

Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun *Mirabilis jalapa* terhadap Pertumbuhan *Vibrio cholerae*

(The Effect of *Mirabilis jalapa*'s Leaves Ethanolic Extract against the Growth of *Vibrio cholerae*)

Habibbur Rochman Salim, Dini Agustina, Jauhar Firdaus
Fakultas Kedokteran, Universitas Jember (UNEJ)
Jl. Kalimantan 37, Jember 68121
e-mail: dini_agustina@unej.ac.id

Abstract

Vibrio cholerae is one of the most common bacteria causing acute diarrhea. First-line treatment of diarrhea is tetracycline. However, the drug has some side effects. Therefore it is necessary to have an alternative therapy for *V. cholerae* especially from herbs. The purpose of this study was to determine the ability and the minimal inhibitory concentration (MIC) of *Mirabilis jalapa* leaves extract in inhibiting the growth of *V. cholerae* in in vitro method. This research used a Quasi Experimental Design with Post Test Only Control Group Design. The method of this study used diffusion method on Mueller Hinton Agar. The sample used was *V. cholerae* culture from the Laboratory of Microbiology Medical Faculty Brawijaya University. The inhibition growth of *V. cholerae* was observed start at a concentration of 1 mg/ml and increased by increasing concentrations of the extract. Spearman correlation test showed value $p=0.000$ and $r=0.993$, indicating significant correlation between the leaves extract of *M. jalapa* and *V. cholerae* diameter inhibition zone. These results indicated that *M. jalapa* leaves extract could inhibit the growth of *V. cholerae* and had qualitatively MIC 1 mg/ml, while quantitatively 0.2 mg/ml.

Keywords: microbiology, *Mirabilis jalapa*, *Vibrio cholerae*, in vitro

Abstrak

Vibrio cholerae merupakan salah satu bakteri yang paling sering menyebabkan diare akut. Terapi lini pertama diare ini menggunakan antibiotik golongan tetrasiklin. Namun obat ini mempunyai beberapa efek samping. Oleh karena itu diperlukan adanya alternatif terapi untuk *V. cholerae* terutama dari tanaman herbal. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kemampuan dan kadar hambat minimal (KHM) ekstrak daun *Mirabilis jalapa* dalam menghambat pertumbuhan bakteri *V. cholerae* secara in vitro. Jenis penelitian yang digunakan adalah Quasi Experimental Design dengan rancangan penelitian Post Test Only Control Group Design. Penelitian ini menggunakan metode difusi sumuran pada media Mueller Hinton Agar. Sampel yang digunakan adalah biakan kuman *V. cholerae* dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Hambatan pertumbuhan *V. cholerae* mulai tampak pada konsentrasi 1 mg/ml dan semakin meningkat dengan penambahan konsentrasi ekstrak. Berdasarkan uji korelasi Spearman didapatkan nilai $p=0,000$ dan $r=0,993$ yang menunjukkan bahwa terdapat korelasi yang signifikan antara ekstrak daun *M. jalapa* terhadap diameter zona hambat *V. cholerae* yang terbentuk. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak daun *M. jalapa* mampu menghambat pertumbuhan bakteri *V. cholerae* dan memiliki KHM secara kualitatif sebesar 1 mg/ml sedangkan secara kuantitatif sebesar 0,2 mg/ml.

Kata kunci : mikrobiologi, *Mirabilis jalapa*, *Vibrio cholerae*, in vitro

Pendahuluan

Penyakit infeksi masih menjadi masalah kesehatan yang tinggi terutama di negara berkembang. Berdasarkan Profil Kesehatan Indonesia tahun 2014, penyakit infeksi menempati urutan ke-2 dalam 10 penyakit utama penyebab kematian di rumah sakit termasuk penyakit infeksi diare. Penyakit ini merupakan salah satu penyebab utama tingginya angka kesakitan dan kematian anak di dunia. Di Jawa Timur prevalensi terjadinya diare sebesar 4,7%. Angka ini menunjukkan prevalensi diare di Jawa Timur masih cukup tinggi [1].

Salah satu bakteri yang paling sering menyebabkan diare akut adalah *Vibrio cholerae* dan penyakit yang ditimbulkan disebut kolera. Pada gejala yang berat, penyakit ini ditandai dengan diare yang hebat dengan tinja menyerupai air cucian beras (*rice water*), yang dengan cepat dapat menimbulkan dehidrasi. Terapi lini pertama diare ini menggunakan antibiotik golongan tetrasiklin [2].

Penggunaan antibiotik golongan tetrasiklin lebih efektif dibandingkan dengan antibiotik golongan lain seperti kloramfenikol dan ampicilin. Hal ini dikarenakan tetrasiklin mempunyai efek menghambat sintesis protein dengan mencegah penambahan asam amino ke peptida yang sedang terbentuk sehingga dapat dengan efektif membunuh *V. cholera*. Namun obat golongan tetrasiklin ini mempunyai beberapa efek samping seperti reaksi vestibular berupa vertigo, mual dan muntah. Obat golongan ini juga tidak dianjurkan penggunaannya pada anak usia dibawah 8 tahun. Hal ini dikarenakan tetrasiklin dapat menumpuk pada gigi dan tulang yang sedang dalam masa pertumbuhan dan menyebabkan perubahan warna dan displasia email gigi, deformitas tulang serta gangguan pertumbuhan [3]. Oleh karena itu diperlukan adanya alternatif terapi untuk *V. cholerae* terutama dari tanaman herbal seperti *Mirabilis jalapa*.

Mirabilis jalapa adalah salah satu tanaman yang banyak dijumpai di Indonesia yang berpotensi sebagai antibakteri. *M. jalapa* atau yang lebih dikenal sebagai bunga pukul empat telah diketahui memiliki komponen bioaktif seperti *flavonoid*, *tannin*, dan *saponin* yang merupakan substansi antimikroba yang efektif terhadap beberapa jenis bakteri [4]. Namun kemampuan ekstrak daun *M. jalapa* dalam menghambat pertumbuhan koloni bakteri *V. cholerae* belum diteliti. Oleh karena itu

penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan dan kadar hambat minimal (KHM) ekstrak daun *M. jalapa* dalam menghambat pertumbuhan bakteri *V. cholerae* secara *in vitro*.

Metode Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan pada uji aktivitas antimikroba ini adalah *Quasi Experimental Design* dengan rancangan penelitian yang digunakan adalah *Post Test Only Control Group Design*. Penelitian dilakukan setelah mendapatkan *ethical clearance* dari komisi etik Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Sampel yang digunakan adalah biakan kuman *V. cholerae* dari *stock culture* laboratorium mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya sebanyak 32 sampel, 8 perlakuan dan berdasarkan rumus Federer minimal dilakukan 3 kali pengulangan. Larutan yang diuji adalah ekstrak etanol daun *M. jalapa* dengan konsentrasi 50 mg/ml, 40 mg/ml, 30 mg/ml, 20 mg/ml, 10 mg/ml, 5 mg/ml, 1 mg/ml, dan 0,1 mg/ml. Sedangkan kontrol negatifnya adalah larutan NaCMC 0,5%, dan kontrol positifnya adalah suspensi tetrasiklin 300 ug/ml. Penelitian ini dilakukan dengan metode difusi sumuran dan menggunakan media *Mueller Hinton Agar*. Data diperoleh dengan mengukur diameter zona bening yang terbentuk disekitar sumuran dengan menggunakan jangka sorong dalam satuan milimeter setelah diinkubasi selama 24 jam. Proses ekstraksi dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi dan uji aktivitas antimikroba dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Data kemudian dianalisis dengan menggunakan Uji *Shapiro-Wilk* untuk mengetahui normalitas distribusi data yang ada. Selanjutnya data dianalisis dengan uji korelasi sederhana bivariat *Spearman* untuk mengetahui korelasi antara ekstrak daun *M. jalapa* yang diberikan dengan diameter zona hambat pertumbuhan *V. cholerae* yang terbentuk. Kemudian dilakukan Uji Regresi Logaritmik untuk mendapatkan nilai Kadar Hambat Minimal (KHM) secara kuantitatif.

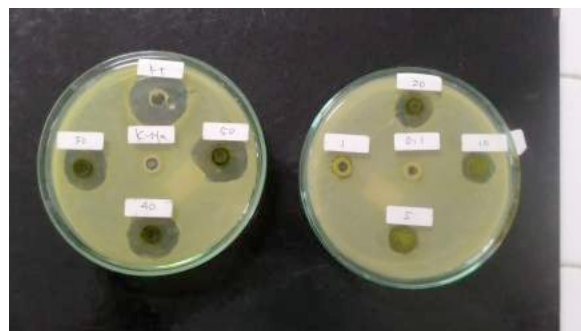
Hasil Penelitian

Setelah dilakukan pengamatan terhadap zona bening yang terbentuk disekitar sumuran

dan diukur diameter zona hambatnya dengan menggunakan jangka sorong, diperoleh data sebagai berikut:

Tabel 1. Data hasil pengukuran diameter zona hambat

Konsentrasi (mg/ml)	Diameter (mm)
50,0	23,38
40,0	21,80
30,0	20,38
20,0	18,80
10,0	16,28
5,0	13,50
1,0	10,10
0,1	7,00
Kontrol positif	25,43
Kontrol negatif	7,00



Gambar 1. Zona hambat ekstrak etanol daun *M. jalapa* terhadap pertumbuhan *V. cholerae* pada media *Mueller Hinton*

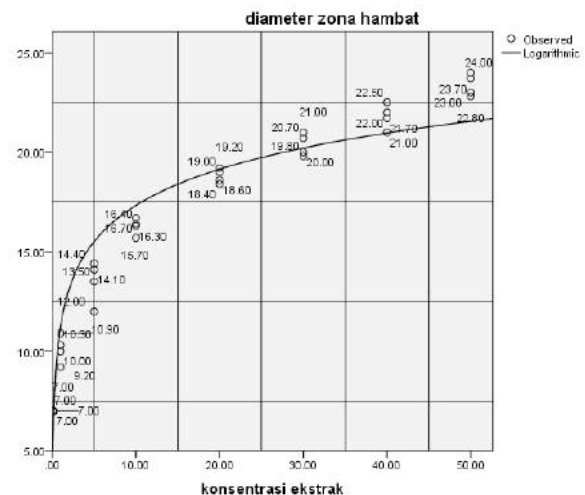
Suatu konsentrasi ditetapkan mempunyai zona hambat terhadap pertumbuhan *V. cholerae* apabila terbentuk zona hambat dengan diameter lebih dari 7,00 mm. Zona hambat pertumbuhan *V. cholerae* mulai terbentuk pada konsentrasi 1 mg/ml dengan diameter rata-rata sebesar 10,1 mm. Sehingga dapat diketahui nilai KHM ekstrak etanol daun *M. jalapa* terhadap pertumbuhan *V. cholerae* secara kualitatif adalah sebesar 1 mg/ml.

Dari uji normalitas *Shapiro-Wilk* diperoleh nilai Sig=0,003. Hasil yang didapat menunjukkan bahwa distribusi data tidak normal karena nilai Sig< α ($\alpha=0,05$). Selanjutnya data dianalisis dengan uji korelasi sederhana bivariat

Spearman dan didapatkan nilai Sig=0,000 dan $r=0,993$. Nilai Sig<0,05 menunjukkan adanya hubungan yang signifikan antara konsentrasi ekstrak etanol daun *M. jalapa* terhadap diameter zona hambat pertumbuhan *V. cholerae*. Kekuatan korelasi sebesar 0,993 menunjukkan korelasi yang sangat kuat.

Pada Uji Regresi Logaritmik didapatkan nilai Sig=0,000 dan $R\ square=0,933$. Karena nilai Sig<0,05, maka persamaan yang didapat dari Uji Regresi Logaritmik ini layak untuk digunakan. Selain itu pada uji ini didapatkan koefisien determinasi sebesar 0,933 yang artinya sebesar 93,3% jumlah koloni bakteri *V. cholerae* yang tumbuh ditentukan oleh besarnya konsentrasi ekstrak etanol daun *Mirabilis jalapa*, sedangkan sisanya disebabkan oleh faktor lain. Dari hasil Uji ini didapatkan nilai a=11,280 dan nilai b=2,626. Sehingga didapatkan persamaan garis Uji Regresi Logaritmik yaitu $Y=11,28+2,626\ln X$. Kurva persamaan garis regresi ini dapat dilihat pada Gambar 2.

Untuk menentukan KHM ekstrak etanol daun *M. jalapa* terhadap pertumbuhan *V. cholerae* dilakukan dengan memasukkan nilai $Y=7$ sehingga didapatkan nilai $X=0,2$. Dari analisis menggunakan metode ini didapatkan nilai KHM secara kuantitatif sebesar 0,2 mg/ml.



Gambar 2. Kurva persamaan garis Uji Regresi Logaritmik

Pembahasan

Pada penelitian ini didapatkan bahwa ekstrak etanol daun *M. jalapa* terbukti memiliki aktifitas antibakteri terhadap *V. cholerae*. Hal ini diketahui dari terbentuknya zona hambat

pertumbuhan *V. cholerae* setelah kontak dengan beberapa tingkat konsentrasi ekstrak etanol daun *M. jalapa*. Sedangkan pada kontrol negatif tidak memiliki daya antibakteri sehingga tidak terbentuk zona hambat.

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa setiap peningkatan konsentrasi ekstrak etanol daun *M. jalapa* memiliki hambatan pertumbuhan yang berbeda dan bermakna. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin tinggi pula kandungan zat aktif, sehingga aktifitas antibakteri dalam menghambat pertumbuhan *V. cholerae* juga semakin besar. Aktivitas antibakteri tersebut diduga berkaitan dengan senyawa bioaktif yang terkandung di dalam daun *M. jalapa*, antara lain flavonoid, alkaloid, saponin, dan tannin [5].

Dalam fungsinya sebagai antibakteri, flavonoid bekerja sebagai antimikroba melalui tiga mekanisme, yaitu menghambat sintesis asam nukleat bakteri, menghambat fungsi membran sel, dan menghambat metabolisme energi. Dalam menghambat sintesis asam nukleat, flavonoid menghambat fungsi *DNA gyrase* sehingga kemampuan replikasi dan translasi bakteri akan terhambat [6]. Flavonoid juga menghambat fungsi membran sel dengan cara mengganggu permeabilitas membran sel dan menghambat ikatan enzim seperti *ATPase* dan *phospholipase*. Sedangkan dalam menghambat metabolisme energi, flavonoid menghambat penggunaan oksigen dari bakteri. Flavonoid menghambat pada *sitokrom-C-reduktase* sehingga proses metabolisme energi terhambat [7].

Mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri yaitu dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut. Mekanisme lain alkaloid yaitu sebagai interkelator DNA dan menghambat enzim *topoisomerase* sel bakteri [8].

Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri yaitu dapat menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel. Saponin dapat menjadi antibakteri karena zat aktif permukaannya mirip dengan detergen. Akibatnya saponin akan menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri dan merusak permeabilitas membran [9]. Saponin berdifusi melalui membran luar dan dinding sel kemudian mengikat membran sitoplasma sehingga mengganggu dan mengurangi kestabilan membran sel. Hal ini menyebabkan sitoplasma

bocor keluar dari sel dan mengakibatkan kematian sel [10].

Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri adalah melalui reaksi dengan membran sel, inaktivasi enzim dan inaktivasi fungsi materi genetik. Selain itu, tannin dapat menghambat enzim *reverse transcriptase* dan *DNA topoisomerase* sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk [11]. Tanin juga memiliki aktivitas antibakteri yang berhubungan dengan kemampuannya untuk menginaktivkan adhesin sel mikroba dan mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel [12].

Simpulan dan Saran

Ekstrak daun *M. jalapa* mampu menghambat pertumbuhan bakteri *V. cholerae* secara *in vitro*, semakin besar konsentrasi ekstrak daun *M. jalapa* yang diberikan maka semakin besar pula diameter zona hambat yang dihasilkan. Kadar Hambat Minimal (KHM) ekstrak etanol daun *M. jalapa* terhadap pertumbuhan *V. cholerae* secara kualitatif adalah sebesar 1 mg/ml dan secara kuantitatif sebesar 0,2 mg/ml.

Dari hasil penelitian ini perlu dilakukan penelitian lebih lanjut seperti Uji toksisitas daun *M. jalapa* dan Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun *M. jalapa* secara *in vivo*. Selain itu juga perlu dilakukan Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun *M. jalapa* terhadap bakteri lain.

Daftar Pustaka

- [1] Laksmiarti T. Pokok - Pokok Hasil Riset Kesehatan Dasar. Jakarta. Lembaga Penerbitan Badan Litbangkes; 2013.
- [2] Murad L. Perkembangan Mutakhir Infeksi Kolera. Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Trisakti; 2004
- [3] Katzung, Bertram G. Farmakologi Dasar dan Klinik. Jakarta: EGC; 2010.
- [4] Dalimartha S. Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 4. Jakarta: Puspa Swara; 2007
- [5] Saeed S, Tariq P. Antibacterial Activities of *Mantha peperita*, *Pisum sativum*, and *Momordica charantia*. Pak J Bot. 2005; 37(4): 997-1001.
- [6] Hendra, Ahmad, Sukari, Shukor, Oskoueia. Flavonoid Analyses and Antimicrobial Activity of Various Parts of *Phaleria*

- macrocarpa. Jurnal NCBI. 2011; 12(6): 3422-3431
- [7] Cushnie TP, Tim, Lamb, Andrew J. Antimicrobial Activity of Flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2005; 26: 343-356.
- [8] Karou, Damintoti. Savadogo. Aly. Antibacterial activity of alkaloids from *Sida acuta*. *African Journal of Biotechnology*. 2005; 4(12): 1452-1457.
- [9] Madduluri, Suresh, Rao K, Babu, Sitaram B. In Vitro Evaluation of Antibacterial Activity of Five Indigenous Plants Extract Against Five Bacterial Pathogens of Human. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2013; 5(4): 679-684.
- [10] Harborne JB. *Metode Fitokimia Edisi ke-2*. Bandung: ITB; 2006.
- [11] Nuria, Faizatun, Arvin, Sumantri. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha Curcas L*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus Atcc 25923*, *Escherichia Coli Atcc 25922*, dan *Salmonella Typhi Atcc 1408*. *Mediagro*. 2009; 5(2): 26-37.
- [12] Cowan MM. *Plant Products as Antimicrobial Agents*. *Clinical Microbiology Reviews*. 1999; 12: 564-582.