

Potensi Antibakteri Ekstrak Daun Kluwih (*Artocarpus camansi* Blanco) terhadap *Shigella dysenteriae* dan *Bacillus subtilis*

Antibacterial Potency from Ethanol Extract Leaves of Kluwih (Artocarpus camansi Blanco) against Shigella dysenteriae and Bacillus subtilis

Amelia, Sogandi^{*})

Fakultas Farmasi, Universitas 17 Agustus 1945 Jakarta, Jalan Sunter Permai, Jakarta Utara

*E-mail: sogandi@uta45jakarta.ac.id

ABSTRACT

Gastrointestinal infection is a common infection in Indonesia. Many bacteria could cause gastrointestinal disorder, including *Shigella dysenteriae* and *Bacillus subtilis*. Currently, they are treated using chemical and traditional drugs. One of the common plants in Indonesia is Kluwih (*Artocarpus camansi*). The objective of our study is to determine antibacterial activity and inhibitory mechanism of Kluwih leaf extract against pathogenic bacteria which cause gastrointestinal infection, i.e. *Shigella dysenteriae* and *Bacillus subtilis*. The extraction process used maceration technique using 96% ethanol solvent and the antibacterial activity was studied using agar diffusion method. The research result showed that Kluwih leaf extract had inhibitory power with KHM (minimum inhibitory concentration) value of 25% against *S. dysenteriae* and 6.25% against *B. subtilis*. The present study also revealed that Kluwih leaf was suspected to have inhibitory activity against bacteria by making holes in the membrane of bacterial cell, leading to the release of nucleic acid and protein and cell death.

Keywords: antibacterial, *Artocarpus camansi*, kluwih, *Shigella dysenteriae*, *Bacillus subtilis*.

PENDAHULUAN

Infeksi saluran pencernaan merupakan infeksi yang sering ditemui di Indonesia. Banyak bakteri yang dapat menyebabkan gangguan fungsi saluran cerna diantaranya adalah *S. dysenteriae* dan *B. subtilis*. Beberapa spesies *Shigella* menyebabkan penyakit menular yang disebut shigellosis. *S. dysenteriae* yang merupakan bakteri Gram negatif ini mensekresikan jenis protein eksotoksin pada fase pertumbuhan eksponensial yang memiliki sifat spesifik. Anak-anak yang terjangkit *shigella* dapat menderita demam tinggi bahkan sampai mengalami kejang. Hal ini yang menyebabkan diare, demam dan kram perut terjadi setelah terinfeksi bakteri serta diare sering berdarah (Susanti & Sunarsih, 2016). Bakteri *Bacillus subtilis* adalah jenis bakteri Gram positif, biasanya dapat mencemari makanan dan bila dalam jumlah banyak di usus mampu menyebabkan gangguan pencernaan berupa diare, seperti yang pernah terjadi di taman kanak-kanak tahun 2005 di Kroasia yang disebabkan oleh susu bubuk (Ropac, 2005).

Sejak dahulu masyarakat Indonesia sudah mengenal berbagai macam bahan alam yang dapat dimanfaatkan untuk menanggulangi dan mengobati berbagai jenis macam penyakit yang biasa kita kenal dengan pengobatan tradisional.

Pengobatan tradisional menggunakan tanaman herbal saat ini masih menjadi pilihan yang dapat digunakan untuk pengobatan (Yigit, 2017). Jika dibandingkan dengan obat kimia, pengobatan tradisional memiliki kemampuan yang lebih lambat, namun penggunaan tanaman herbal sebagai bahan baku utama ini membuat pengobatan tradisional memiliki efek samping yang lebih ringan (Vigneshwaran *et al.*, 2014). Diare adalah penyakit yang sering diderita masyarakat yang disebabkan oleh bakteri dan biasanya diobati dengan tanaman herbal (Mohamedkassm *et al.*, 2013).

Daun Kluwih (*Artocarpus camansi*) merupakan salah satu jenis tanaman herbal yang sudah sering digunakan masyarakat untuk mengatasi diare. Daun Kluwih sudah diketahui mengandung senyawa fitokimia alkaloid, tannin, steroid, flavonoid, triterpenoid, glikosida, dan antrakuinon (Eryuda & Soleha, 2016). Daun Kluwih juga diketahui mengandung GABA (*Gamma Amino Butyric Acid*) (Indrowati & Ariyanto 2012). Kandungan senyawa flavonoid pada *Artocarpus altilis* juga diketahui memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi (Fakhrudin *et al.*, 2015), antibakteri, antivirus (Sikarwar *et al.*, 2014), antioksidan (Arif *et al.*, 2018) dan memiliki aktivitas untuk menurunkan kadar glukosa darah penderita diabetes mellitus

dengan dosis 50mg/kgBB (Eryuda & Soleha, 2016).

Ekstrak etanol daun *A. camansi* Blanco pada penelitian sebelumnya juga diketahui memiliki manfaat sebagai antioksidan dan aktivitas antibakteri yang cukup baik terhadap *Staphylococcus aureus* dengan nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) 25 mg/mL, *Escherichia coli* 25 mg/mL, dan *Pseudomonas aeruginosa* 50 mg/mL (Vianney *et al.*, 2018).

Aktivitas anti bakteri dari ekstrak daun Kluwih terhadap bakteri *S. aureus*, *E. coli*, dan *P. aeruginosa* telah diketahui, namun pemanfaatan daun Kluwih sebagai inhibitor pertumbuhan bakteri *S. dysenteriae* dan *B. subtilis* serta bagaimana mekanisme aksi penghambatannya belum dilaporkan. Oleh karena itu, perlu dilakukan pencarian informasi tentang aktivitas penghambatan ekstrak etanol daun Kluwih serta mekanisme penghambatannya terhadap bakteri *S. dysenteriae* dan *B. subtilis*.

METODE

Bahan

Daun Kluwih (*A. camansi*) didapatkan dari Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik (BALITTRO). Bakteri uji diperoleh dari *culture collection* INACC LIPI (Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia), Cibinong. Penelitian ini menggunakan beberapa bahan yang diantaranya adalah etanol 96%, H₂SO₄ (asam sulfat), NH₄OH (ammonium hidroksida), HCl (asam klorida), FeCl₃ (besi klorida), logam Mg (magnesium), pelarut amil alkohol, etil asetat, aquades, NaOH (natrium hidroksida), ciprofloxacin, NaCl (natrium klorida), pereaksi Mayer, Dragendorf, Lieberman-Burchard, BaCl₂ 1% (Barium klorida), Serbuk Zn (seng), *Nutrient agar* (NA), dan *Nutrient Broth* (NB).

Persiapan Simplisia

Daun Kluwih diperoleh dari BALITTRO sedangkan determinasi dilakukan di LIPI Biologi, Cibinong, Bogor. Simplisia yang telah dideterminasi, dikeringkan hingga diperoleh 1 Kg simplisia, kemudian dilakukan sortir dengan memilih daun Kluwih yang masih hijau, tidak berlubang, tidak menguning dan tidak layu, kemudian daun terpilih dibersihkan dengan cara dicuci bersih menggunakan air mengalir, kemudian dikeringkan menggunakan oven bersuhu 40°C hingga tidak ada air dan terasa lembab. Simplisia kemudian dipotong kecil-kecil, kemudian dihaluskan sampai membentuk serbuk dengan ukuran 40 mesh (Departemen Kesehatan RI, 2000).

Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Kluwih

Daun Kluwih kering sebanyak 1 Kg diekstraksi dengan perendaman dalam pelarut etanol 96% pada suhu ruang, dan dilakukan pengocokan 3 kali pengulangan dalam sehari. Kemudian disaring dan filtrat dikentalkan dengan cara diuapkan menggunakan *rotary evaporator* sampai dihasilkan ekstrak kental yang bebas dari pelarut etanol. Rendemen ekstrak etanol daun Kluwih dihitung secara gravimetri dengan cara membandingkan berat awal simplisia dengan berat akhir ekstrak setelah diuapkan (Harvey, 1959).

Pemeriksaan Karakteristik Ekstrak Perhitungan Rendemen

Nilai rendemen didapat dengan membagi berat hasil (ekstrak kental) dengan berat awal simplisia. Persentase rendemen diketahui dari perhitungan nilai kesetaraan tiap gram sampel ekstrak kental. (Departemen Kesehatan RI, 2000).

Kadar Air

Penentuan kadar air dilakukan dengan mengambil 3 gram sampel kemudian dikeringkan menggunakan oven bersuhu ±105°C selama 4 jam. Sampel kemudian didinginkan dengan menempatkan sampel kedalam desikator selama ±30 menit dan kemudian sampel ditimbang. Proses ini dilakukan berulang hingga didapatkan berat tetap (AOAC International, 1990).

Pemeriksaan bebas etanol

Uji bebas etanol pada ekstrak daun Kluwih dilakukan dengan menambahkan larutan H₂SO₄ kedalam ekstrak lalu ditambahkan lagi dengan CH₃COOH, lalu dipanaskan. Ekstrak dikatakan sudah bebas dari pelarut etanol bila tidak tercium bau khas pelarut ester (Kurniawati, 2015).

Pemeriksaan Senyawa Fitokimia Pemeriksaan Flavonoid

Sebanyak 2 mL ekstrak etanol daun Kluwih ditambahkan ke dalam tabung kaca, kemudian 1 mL larutan HCl dan serbuk magnesium juga ditambahkan dan dihomogenkan. Ekstrak etanol daun Kluwih dinyatakan mengandung senyawa fitokimia flavonoid jika terjadi perubahan warna endapan menjadi warna merah-jingga ataupun merah-ungu (Banu & Cathrine, 2015).

Pemeriksaan Alkaloid

Ekstrak kental daun Kluwih sebanyak 1 gram ditambahkan dengan 5 mL pelarut kloroform, lalu ditambahkan NH₄OH, saring dan uapkan sampai mengental, tambahkan dengan HCl 2N dan dikocok, mengambil lapisan asam lalu dibagi menjadi 3 bagian, dan memasukkan ke dalam tabung reaksi, dan menambahkan beberapa tetes pereaksi Dragendorf dan Mayer. Hasil positif akan menghasilkan endapan berwarna jingga dan putih pada masing-masing pereaksi (Departemen Kesehatan RI, 2000).

Pemeriksaan Tanin

Ekstrak etanol daun Kluwih diencerkan dengan 3 mL aquades panas sampai homogen. Setelah dingin, ditambahkan dengan 5 tetes larutan natrium klorida konsentrasi 10% kemudian disaring dan filtrat dibagi kedalam 3 tabung. Satu tabung sebagai blangko, satu tabung filtrat untuk ditambahkan dengan 3 tetes pereaksi FeCl_3 , dan sisa satu bagian filtrate lagi ditambahkan dengan gelatin. Terbentuknya warna coklat kehijauan atau biru kehitaman menandakan sample positif mengandung tannin (Ukoha *et al.*, 2011).

Pemeriksaan Senyawa Steroid dan Triterpenoid

Senyawa fitokimia steroid dan triterpenoid dalam ekstrak daun Kluwih ditentukan dengan pereaksi Lieberman-Burchard. Ekstrak daun Kluwih sebanyak 2 mL diuapkan menggunakan cawan. Ekstrak kental yang didapat kemudian dilarutkan kedalam 0,5 mL pelarut kloroform, ditambahkan 0,5 mL CH_3COOH dan dihomogenkan. Selanjutnya, ditambahkan dengan 2 mL asam sulfat pekat. Positif mengandung triterpenoid jika menghasilkan cincin berwarna kecoklatan atau violet, sedangkan untuk senyawa steroid ditunjukkan dengan menghasilkan cincin berwarna biru kehijauan (Tiwari *et al.*, 2011).

Pemeriksaan Glikosida

Senyawa glikosida dalam ekstrak etanol daun Kluwih diidentifikasi dengan menambahkan 100 μL larutan ekstrak dengan 5 mL larutan asam asetat glasial, dan 5 tetes H_2SO_4 pekat kedalam tabung reaksi. Sampel mengandung senyawa glikosida jika terbentuk endapan berwarna biru atau hijau (Rajesh *et al.*, 2014).

Pemeriksaan Fenolik

Senyawa fenolik dalam sampel daun Kluwih diidentifikasi dengan memasukkan 2 mL ekstrak daun Kluwih ke dalam tabung kaca dan menambahkan 200 μL air panas, kemudian ditambahkan dengan 3 tetes pereaksi FeCl_3 konsentrasi 3%. Keberadaan senyawa fenolik dalam ekstrak etanol daun Kluwih diketahui jika ada perubahan warna menjadi hijau kebiruan atau biru gelap (Prabhavathi *et al.*, 2016).

Pemeriksaan Saponin

Senyawa saponin diidentifikasi dengan melarutkan 1 gram ekstrak etanol daun Kluwih dalam aquades hingga seluruh sampel terlarut secara homogen, kemudian dididihkan selama 3 menit, mendingankan, dan dikocok dengan kuat. Keberadaan senyawa saponin dalam ekstrak etanol daun Kluwih diketahui jika terbentuk buih yang stabil dan tidak hilang dalam beberapa menit (Tiwari *et al.*, 2011).

Pembuatan Media

Media Nutrient Agar (NA)

Media Nutrient agar dibuat dengan cara menambahkan 23 g serbuk NA ke dalam 1L aquades dan diaduk sampai melarut sempurna, selanjutnya proses sterilisasi dilakukan dengan autoklaf

bertekanan 1 atmosfer selama 15 menit pada suhu 121°C (Sogandi *et al.*, 2019).

Media Nutrient Broth (NB)

Media Nutrient broth dibuat dengan menambahkan 25g serbuk NB kedalam 1L aquades dan dihomogenkan sampai melarut sempurna, selanjutnya disterilisasi dengan autoklaf bertekanan 1 atmosfer selama 15 menit pada suhu 121°C (Sogandi *et al.*, 2019).

Pembuatan Larutan Mc. Farland 0,5

Larutan Mc. Farland yang digunakan sebagai standar kekeruhan dibuat dengan cara mencampurkan H_2SO_4 0,18 N sebanyak 45,5 mL dengan larutan $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 1,175 % 250 μL kedalam labu Erlenmeyer dan dihomogenkan. Kekeruhan larutan diukur dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang (λ) 620 nm. Nilai absorbansi larutan Mc Farland 0,5 berada pada kisaran 0,20 sampai dengan 0,80. Jika belum diperoleh nilai absorbansi pada rentang tersebut, maka larutan diencerkan dan diukur kembali. Larutan Mc Farland 0,5 yang dibuat ini setara dengan konsentrasi sel bakteri uji sebanyak $1,5 \times 10^8$ CFU/mL.

Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Ekstrak Etanol Daun Kluwih

Nilai kadar hambat minimum (KHM) dari ekstrak etanol daun Kluwih ditentukan dengan metode dilusi cair, yaitu dengan membuat berbagai konsentrasi larutan uji yang terdiri atas 3,125%, 6,25%, 12,5%, dan 25%. Kelompok perlakuan dilakukan dengan cara, 5 mL media Nutrient Broth steril ditambahkan 5 μL suspensi bakteri uji sebanyak $1,5 \times 10^8$ CFU/mL dan 1 mL ekstrak etanol daun Kluwih dengan berbagai konsentrasi, kemudian digoyang-goyang sampai homogen. Kemudian tabung yang sudah berisi kultur bakteri tersebut diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C . Kekeruhan yang terbentuk diamati dengan membandingkan setiap tabung terhadap kontrol. Nilai konsentrasi hambat minimum ditentukan melihat konsentrasi terendah dari larutan sampel yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri yang ditandai dengan mulai adanya kejernihan (Karahana *et al.*, 2016).

Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kluwih

Sebanyak 2 mL suspensi bakteri diambil dan ditambahkan 18 mL media Nutrient Agar kemudian dimasukkan kedalam cawan petri, dan ditunggu sampai memadat. Kertas cakram uji yang sudah ditetaskan ekstrak etanol daun kluwih dalam berbagai konsentrasi (100%, 80%, 60%, 40%, 20%) diletakkan pada media Nutrient Agar. Dalam penelitian ini menggunakan aquades sebagai kontrol negatif serta ciprofloxacin 4 μg /mL sebagai kontrol positif. Cawan petri berisi sampel dan bakteri uji kemudian disimpan dalam inkubator dengan suhu konstan 37°C selama 18 jam dan kemudian dilakukan pengukuran diameter zona hambat yang

terbentuk di sekitar kertas cakram (Sogandi *et al.*, 2015).

Analisis Kebocoran Sel

Suspensi bakteri *B.s subtilis* dan *S. dysenteriae*, yang berumur 18 jam ditambahkan ekstrak etanol daun Kluwih dengan konsentrasi yang digunakan berdasarkan nilai KHM yang diperoleh sebelumnya. Terdiri atas 0 KHM sebagai kontrol, 1 KHM dan 2 KHM sebagai larutan uji. Kemudian disimpan dalam inkubator dengan suhu konstan 37°C selama 24 jam. Kultur bakteri uji kemudian disentrifugasi pada kecepatan 6000 rpm dalam suhu ruang selama 5 menit, kemudian supernatant yang diperoleh dianalisis dengan spektrofotometri pada panjang gelombang (λ) 260 nm dan 280 nm dengan tujuan melihat keberadaan asam nukleat (DNA dan RNA) dan protein yang dikeluarkan sel bakteri ke media tumbuh sebagai akibat dari lisisnya sel bakteri uji. Jika terjadi peningkatan nilai absorbansi setelah diberi perlakuan ekstrak etanol daun Kluwih, maka diasumsikan bahwa bakteri uji telah mengalami lisis dan kebocoran sehingga materi genetik berupa asam nukleat dan protein terhambur dan keluar dari sel (Sogandi & Nilasari, 2019).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Ekstrak

Rendemen Ekstrak

Ekstrak etanol yang didapatkan dari hasil maserasi simplisia daun Kluwih sebanyak 33 gram dengan rendemen sebesar 3,3%, nilai rendemen didapat dengan membagi berat hasil (ekstrak kental) dengan berat awal simplisia (Departemen Kesehatan RI, 2000).

Kadar Air

Uji penentuan kadar air dilakukan di BALITTRO yang dikerjakan dengan menggunakan serbuk daun Kluwih secara gravimetri. Menurut Nielsen (2010) kadar air dari suatu sampel dapat mempengaruhi sifat fisik sampel berupa kekerasan, kekeringan, perubahan kimia, kerusakan mikrobiologis dan terjadinya perubahan enzimatik. Oleh karena itu kadar air ditetapkan untuk dapat menjaga kualitas ekstrak agar tidak terjadi perubahan selama proses penyimpanan. Hasil penentuan kadar air pada sampel daun Kluwih diperoleh sebesar 10,71%.

Uji Bebas Etanol

Hasil ekstraksi yang diperoleh dalam penelitian ini kemudian dilakukan uji bebas etanol untuk memastikan bahwa ekstrak kental hasil maserasi yang akan digunakan sebagai sampel dalam pengujian aktivitas antibakteri ini sudah bebas dari etanol. Etanol diketahui memiliki sifat sebagai antibakteri sehingga dengan tidak adanya kandungan etanol dalam sampel uji

yang digunakan, akan menghindarkan dari timbulnya positif palsu pada perlakuan sampel nantinya (Kurniawati, 2015). Dari hasil pengujian diketahui bahwa sampel sudah bebas dari etanol dengan ditandai tidak terciumnya bau ester setelah mereaksikan ekstrak dengan asam sulfat dan asam asetat yang dipanaskan.

Skrining Fitokimia

Berdasarkan pengujian senyawa fitokimia yang dilakukan, diketahui bahwa ekstrak etanol daun Kluwih memiliki beberapa senyawa metabolit sekunder fitokimia yang dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kandungan fitokimia ekstrak daun Kluwih

Metode Pengujian	Jenis Pemeriksaan	Hasil Pemeriksaan
Kualitatif	Alkaloid	+
	Saponin	+
	Tanin	+
	Fenolik	+
	Flavonoid	+
	Triterpenoid	+
	Steroid	-
	Glikosida	+

Keterangan: (+) memberikan hasil positif, (-) memberikan hasil negatif

Ekstraksi daun Kluwih pada penelitian ini menggunakan metode maserasi dengan merendam serbuk simplisia daun Kluwih yang sudah dihaluskan ke dalam pelarut etanol yang dapat masuk ke dalam dinding sel dan rongga sel tanaman. Senyawa yang ada dalam simplisia dapat ditarik keluar dari sel disebabkan oleh adanya perbedaan konsentrasi di dalam sel dengan di luar sel. Hal ini terjadi berulang-ulang setiap kali larutan penyari diganti sampai semua senyawa terekstraksi keluar dari sel (Chan *et al.*, 2013). Pemilihan pelarut yang digunakan dalam menarik senyawa metabolit sekunder adalah etanol 96% atau *absolute*, karena untuk mengurangi konsentrasi air yang terdapat di dalam sampel uji. Hal ini karena air bisa menjadi media tempat pertumbuhan yang baik untuk mikroorganisme. Penggunaan etanol 96% yang hanya mengandung 4% air untuk membantu nutrisi masuk ke dalam sel, maka dapat mengurangi kontaminasi pada ekstrak, pelarut etanol 96% juga bersifat lebih selektif dan mampu melarutkan zat bersifat lebih polar

maupun nonpolar, memiliki absorbs yang baik, membuat kapang dan khamir sulit tumbuh, dan etanol 96% mudah menguap sehingga ekstrak kental lebih cepat diperoleh dibandingkan menggunakan pelarut etanol 70% (Yulianti *et al.*, 2014).

Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Ekstrak Etanol Daun Kluwih

Nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ditentukan dengan metode dilusi cair yaitu dilihat dari tingkat kekeruhan pada tabung reaksi yang sudah berisi media, bakteri dan larutan ekstrak etanol daun Kluwih menggunakan berbagai konsentrasi. Kontrol yang digunakan adalah media NB yang berisi suspensi bakteri uji kemudian disimpan dalam inkubator *shaker* dengan suhu konstan 37°C selama 24 jam.

Tabel 2. Hasil pengukuran KHM

Konsentrasi (%)	Hasil Pengamatan	
	<i>Shigella dysenteriae</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
1,5 %	+++	++
3,125 %	+++	+
6,25 %	++	-
12,5 %	+	-
25 %	-	-
30 %	-	-

Keterangan :

- (+) : larutan keruh
- (++) : larutan lebih keruh
- (+++): larutan paling keruh
- (-) : larutan bening

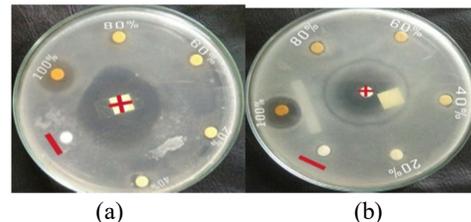
Hasil pengukuran KHM terhadap Bakteri *B. Subtilis* berdasarkan pada (Tabel 2) diatas pada konsentrasi 3,125% masih terlihat aktivitas bakteri, namun pada konsentrasi 6,25% sudah mulai terhambat ditandai dengan warna kultur bakteri yang masih jernih, sehingga konsentrasi 6,25% ini merupakan nilai KHM ekstrak etanol daun Kluwih terhadap bakteri *B. subtilis*. Hasil penelitian ini berbeda dengan nilai KHM ekstrak akar manis terhadap bakteri *B. Subtilis* yang memiliki nilai KHM 12,5% (Sogandi *et al.*, 2019). Sedangkan pada bakteri *Shigella dysenteriae* diketahui memiliki nilai KHM 25%, hal ini ditunjukkan dengan ekstrak etanol daun kluwih mulai menghambat pertumbuhan bakteri pada konsentrasi 25%, sehingga konsentrasi 25% ini ditetapkan sebagai nilai KHM. Pada penelitian sebelumnya (Sugumaran *et al.*, 2013) ekstrak

etanol daun binahong diketahui memiliki KHM 0,8 dan 0,2% untuk bakteri *S. dysenteriae* dan bakteri *B. subtilis*. Perbedaan nilai KHM ini dipengaruhi oleh banyak faktor dengan salah satunya adalah struktur dinding sel bakteri. Jika dilihat pada struktur penyusun dinding sel bakteri Gram positif lebih sederhana dibandingkan dengan struktur penyusun dinding sel yang terdapat pada bakteri Gram negatif. Hal ini mempermudah senyawa antibakteri dari ekstrak daun Kluwih dapat masuk ke dalam Gram positif dibandingkan dengan Gram negatif (Madduluri *et al.*, 2013).

Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kluwih

Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun Kluwih (*A. camansi*) terhadap bakteri uji *S. dysenteriae* dan *B. subtilis* menggunakan metode difusi cakram. Penentuan potensi antibakteri ekstrak etanol daun Kluwih ini dilihat dari luasnya diameter zona bening yang terbentuk untuk setiap konsentrasi ekstrak dengan ciprofloxacin dan akuades sebagai kontrol positif dan negatif. Sebelum digunakan dalam pengujian aktivitas antibakteri, bakteri uji ditanam ulang (*preculture*) terlebih dahulu selama 1x24 jam karena diperlukan bakteri yang berada pada fase log sebagai *starter* (Adaramoye & Akanni, 2014).

Uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. dysenteriae* maupun *B. subtilis* dilakukan dengan seri konsentrasi yang sama yaitu sebesar 20, 40, 60, 80 dan 100%. Ciprofloxacin 4µg/mL digunakan sebagai kontrol positif dan akuades sebagai kontrol negatif, dengan media adalah media *NA*. Bakteri yang telah diremajakan diambil dan diencerkan hingga didapatkan kekeruhan yang setara dengan konsentrasi 1,5 x 10⁸ CFU/mL bakteri uji, kemudian diambil 2 mL dan ditambahkan 18 mL media *NA*, kemudian dihomogenkan dan dimasukkan ke dalam cawan petri steril.



Gambar 1. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol Daun Kluwih terhadap *Shigella dysenteriae* (a) dan *Bacillus subtilis* (b)

Berdasarkan hasil penelitian pada Tabel 3 didapatkan zona hambat *S. dysenteriae* konsentrasi 100% adalah $17 \pm 1,4$ mm, pada konsentrasi 80% adalah $9 \pm 1,4$ mm, pada konsentrasi 60% adalah $7 \pm 1,2$ mm, konsentrasi 40% dan 20% adalah $6,5 \pm 0,7$ mm. Sedangkan pada bakteri *B. subtilis* zona bening yang terbentuk pada konsentrasi 100% adalah $16 \pm 1,3$ mm, konsentrasi 80% adalah $7 \pm 1,4$ mm, konsentrasi 60% adalah $7 \pm 1,5$ mm, konsentrasi 40% adalah $6,5 \pm 0,4$ mm dan pada konsentrasi 20% adalah 6 ± 0 mm.

Terbentuknya daya hambat di sekitar larutan uji diduga karena adanya aktivitas dari metabolit sekunder yang dimiliki daun kluwih diantaranya flavonoid, tanin, saponin, fenolik dan alkaloid (Inoue *et al.*, 2018). Berdasarkan hasil yang didapatkan bahwa dengan bertambahnya konsentrasi ekstrak, maka bertambah juga aktivitas antibakteri yang ditandai dengan luasnya zona bening yang dihasilkan ekstrak semakin melebar. Meningkatnya zona hambat yang terbentuk dikarenakan bertambahnya jumlah dan aktivitas ekstrak, hal tersebut menandakan semakin banyak juga senyawa yang terkandung dalam ekstrak yang berdifusi kedalam agar untuk membentuk zona hambat (Permata & Asben, 2017).

Ukuran suatu zona bening dapat memperlihatkan aktivitas dari suatu zat terhadap bakteri uji, aktivitas antibakteri dapat diklasifikasikan ke dalam beberapa kategori berdasarkan diameter zona bening yang terbentuk. Menurut Davis & Stout (1971) aktivitas ekstrak etanol daun Kluwih terhadap bakteri uji *S. dysenteriae* dan *B. subtilis* tergolong kedalam kategori yang kuat dan

kontrol positif ciprofloxacin yang digunakan dalam penelitian ini tergolong sangat kuat dengan zona bening mencapai lebih dari 20 mm. Hasil pengukuran zona hambat dan klasifikasi ini sesuai dengan standar dari Davis dan Stout (Davis & Stout, 1971).

Uji Kebocoran Sel

Hasil penelitian menunjukkan adanya peningkatan absorbansi dari supernatan sel yang ditandai dengan meningkatnya konsentrasi asam nukleat dan protein dalam media pertumbuhan bakteri yang dapat terbaca pada panjang gelombang (λ) 260 nm dan 280 nm pada alat spektrofotometri. Peningkatan absorbansi menunjukkan meningkatnya jumlah molekul yang dikeluarkan oleh sel. Jenis senyawa yang dapat diserap oleh spektrofotometer pada panjang gelombang (λ) 260 nm berupa asam nukleat (DNA dan RNA), sedangkan senyawa yang dapat diserap pada 280 nm adalah protein (Jiang *et al.*, 2017).

Kebocoran sel ditandai dengan adanya kerusakan di membran sel bakteri uji atau terganggunya permeabilitas membran sel, yang mengakibatkan keluarnya senyawa asam nukleat berupa DNA maupun RNA dan protein dari bakteri yang telah diberikan ekstrak etanol daun Kluwih. Hasil penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian yang diungkapkan oleh Suhendar *et al.*, (2019) yang menjelaskan penampakan permukaan sel bakteri ketika diberi perlakuan ekstrak metanol buah mangga kasturi dapat membuat lubang atau melisis sel bakteri berdasarkan hasil dari pengambilan gambar permukaan sel uji menggunakan SEM (*Scanning Electron Microspe*).

Tabel 3. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun Kluwih

Perlakuan (%)	Zona Hambat (mm)	
	<i>Shigella dysenteriae</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
K (+)ciprofloxacin	$37 \pm 1,4$	$24 \pm 0,7$
K (-) akuades	0	0
100	$17 \pm 1,4$	$16 \pm 1,3$
80	$9 \pm 1,4$	$7 \pm 1,4$
60	$7 \pm 1,2$	$7 \pm 1,5$
40	$6,5 \pm 0,7$	$6,5 \pm 0,4$
20	$6,5 \pm 0,7$	6 ± 0

Tabel 4. Plot Data Nilai Tukar Petani

λ (nm)	<i>Shigella dysenteriae</i>			<i>Bacillus subtilis</i>		
	0 KHM	1 KHM	2 KHM	0 KHM	1 KHM	2 KHM
260	0,37	3,58	3,60	0,40	3,48	3,58
280	0,34	3,48	3,58	0,39	3,43	3,50

Keterangan: KHM=Keterangan Hambat Minimum

Tabel 4 menunjukkan bahwa terdapat peningkatan nilai absorbansi pada 260 nm dan 280 nm yang menandakan adanya peningkatan konsentrasi asam nukleat dan protein terlarut dalam media kultur bakteri setelah diberikan ekstrak etanol daun Kluwih dengan konsentrasi 1 KHM dan 2 KHM. Hal ini menandakan bahwa sel bakteri telah mengalami kebocoran. Meningkatnya nilai absorbansi menunjukkan bahwa asam nukleat dan protein dari bakteri uji telah keluar dari sel dan terlarut ke dalam media *NB*. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian sebelumnya pada ekstrak akar manis bahwa dengan nilai konsentrasi ekstrak yang semakin tinggi, maka nilai absorbansi atau penyerapan terhadap asam nukleat dan protein juga akan semakin tinggi pula (Sogandi & Nilasari, 2019).

KESIMPULAN

Daun Kluwih (*A. camansi*) memiliki potensi sebagai sumber bahan alami dalam mengatasi penyakit diare dengan menghambat pertumbuhan bakteri patogen *S. dysenteriae* dengan nilai KHM 25% dan *Bacillus subtilis* memiliki nilai KHM 6,25%. Mekanisme aksi penghambatan ekstrak etanol daun Kluwih adalah dengan membuat lubang membran sel bakteri uji dan menyebabkan terjadinya kebocoran sel.

DAFTAR PUSTAKA

- Adaramoye OA & Akanni OO. 2014. Effects of Methanol Extract of Breadfruit (*Artocarpus altilis*) on Atherogenic Indices and Redox Status of Cellular System of Hypercholesterolemic Male Rats. *Advances in Pharmacological Science*. **2014**: 604525.
- AOAC International. 1990. AOAC: Agricultural Chemicals; Contaminants; Drugs. *AOAC: Official Methods of Analysis*. **1**
- Arif M, Rahman N & Supriadi S. 2018. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Kluwih (*Artocarpus communis*). *Jurnal Akademi Kimia* **7**:85.
- Banu KS & Cathrine L. 2015. General Techniques Involved in Phytochemical Analysis. *International Journal of Advanced Research in Chemical Science*. **2**:25–32.
- Chan S, Popplewell W, Henrich C, Linehan W, Bottaro D, McMahon J, Mckee T & Gustafson K. 2013. Isolation and Identification of Natural Products from *Artocarpus communis*. *Planta Medica*. **79**
- Davis WW & Stout TR. 1971. Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay. *Applied Microbiology* **22**: 666–670.
- Departemen Kesehatan RI. 2000. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat
- Durniawati E. 2015. Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Tunas Bambu Apus Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* Secara Invitro. *Jurnal Wiyata*. **2**:193–199.
- Eryuda F & Soleha TU. 2016. Ekstrak Daun Kluwih (*Artocarpus camansi*) dalam Menurunkan Kadar Glukosa Darah Pada Penderita Diabetes Melitus. *Majority*. **5**: 71–75.
- Fakhrudin N, Hastuti, A, Andriani A, Widayari S & Nurrohmad A. 2015. Study on the Antiinflammatory Activity of *Artocarpus altilis* Leaves Extract in Mice. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*. **7**: 1080–1085.
- Harvey D, 1999, *Modern Analytical Chemistry*, McGrawHill, USA.
- Indrowati M & Ariyanto J. 2012. Kadar Kolesterol dan Trigliserida Darah pada Diabetes Melalui Perlakuan Ekstrak Daun Kluwih *Artocarpus altilis* Park. Prosiding Seminar Nasional Pendidikan Biologi FKIP UNS: 655–66.
- Inoue M, Hitora Y, Kato H, Losung F, Mangindaan REP & Tsukamoto S. 2018. New geranyl flavonoids from the leaves of *Artocarpus communis*. *Journal of Natural Medicines*. **72**(3):632-640
- Jiang H, Zou J, Cheng H, Fang J & Huang G. 2017. Purification, Characterization, and Mode of Action of Pentocin JL-1, a Novel Bacteriocin Isolated from *Lactobacillus pentosus*, against Drug-Resistant

- Staphylococcus aureus*. *BioMed Research International*. **2017**:1–11.
- Karahan F, Avsar C, Ozyigit II & Berber I. 2016. Antimicrobial and Antioxidant Activities of Medicinal Plant *Glycyrrhiza glabra* var . glandulifera from Different Habitats. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. **28**(18):1–8.
- Laware SL. 2015. Sequential Extraction of Plant Metabolites. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci*. **4**: 33–38.
- Madduluri S, Babu K & Sitram B. 2013. In vitro evaluation of antibacterial activity of five indigenous plants extract against five bacterial pathogens of human. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science*. **5**: 679–684.
- Mohamedkassm N, Fessehaye N, Mebrahtu D, Teaghes K, Fessehaye Y, Kaushik A & Medhanie G. 2013. The Ethno-botanic Significance and Antimicrobial Activities of Two Plant Extracts used in Eritrea. *American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics*. **1**:520–529.
- Nielsen SS. 2010. *Food Analysis*. Springer.
- Permata DA & Asben A. 2017. Karakteristik dan Senyawa Bioaktif Ekstrak Kering Daun Kluwih dari Posisi Daun yang Berbeda. *Jurnal Teknologi Pertanian Andalas*. **21**: 79–85.
- Prabhavathi RM, Prasad MP & Jayaramu M. 2016. Studies on Qualitative and Quantitative Phytochemical Analysis of *Cissus quadrangularis*. *Plagia Research Library*. **7**: 11–17.
- Rajesh KD, Vasantha S, Rajesh NV & Panneerselvam A. 2014. Qualitative and quantitative phytochemical analysis in four pteridophytes. *International Journal of Pharmaceutical Science Review and Research*. **27**: 408–412.
- Ropac D. 2005. An Outbreak of Food Poisoning in a Kindergarten caused by Milk Powder containing toxigenic *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis*. *Archiv für Lebensmittelhygiene*. **56**: 1–24.
- Sikarwar MS, Hui BJ, Subramaniam K, Valeisamy BD & Yean LK. 2014. A Review on *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg (breadfruit). *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. **4**: 91–97.
- Sogandi, Darma WST & Jannah R. 2019. Potensi Senyawa Antibakteri dari Ekstrak Akar Manis (*Glycyrrhiza glabra* L) terhadap *Bacillus cereus*. *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi*. **22**(4):105-111.
- Sogandi, Mustopa AZ, Artika IM & Budiarto BR. 2015. Inhibitory Activity of *Lactobacillus plantarum* U10 Isolated from Tempoyak (Fermented Durian) Made in Indonesia against *Salmonella typhi*. *Microbiol Indones*. **9**:73–81.
- Sogandi & Nilasari P. 2019. Identifikasi Senyawa Aktif Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) dan Potensinya sebagai Inhibitor Karies Gigi. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*. **9**:73–81.
- Sugumaran P, Kowsalya N, Karthic R & Seshadri S. 2013. Biomass Production and Antibacterial Activity of *Justicia Gendarussa* : A Valuable Medicinal Plant. *The Journal of Tropical Life Science*. **3**: 8–13.
- Suhendar U, Fathurrahman M, & Sogandi. 2019. Antibacterial Activity and Mechanism of Action of Methanol Extract from Kasturi Mango Fruit (*Mangifera casturi*) on Caries-Causing Bacterium *Streptococcus mutans*. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*. **22**(6): 235-241.
- Susanti WE & Sunarsih E. 2016. Determinan Kejadian Diare pada Anak Balita Di Indonesia (Analisis Lanjut Data SDKI 2012). *Jurnal Ilmu Kesehatan Masyarakat*. **7**: 64–72.
- Tiwari P, Kumar B, Kaur M, Kaur G & Kaur H. 2011. Phytochemical screening and Extraction: A Review. *Internationale Pharmaceutica Scientia*. **1**:98106.
- Ukoha PO, Cemaluk EAC, Nnamdi OL & Madus EP. 2011. Tannins and other phytochemical of the *Samanea saman* pods and their antimicrobial activities. *African Journal of Pure and Applied Chemistry*. **5**: 237–244.
- Vianney YM, Amanda N, Pieknell K, Johan CW & Hardjo PH. 2018. Evaluation of the antioxidant and antibacterial activity of breadnut (*Artocarpus camansi* Blanco) leaf extracts. *Indian Journal of Natural Products and Resources*. **9**:151–159.
- Vigneshwaran V, Somegowda M & Pramod SN. 2014. Pharmacological Evaluation of Analgesic and Antivenom Potential from the Leaves of Folk Medicinal Plant *Lobelia nicotianae* folia. *American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics*. **2**:1404–1415.
- Yigit D. 2017. Antifungal Activity of

- Lawsonia inermis* L. (Henna) Against Clinical Candida Isolates. *Journal of Science and Technology*. **10**: 196–202.
- Yulianti D, Susilo B & Yulianingsih R. 2014. Pengaruh Lama Ekstraksi dan Konsentrasi Pelarut Etanol terhadap Sifat Fisika-Kimia Ekstrak Daun Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni M) dengan Metode Microwave Assisted Extraction (MAE). *Jurnal Bioproses Komoditas Tropis*. **2**:35–41.

