

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL
DAUN KEMUNING (*Murraya paniculata* (L.) JACK) TERHADAP
PERTUMBUHAN *Escherichia coli* SECARA *IN VITRO*

IN VITRO ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF ORANGE JASMINE
LEAVE (*Murraya paniculata* (L.) JACK) ETHANOLIC EXTRACT
AGAINST *Escherichia coli*

Fanny Rahardja¹, Rosnaeni², Devita Wardhan³

¹Bagian Mikrobiologi dan Farmakologi Fakultas Kedokteran,
Universitas Kristen Maranatha,

²Fakultas Kedokteran, Universitas Kristen Maranatha
Jalan Prof. Drg. Suria Sumantri MPH No. 65 Bandung 40164 Indonesia

ABSTRAK

Penggunaan antibiotik sebagai terapi infeksi bakteri seringkali berlebihan sehingga menimbulkan resistensi bakteri terhadap antibiotik. Penelitian *Antimicrobial Resistant in Indonesia* (AMRIN) pada tahun 2000-2004 melaporkan tingginya resistensi *Escherichia coli* terhadap beberapa antibiotik. Untuk mengatasi masalah ini, dapat dilakukan penelitian dengan memanfaatkan herbal yang secara empiris digunakan sebagai antibakteri, salah satunya daun kemuning (*Murraya paniculata* (L.) Jack).

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kemuning (EEDK) terhadap pertumbuhan *E. coli* secara *in vitro*.

Penelitian ini menggunakan metode *disk diffusion*, dengan meletakkan lima varian konsentrasi cakram berisi 20µL EEDK pada *Mueller Hinton Agar* yang sudah diinokulasikan 100µL *E. coli*. Diameter zona inhibisi (mm) yang ditimbulkan setiap konsentrasi EEDK diukur menggunakan jangka sorong.

Hasil penelitian secara deskriptif menunjukkan EEDK memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* secara *in vitro*. Rerata diameter zona inhibisi terluas dibentuk oleh EEDK 50% (17,871mm), diikuti EEDK 40% (13,568mm), EEDK 30% (10,283mm), EEDK 20% (9,233mm), dan EEDK 10% (4,220mm).

Simpulan penelitian ini EEDK mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* secara *in vitro*.

Kata kunci: Ekstrak Etanol Daun Kemuning, antibakteri, *E. coli*

ABSTRACT

Overuse of an antibiotic as treatment for bacterial infection is often induces antibiotic resistance. High level of antibiotics resistance against Escherichia coli were reported from a study by American Resistance in Indonesia (AMRIN) in 2000-2004. Herb researchs as antibacterial therapy are now being advanced, as herb usually being used empirically. One of the known antibacterial herb is orange jasmine leave (Murraya paniculata (L.) Jack).

The aim of this study was to determine *in vitro* antibacterial activity of orange jasmine leave ethanolic extract (EEDK) against *E. coli*.

This study used disk diffusion method. Five disk contain 20µL of EEDK in different dose were put in Mueller Hinton Agar plate inoculated with *E. coli*. Zone of inhibition (mm) by each dose of EEDK measured with calliper.

The results of this study showed that EEDK has *in vitro* antibacterial activity against *E. coli*. The widest zone of inhibition average showed on 50% EEDK (17,871mm), followed by 40% EEDK (13,568mm), 30% EEDK (10,283mm), 20% EEDK (9,233mm), 10% EEDK (4,220mm).

Conclusion of this study is EEDK has *in vitro* antibacterial activity against *E. coli*.

Keywords: Orange Jasmine Ethanolic Extract, antibacterial, *E. coli*

PENDAHULUAN

Bagian tubuh manusia seperti kulit, mukosa mulut, saluran pencernaan, saluran ekskresi dan organ reproduksi, dapat ditemukan populasi mikroorganisme, terutama bakteri. Bakteri ini sebagian merupakan flora normal, tetapi sebagian yang lain merupakan patogen yang bersifat invasif terhadap sel inang dan dapat menyebabkan penyakit infeksi. Flora normal menguntungkan manusia karena dapat mendukung berbagai fungsi organ, contohnya *Escherichia coli* yang berperan dalam konversi pigmen empedu, sintesis vitamin K, absorpsi nutrisi, dan berkompetisi dengan bakteri patogen di dalam usus. Tetapi flora normal juga dapat menimbulkan penyakit pada individu dengan imun inadekuat^{1,2}

Bakteri dari famili *Enterobacteriaceae* seperti *E. coli*, *Proteus*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Providencia*, *Citrobacter*, dan *Serratia* banyak ditemukan pada usus sebagai flora normal. Populasi *E. coli* sendiri lebih dominan dibandingkan dengan bakteri lain dari famili *Enterobacteriaceae*. *E. coli* berkontribusi pada infeksi saluran pencernaan, yang merupakan salah satu penyakit tersering di negara berkembang, yang memiliki faktor-faktor virulensi seperti antigen, enterotoksin, dan endotoksin. Penyakit-penyakit yang sering disebabkan *E. coli* adalah infeksi saluran kemih, sepsis,

meningitis pada neonatus, dan diare yang spesifik disebabkan *E. coli*. Untuk mengatasi penyakit infeksi diperlukan antibiotik^{1,3,4}

Penggunaan antibiotik sebagai obat pada infeksi bakteri seringkali tidak tepat guna sehingga menimbulkan permasalahan dan ancaman bagi kesehatan, khususnya resistensi bakteri terhadap antibiotik. Salah satu yang terjadi adalah tingginya resistensi antibiotik terhadap *E. coli*. Berdasarkan hasil penelitian *Antimicrobial Resistant in Indonesia (AMRIN-study)* pada tahun 2000-2004, terbukti dari 2494 individu di masyarakat yang terinfeksi *E. coli*, 43% diantaranya resisten terhadap berbagai jenis antibiotik seperti ampisilin 34%, kotrimoksazol 29%, dan kloramfenikol 25%. Sedangkan 781 pasien rawat inap di rumah sakit, tingkat resistensi *E. coli* pada ampisilin 73%, kotrimoksazol 56%, kloramfenikol 43%, siprofloksasin 22%, dan gentamisin 18%. AMRIN study juga melaporkan tingginya tingkat resistensi *E. coli* pada pasien pasca rawat inap di rumah sakit⁵. Adanya tingkat resistensi yang tinggi ini, diperlukan terobosan untuk menciptakan antibiotik yang lebih poten atau memanfaatkan keanekaragaman hayati Indonesia yang bisa dikembangkan sebagai antibakteri.

Indonesia yang beriklim tropis merupakan negara dengan keanekaragaman hayati terbesar kedua di dunia setelah Brazil, yang memiliki 25.000 - 30.000 spesies tanaman.

Sebagian besar dari tanaman tersebut sudah digunakan sebagai obat tradisional oleh masyarakat⁶. Obat tradisional perlu ditingkatkan kelasnya menjadi obat herbal terstandar, selanjutnya menjadi obat fitofarmaka. Untuk itu perlu dilakukan berbagai tahapan penelitian yang mendukung obat tradisional tersebut, salah satunya sebagai obat antibakteri. Beberapa penelitian telah dilakukan untuk mengetahui kemampuan antibakteri pada beberapa tanaman⁷. Salah satu penelitian yang pernah dilakukan adalah tentang aktivitas antibakteri ekstrak metanol daun kemuning (*Murraya paniculata* (L.) Jack) pada konsentrasi 20%, oleh Goel *et al* pada tahun 2012 di India. Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak delapan spesies, termasuk *E. coli*. Hasil penelitiannya terdapat zona inhibisi untuk bakteri *E. coli* sebesar 10mm, meskipun lebih rendah dibandingkan dengan zona inhibisi *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*⁸. Daun kemuning mengandung bahan aktif metabolit sekunder berupa flavonoid, alkaloid, tanin, minyak atsiri, saponin, damar, arilpropanoid dan kumarin^{8,9,10,11}. Daun kemuning juga digunakan secara empiris oleh masyarakat untuk pengobatan penyakit infeksi saluran kemih, infeksi saluran pernafasan, diare dan disentri^{8,9,10}.

BAHAN DAN CARA

Pengujian aktivitas antibakteri ini menggunakan metode *disk diffusion*. Suspensi *E. coli* yang sudah terstandarisasi kerapatannya diinokulasikan pada Mueller Hinton Agar dengan metode *spread-plate* hingga merata. Setelah itu, diinokulasikan cakram yang masing-masing berisi 20 µL Ekstrak Etanol Daun Kemuning (EEDK) pada konsentrasi 50%, 40%, 30%, 20% dan 10%. Pada setiap konsentrasi EEDK dibuat duplo pada dua cawan petri. Kemudian cawan petri tersebut diinkubasi selama 24

jam pada suhu 37 °C. Hasil yang didapatkan adalah adanya zona inhibisi disekitar cakram dan diukur diameternya dengan menggunakan jangka sorong. Kemudian untuk setiap konsentrasi ekstrak duan kemuning, dihitung rerata zona inhibisi masing-masing duplo. Pengulangan uji aktivitas antibakteri ini dilakukan sebanyak tiga kali pada periode waktu yang berbeda.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan uji aktivitas antibakteri EEDK terhadap pertumbuhan *E. coli* secara deskriptif ditampilkan pada Tabel 4.1. Secara deskriptif hasil ini menunjukkan bahwa EEDK memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan *E. coli*. Rerata diameter zona inhibisi terbesar yang dibentuk terdapat pada EEDK konsentrasi 50%, yaitu sebesar 17,871 mm. Namun zona inhibisi yang dibentuk EEDK konsentrasi 50% tidak melebihi zona inhibisi yang dibentuk kloramfenikol. Rerata zona inhibisi terkecil dibentuk pada EEDK konsentrasi 10%, yaitu 4,220 mm. Pada penelitian ini terdapat kecenderungan semakin besar konsentrasi EEDK, semakin besar juga rerata zona inhibisi yang terbentuk. Hal ini disebabkan karena konsentrasi EEDK yang lebih tinggi memiliki kandungan metabolit sekunder yang lebih tinggi pula. Tetapi kloramfenikol tetap lebih efektif menghambat bakteri daripada EEDK 50% dengan rerata zona inhibisi 26,034 mm.

Tabel 4.1 Hasil Pengamatan Diameter Zona Inhibisi

Perlakuan	Jumlah	Diameter Zona Inhibisi (mm)			Rerata Keseluruhan (mm)
		Rerata Pengujian I	Rerata Pengujian II	Rerata Pengujian III	
EEDK 50%	20 µL	19,425	19,990	14,200	17,871
EEDK 40%	20 µL	15,665	15,490	9,550	13,568
EEDK 30%	20 µL	15,120	15,730	0	10,283
EEDK 20%	20 µL	17,020	10,680	0	9,233
EEDK 10%	20 µL	12,660	0	0	4,220
Kontrol (+)	30 µL	26,350	26,054	25,700	26,034
Kontrol (-)	20 µL	0	0	0	0

Keterangan tabel

EEDK = Ekstrak Etanol Daun Kemuning

Kontrol (+) = Kloramfenikol

Kontrol (-) = Akuades steril

Aktivitas antibakteri EEDK ini dikarenakan oleh kandungan flavonoid, alkaloid, tanin, minyak atsiri, dan saponin. Flavonoid dapat menghambat sintesis asam nukleat, sehingga menyebabkan pertumbuhan sel bakteri terhambat. Flavonoid juga bekerja langsung pada membran barrier sel bakteri, yang menyebabkan kebocoran sel^{8,12}. Flavonoid pada kadar rendah, akan membentuk kompleks lemah dengan protein bakteri, kemudian menyebabkan presipitasi dan denaturasi protein bakteri. Sedangkan pada kadar yang tinggi, flavonoid akan menyebabkan koagulasi protein bakteri, dan menyebabkan membran sitoplasma lisis¹³. Tanin menyebabkan pembentukan dinding sel bakteri menjadi tidak sempurna. Asam tanat yang merupakan tanin *hidrosable*, akan menghambat zat besi yang dibutuhkan mikroorganisme anaerob untuk berbagai fungsi, seperti reduksi dari prekursor ribonukleotida DNA¹⁴. Asam tanat juga berperan sebagai antibakteri karena dapat membentuk kompleks ikatan hidrogen antara tanin dengan protein enzim bakteri, sehingga metabolisme bakteri terganggu¹⁵.

Minyak atsiri memiliki sifat lipofilik dan dapat bereaksi dengan *phospholipid bilayer* membran luar bakteri, sehingga meningkatkan permeabilitasnya kemudian terjadi kebocoran sel. Minyak atsiri juga merusak membran sitoplasma sehingga terjadi kebocoran sitoplasma, dan menyebabkan terjadinya koagulasi sitoplasma¹⁶.

Alkaloid mempunyai kemampuan dalam menghambat kerja enzim untuk mensintesis protein bakteri, dan dapat merusak komponen pembentuk peptidoglikan dinding sel bakteri^{17,18}.

Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri adalah menurunkan tegangan permukaan sehingga permeabilitas membran luar akan naik, kemudian terjadi kebocoran sel¹⁹. Selain itu, saponin juga menyebabkan reaksi saponifikasi yaitu melisis struktur lemak pada bakteri²⁰.

Zona inhibisi yang tidak terbentuk (0 mm) dikarenakan gagal difusi EEDK pada Mueller Hinton Agar yang dipengaruhi berbagai faktor. Terdapat faktor-faktor yang dapat mempengaruhi tes sensitivitas

antibakteri dengan metode *disk diffusion*, yaitu faktor intrinsik dari bakteri uji dan faktor ekstrinsik. Faktor intrinsik yang dapat mempengaruhi *disk diffusion* adalah perubahan permeabilitas membran sel bakteri sehingga antibiotik yang diuji tidak dapat masuk ke dalam sel, dan perubahan komponen lain dalam bakteri yang menyebabkan agen antibiotik tidak dapat bekerja. Faktor eksternal yang mempengaruhi adalah besar molekul zat aktif yang terkandung dalam antibiotik, kelarutan antibiotik, dan suasana medium pertumbuhan bakteri²¹.

Sundaram *et al* pada tahun 2011 di Pakistan melakukan penelitian aktivitas antibakteri daun kemuning yang ditanam di India Selatan terhadap *E. coli*. Sediaan yang diuji adalah ekstrak etanol daun kemuning yang diencerkan pada lima variasi konsentrasi yaitu 100 µg, 200 µg, 300 µg, 400 µg dan 500 µg, serta menggunakan kloramfenikol sebagai kontrol positif. Hasil penelitian Sundaram *et al* ini menunjukkan terbentuk zona inhibisi oleh ekstrak etanol daun kemuning pada konsentrasi 300 µg, 400 µg, dan 500 µg, berturut-turut adalah 10,06 mm, 14,06 mm, 17,03 mm. Sedangkan zona inhibisi dari kloramfenikol adalah 23,03 mm. Dengan demikian semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol daun kemuning, semakin luas pula zona inhibisi yang terbentuk. Hal ini menunjukkan bahwa kloramfenikol masih lebih baik menghambat pertumbuhan *E. coli* daripada ekstrak etanol daun kemuning²².

Penelitian lain yang dilakukan Goel *et al* pada tahun 2012 di India yang menggunakan ekstrak metanol daun kemuning menunjukkan konsentrasi 20% mempunyai rerata zona inhibisi 10 mm. Pada penelitian ini, EEDK konsentrasi 20% mempunyai rerata zona inhibisi 9,233 mm. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak metanol lebih baik daripada ekstrak etanol dalam menghambat bakteri *E. coli*⁸.

Pelarut metanol (CH₃OH) memiliki kepolaran lebih tinggi daripada etanol

(C₂H₆O) karena memiliki jumlah atom C yang lebih sedikit. Kepolaran ini mempengaruhi kemampuan pelarut untuk menarik zat aktif pada saat proses ekstraksi. Metanol yang lebih polar mampu menarik zat aktif lebih banyak daripada etanol²³. Hal ini menjelaskan bahwa ekstrak metanol daun kemuning memiliki kandungan zat aktif yang lebih tinggi, sehingga kemampuan aktivitas antibakterinya lebih baik daripada ekstrak etanol daun kemuning.

SIMPULAN

Ekstrak etanol daun kemuning mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* secara *in vitro*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Jawetz, Melnick, Adelberg. Medical Microbiology 24th edition. United States: The McGraw-Hill Companies; 2007.
2. Madigan T, Martinko, John M, Stahl, David A, Clark, David P. Brock Biology of Microorganisms 13th Edition. San Fransisco: Pearson; 2011.
3. Kayser F H, Bienz KA, Eckert J, Zinkernagel R M. Medical Microbiology. New York: Thieme; 2005.
4. Mahon C R, Lehman D C, Manuselis G. Textbook of Diagnostic Microbiology 3rd Edition. China: Elsevier; 2007.
5. Menteri Kesehatan Republik Indonesia. Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 2406/Menkes/Per/XII/2011 tentang Pedoman Umum Penggunaan Antibiotik. Jakarta: Departemen Kesehatan; 2011.
6. Dewoto H R. Pengembangan Obat Tradisional Indonesia Menjadi

- Fitofarmaka. *Majalah Kedokteran Indonesia* Volume 57. 2007;205-211.
7. Nursanty R, Zumaidar. Potensi Antibakteri Beberapa Tumbuhan Obat Tradisional. Unsyiah Darussalam-Banda Aceh; 2010.
 8. Geol R K, Gautam M K, Gangwar M, Nath G, Rao C V. In-vitro antibacterial activity on human pathogens and total phenolic, flavonoid contents of *Murraya paniculata* Linn. leaves. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2012; 1660-1663.
 9. Gunardi, S Kartika D. Profil Kromatogram dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kemuning (*Murraya paniculata* (L.) Jack Terhadap Bakteri *Escherichia coli* secara In Vitro. Universitas Diponegoro; 2007.
 10. Achmad S A, Hakim E H, Makmur L, Syah Y M, Juliawaty L D, Mujahidin D. Ilmu Kimia dan Kegunaan Jilid II. Bandung: Institut Teknologi Bandung; 2013.
 11. Alitheen N B, Ng M K, Yeap S K, Abdulhadi-Noaman Y, Cheah Y K. Bioactivity studies and chemical constituents of *Murraya paniculata* (Linn) Jack. *International Food Research Journal*. 2012; 19(4), 1307-1312.
 12. Lamb A J, Chusnie T. Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2005; 343-356.
 13. Krihariyani D, SSBU Djoko, Erywiyatno L. Pengaruh Madu Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus pyogenes*. *Analisis Kesehatan Sains* Volume 1. 2012; 30-37.
 14. Akiyama H, Fujii K, Yamasaki O, Oono T, Iwatsuki K. Antibacterial action of several tannins against *Staphylococcus aureus*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2001; 487-491
 15. Makkar H P S. Effect and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental of feeding tannin-rich feeds. Austria: Vienna; 2003. Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential. *International Journal of Food Microbiology* 94, 223-253.
 16. Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential. *International Journal of Food Microbiology* 94. 2004;223-253.
 17. Juliantina F R, Citra D A, Nirwani B, Nurmasitoh T, Bowo E T. Manfaat Sirih Merah (*Piper crocatum*) sebagai Agen Antibakterial terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif. *JKKI-Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*. 2009.
 18. Suranintyas S, Siswomihardjo W, Maryati N. Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Air dan Etanol Kulit Batang *Azadirachta indica* terhadap Penghambatan Pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *M.I. Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada* Volume 23. 2008.
 19. Ngajow M, Kamu V S, Abidjulu J. Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara In vitro. *Jurnal MIPA UNSRAT Online* 2. 2013;128-132.
 20. Hayati K. Efek Antibakteri Ekstrak Lidah Buaya (*Aloe vera*) Terhadap *Staphylococcus aureus* Yang Diisolasi Dari Denture Stomatitis (Penelitian In Vitro). Melalui <http://repository.usu.ac.id/handle/123456789/21766>. Diunduh tanggal 2 September 2014.
 21. Jiang L. Comparison of disk diffusion, agar dilution, and broth microdilution for antimicrobial susceptibility testing of five chitosans. Doctoral dissertation Louisiana State University; 2011.
 22. Sundaram M, Sivakumar, Karthikeyan, Bguvaneshwari, Aishwarya, Thirumalai, Pennarasi. Studies on in vitro antibacterial, antifungal property and Antioxidant Potency of *Murraya*

paniculata. Pakistan Journal of Nutrition
10. 2011;925-929.

23. Astarina N W G, Astuti K W, Warditiani
N K. Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol
Rimpang Bangle (Zingiber purpureum
Roxb.). Jurnal Farmasi Udayana; 2013.