenoid sebagai antibakteri dengan cara bereaksi dengan porin (protein transmembran) yang terdapat pada membran luar dinding sel bakteri. Kemudian akan terbentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri dan mengakibatkan sel bakteri kekurangan nutrisi sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (Cowan, 1999).

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *Salmonella typhi*. Konsentrasi terkecil dari ekstrak daun tempuyung yang mampu menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi* adalah 10 µg/disk secara kualitatif dan 4,43 µg/disk secara kuantitatif.

Saran dari penelitian ini adalah perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui Kadar Bunuh Minimal ekstrak etanol daun tempuyung dan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui kandungan, jumlah, dan proporsi bahan aktif dari ekstrak etanol daun tempuyung, serta penelitian tentang ekstrak daun tempuyung menggunakan pelarut lain seperti etanol 70% dan air.

Daftar Pustaka

Ariyanti NK, Darmayasa IBG, Sudirga SK. 2012. *Daya Hambat Ekstrak Kulit Daun Lidah Buaya (Aloe barbadensis Miller) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus ATCC 25923 dan*

Escherichia coli ATCC 25922. Jurnal Biologi. 2012; 16(1): 1-4.

Badan Peneliti dan Pengembangan Kesehatan. 2007. Laporan Hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) Nasional. Jakarta: Badan Peneliti dan Pengembangan Kesehatan; 2007.

Calabrese EJ, Baldwin LA. 1998. *Hormesis as a Biological Hypothesis*. Environmental Health Perspective. 1998; 106(1): 357-362.

Cendrianti F, Siti M, Evi UU. 2013. *Uji Aktivitas Ekstrak N-Heksana, Etil Asetat, dan Etanol 70% Daun Tempuyung (Sonchus arvensis L.) pada Mencit Jantan Hiperurisemia*. Artikel Ilmiah Hasil Penelitian Mahasiswa. 2013.

Cowan MM. 1999. *Plant Product as Antimicrobial Agents*. Clinical Microbiology Review. 1999; 12(4): 564-582.

Emrizal, Fernando, Suryani, Ahmad, Sirat, Arbain. 2012. *Isolasi Senyawa dan Uji Aktivitas Anti-inflammasi Ekstrak Metanol Daun Puwar Kincung (Nicolaia speciosa Horan)*. Jurnal Penelitian Farmasi Indonesia. 2012; 1(1):1-5.

Garna H. 2012. *Buku Ajar Divisi Infeksi dan Penyakit Tropis*. Jakarta: Sagung Seto; 2012.

Rumondang M, Kusri D, Fachriyah E. 2013. *Isolasi, Identifikasi, dan Uji Antibakteri Senyawa Triterpenoid dari Ekstrak N-Heksana Daun Tempuyung (Sonchus arvensis L.)*. Chem Info. 2013; 1 (1): 56-164.

Sari M, Suryani C. 2014. *Pengaruh Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (Averrhoa bilimbi L.) dalam Menghambat Pertumbuhan Jamur Candida albican Secara In Vitro*. Prosiding Seminar Nasional Biologi dan Pembelajarannya. 2014.

Singh IP, Bharate SB, Bhutani KK. 2005. *Anti-HIV Natural Product*. Jurnal Current Science. 2005; 89(2): 269-290.

Sukadana IM, Santi SR. 2011. *Senyawa Antibakteri Bis (2-Etilheksil) Ester dan Triterpenoid dalam Ekstrak n-Heksana Daun Tempuyung (SonchusArvensis L.)*. Majalah Obat Tradisional. 2011; 16(1): 1-6.

Sulaksana J, Santoso B, Jayusman DI. 2004.

Tempuyung: Budi Daya dan Pemanfaatan untuk Obat. Cetakan Pertama. Jakarta: Penebar Swadaya; 2004.

Susanti A. 2008. *Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Beluntas (Pluchea indica Less) terhadap Escherichia coli secara In Vitro*. Jurnal Universitas Airlangga. 2008; 1(1).

Widodo D. Demam Tifoid. 2009. In: Sudoyo AW, editor. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid III*. Jakarta: Interna Publishing; 2009. p 2797-2806

World Health Organization. 2003. *Background document: The diagnosis, Treatment and Prevention of Typhoid Fever*. Geneva: World Health Organization; 2003.

World Health Organization. 2003. *Manual for the Laboratory Identification and Antimicrobial Susceptibility Testing of Bacterial Pathogens of Public Health Importance in the Developing World*. Geneva: World Health Organization; 2003.