

AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK PERASAN DAUN MENGKUDU (*Morinda citrifolia* L.) TERHADAP *Escherichia coli* SECARA *IN VITRO*

Margareta Retno Priamsari¹, Agastia Cicilia Wibowo²

^{1,2} Politeknik Katolik Mangunwijaya Semarang
Program Studi Diploma Tiga Farmasi

¹marga_rhee@yahoo.co.id

²agascicil@gmail.com

Email Korespondensi: marga_rhee@yahoo.co.id

ABSTRAK

Perasan daun mengkudu dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Hasil perasan daun mengkudu membutuhkan proses pemekatan menjadi ekstrak agar sediaan lebih stabil dalam proses penyimpanan. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antibakteri dan besarnya konsentrasi hambat minimum ekstrak perasan daun mengkudu terhadap bakteri *E.coli* secara *in vitro*. Jenis penelitian eksperimental dengan rancangan acak lengkap satu arah. Ekstrak diperoleh dengan memekatkan perasan daun mengkudu. Parameter kontrol kualitas ekstrak meliputi organoleptis, rendemen, susut pengeringan, dan uji kualitatif senyawa flavonoid serta antrakuinon. Uji aktivitas antibakteri menggunakan metode *disc diffusion* dengan konsentrasi ekstrak 1,56%; 3,12%; 6,25%; 12,5%; dan 25% dengan 3 kali replikasi. Kontrol positif amoksisilin dan kontrol negatif akuades. Daya hambat diketahui dari zona yang terbentuk di sekitar kertas cakram. Data yang diperoleh dianalisis statistik menggunakan *Kruskall Wallis* dilanjutkan *Mann Whitney* dengan taraf kepercayaan 95%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa variasi konsentrasi ekstrak perasan daun mengkudu berpengaruh secara signifikan ($p < 0,05$). Zona hambat terbesar terlihat pada konsentrasi 25% sebesar 10,16 mm dan termasuk kategori kuat. Daya hambat minimum dihasilkan pada konsentrasi 3,12 % sebesar 2,50 mm dengan kategori penghambatan lemah.

Kata Kunci : Ekstrak perasan daun mengkudu, *Escherichia coli*, *Disc Diffusion*, KHM

IN VITRO ANTIBACTERIAL ACTIVITY FROM LEAF EXTRACT FEEDING OF *Morinda citrifolia* L. AGAINST *Escherichia coli*

ABSTRACT

Noni juice can inhibit the growth of Escherichia coli bacteria. Noni juice extraction needs concentration to extract so that the preparation is more stable in the storage process. The purpose of this study was to determine the antibacterial activity and the amount of the minimum inhibitory concentration of noni juice extract from E. coli bacteria in vitro. This type of experimental research with a completely randomized one-way design. The extract was obtained by concentrating the Noni leaf extract. Extract quality control parameters include organoleptic, yield, drying shrinkage, and qualitative tests of flavonoid and anthraquinone compounds. Antibacterial activity test using the disc diffusion method with an extract concentration of 1.56%; 3.12%; 6.25%; 12.5%; and 25% with 3 replications. Positive control of amoxicillin and negative control of distilled water. Inhibition is known from the zone formed around the paper disc. The data obtained were statistically analyzed using Kruskal Wallis followed by Mann Whitney with a 95% confidence level. The results showed that the variation in the concentration of the noni juice extract had a significant effect ($p < 0.05$). The biggest inhibitory zone was seen at 25% concentration of 10.16 mm and included in the strong category. The minimum inhibitory power was produced at a concentration of 3.12% at 2.50 mm with a weak treatment category.

Keywords : *Noni juice extract, Escherichia coli, Disc Diffusion, MIC*

PENDAHULUAN

Infeksi saluran kemih (ISK) adalah infeksi yang disebabkan oleh bakteri Enterobacteriaceae yang terjadi pada sistem saluran kemih. Angka kejadian terjadinya ISK di Indonesia berkisar 39%-60% (Sari, 2018). Bakteri Enterobacteriaceae yang dominan menyebabkan ISK adalah *Escherichia coli*. *Escherichia coli* merupakan bakteri gram negatif yang berkoloni di saluran pencernaan manusia dan dapat menyebabkan penyakit seperti diare, sepsis, meningitis, dan infeksi saluran

kemih (Jawetz, 2014). Salah satu penanganan bakteri adalah dengan pemberian antibakteri.

Pemberian antibakteri dalam pengobatan penyakit ISK umumnya direkomendasikan selama 7-14 hari. Antibakteri oral dalam penanganan kasus ISK yang banyak digunakan antara lain: trimetoprim (TMP), kotrimoksazol (TMP & sulfametoksazol), sefalosporin, atau amoksisilin/asam klavulanat (Wahyudi, 2015). Penggunaan antibakteri yang tidak tepat akan

menimbulkan berbagai permasalahan seperti pengobatan kurang efektif, peningkatan resiko terhadap keamanan pasien, resistensi bakteri terhadap antibakteri dan tingginya biaya pengobatan. Salah satu upaya dalam mengatasi hal tersebut adalah dengan menggunakan alternatif pengobatan berbahan dari alam atau obat tradisional.

Salah satu tanaman obat tradisional yang berpotensi sebagai antibakteri adalah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.). Penelitian Kameswari, dkk (2013), melaporkan bahwa perasan daun mengkudu mengandung senyawa flavonoid dan antrakuinon yang berperan terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli*. Hasil penelitian menunjukkan perasan daun mengkudu mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli* dengan KHM sebesar 7,3 mm pada konsentrasi 25%.

Metode perasan memiliki keuntungan yaitu alat yang digunakan tidak rumit dan proses pembuatan tidak memerlukan keahlian khusus. Namun metode perasan juga memiliki kekurangan yaitu sari yang dihasilkan mudah ditumbuhi mikroba dan tidak dapat disimpan dalam jangka waktu lama sehingga diperlukan proses penyarian yang selalu baru (Wiradona, dkk., 2015). Jumlah sari yang dihasilkan juga cukup banyak sehingga volume yang harus dikonsumsi cukup besar. Berdasarkan kekurangan dari hasil ekstraksi perasan yang kurang stabil dalam proses penyimpanan dan kurang praktis dalam penggunaannya, maka perlu dilakukan alternatif bentuk sediaan lain, salah satunya dalam

bentuk ekstrak perasan. Bentuk ekstrak dipilih karena memiliki keuntungan dapat disimpan dalam jangka waktu lama karena lebih stabil (Anief, 2010). Berkaitan dengan hal tersebut, maka dilakukan penelitian mengenai aktivitas antibakteri dan besaran Kadar Hambat Minimal (KHM) ekstrak perasan daun mengkudu terhadap bakteri *E coli* secara *in vitro*.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi pisau, talenan, blender (*Miyako*), ayakan no 18, toples kaca, neraca analitik (*Mettler Toledo*), alumunium foil, mortir - stamper, *waterbath*, *moisture analyzer* (*Ohaus*), termometer, seperangkat alat gelas (*Pyrex*), kain flanel, cawan petri, pinset, pipet tetes, pipet volume, filler (*Glasfirn*), ose bulat, ose tajam, lampu spiritus, mikroskop (*Olympus*), oven (*Memmert*), autoklaf (*All American*), inkubator (*Memmert*), mistar.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi ekstrak perasan daun mengkudu, akuades, toluena, KOH, ammonia_(p), asam asetat glasial, HCl, H₂O₂, Serbuk Mg (*E. Merck*), biakan bakteri *Eschericia coli* ATCC 25922, akuades steril, NaCl fisiologis 0,9% (*Otsuka*), cakram 7 mm (*Whatmann No. 42*), *paperdisk* Amoksisilin 25µg (*Oxoid*), larutan Mc. Farland, media Nutrient Agar (NA), akuabides.

Rancangan Penelitian

Pembuatan Ekstrak Perasan Daun Mengkudu

Ekstraksi daun mengkudu diperoleh dengan metode pemerasan. Daun mengkudu segar sebanyak 50 gram dicuci dengan air mengalir dan ditiriskan kemudian dilakukan perajangan. Daun mengkudu dimasukan blender dan ditambah akuades sebanyak 500 mL lalu diblender. Perlakuan ekstraksi diulang sebanyak 6 kali. Hasil disatukan dan dilakukan pemerasan dengan kain flanel. Hasil perasan

kemudian dipekatkan di atas *waterbath* pada suhu 40-50°C hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental dilakukan pengujian susut pengeringan menggunakan *moisture analyzer* pada suhu 105°C selama 10 menit. Pengujian dilanjutkan dengan identifikasi organoleptis dan perhitungan rendemen. Rendemen yang dihasilkan dihitung dengan cara:

$$\text{Rendemen \%} = \frac{\text{Bobot ekstrak (gram)}}{\text{Bobot simplisia awal (gram)}} \times 100 \dots \dots \dots (1)$$

Uji Kandungan Ekstrak Perasan Daun Mengkudu

a. Identifikasi senyawa flavonoid

Identifikasi flavonoid dilakukan dengan uji shinoda. Serbuk Mg sejumlah 10 mg dan 5 tetes HCl_(p) ditambahkan kedalam 2 mL larutan uji dalam tabung reaksi. Warna merah, kuning atau jingga yang muncul menunjukkan adanya senyawa flavonoid (Putra, dkk, 2014).

b. Identifikasi senyawa antrakuinon

Identifikasi antrakuinon dilakukan dengan uji Borntrager dan modifikasi Borntrager. Pengujian Borntrager dilakukan dengan penambahan 0,3 mL larutan uji dilarutkan dalam 10 mL akuades, disaring dan filtrat diekstraksi dengan toluen, ditambah ammonia_(p) 1 mL dan dikocok. Warna merah yang terbentuk menunjukkan antrakuinon (Sirait, 2007).

Pengujian modifikasi Borntrager dengan menambah 5 mL KOH 0,5 N dan 1 mL H₂O₂ encer dalam 0,3 mL

larutan uji. Ekstrak dipanaskan selama 5 menit dan disaring serta ditambah asam asetat glasial dan diekstraksi dengan toluen 5 mL. Selanjutnya ditambahkan ammonia_(p) 1 mL. Timbulnya warna merah menunjukkan senyawa antrakuinon (Sutriani, 2008).

Penentuan Konsentrasi Ekstrak Perasan Daun Mengkudu

Penentuan konsentrasi ekstrak perasan daun mengkudu diperoleh berdasarkan penelitian Kameswari (2013) dalam perasan daun mengkudu sebagai antibakteri terhadap bakteri *E.coli*. Penentuan konsentrasi yang digunakan dalam ekstrak perasan daun mengkudu sebesar 1,56%; 3,12%; 6,25%; 12,5%; dan 25%.

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Perasan Daun Mengkudu

Uji aktivitas antibakteri ekstrak perasan daun mengkudu dilakukan dengan metode *Kirby-Bauer*. Pengujian dilakukan dengan mempersiapkan

cawan petri steril yang terbagi menjadi 7 juring, yaitu sebagai kontrol negatif (akuades), kontrol positif (amoxicillin), dan lima konsentrasi ekstrak perasan daun mengkudu. Suspensi bakteri 1 mL dimasukkan ke dalam cawan petri kemudian ditambahkan media NA dan dihomogenkan. Cakram dimasukkan dalam larutan uji, ditiriskan dan ditempatkan pada setiap juring. Inkubasi dilakukan pada suhu 37°C

selama 24 jam. Hasil pengamatan terlihat berupa zona bening yang terbentuk disekitar cakram dan diukur diameter zona hambat secara vertikal dan horizontal. Replikasi dilakukan 3 kali. Selanjutnya diameter yang terbentuk dihitung rata-ratanya, dianalisis dan digolongkan menurut Davis & Stout (1971) pada tabel I berikut.

Tabel I. Nilai Standar Potensi Antibakteri Ketentuan Davis and Stout (1971)

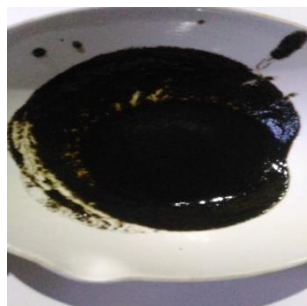
Daerah hambat (mm)	Potensi Antibakteri
20 atau lebih	Sangat Kuat
10-20	Kuat
5-10	Sedang
Kurang dari 5	Lemah

Analisis Hasil

Data berupa rata-rata diameter zona hambat dianalisis normalitas menggunakan metode *Saphiro-wilk* dan homogenitas dengan *Levene statistic*. Selanjutnya dianalisis dengan metode *Kruskal Wallis* dan dilanjutkan uji *Mann-Whitney* dengan taraf kepercayaan 95%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil yang didapatkan dalam proses pemerasan berupa sari perasan. Sari perasan berbentuk cairan. Warna hijau tua pada sari perasan daun mengkudu disebabkan kandungan klorofil (Rukmana, 2002). Hasil perasan yang didapatkan selanjutnya diuapkan di atas *waterbath* hingga diperoleh ekstrak kental dan dilakukan pengujian kontrol kualitas ekstrak.



Gambar 1. Hasil Ekstrak Perasan Daun Mengkudu

Hasil kontrol kualitas menunjukkan bahwa ekstrak perasan daun mengkudu telah memenuhi standar yang

dipersyaratkan yaitu kurang dari 10% pada kadar susut pengeringan (Depkes, 2000).

Tabel II. Kontrol Kualitas Ekstrak Perasan Daun Mengkudu

No	Parameter Kontrol Kualitas	Hasil
1.	Organoleptis	
	a. Konsistensi	Kental
	b. Warna	Coklat kehitaman
	c. Bau	Khas
	d. Rasa	Pahit
2.	Susut Pengeringan	6,83 % ^{b/b}
3.	Rendemen	17,6 % ^{b/b}

Data hasil uji kualitatif ekstrak perasaan daun mengkudu dapat dilihat pada Tabel III berikut.

Tabel III. Hasil Uji Kualitatif Ekstrak Perasaan Daun Mengkudu

Senyawa	Metode	Pustaka	Sebelum	Sesudah	Ket
Antrakininon	Brontrager	Terbentuk warna merah (Sirait, 2007)	Coklat kehitaman	Merah kecoklatan	+
	Modifikasi Brontrager	Terbentuk warna merah (Sutriani, 2008)	Coklat kehitaman	Merah kecoklatan	+
Flavonoid	Shinoda	Terbentuk warna kuning/jingga (Harbone, 1987)	Coklat kehitaman	Jingga	+

Data hasil pengukuran zona hambat ekstrak perasan daun mengkudu konsentrasi 1,56%; 3,12%; 6,25%; 12,5%; dan 25% dan akuades sebagai kontrol negatif serta amoksilin sebagai kontrol positif dapat dilihat pada Tabel IV berikut.

Tabel IV. Hasil Rerata Diameter Zona Hambat Ekstrak Perasan Daun Mengkudu

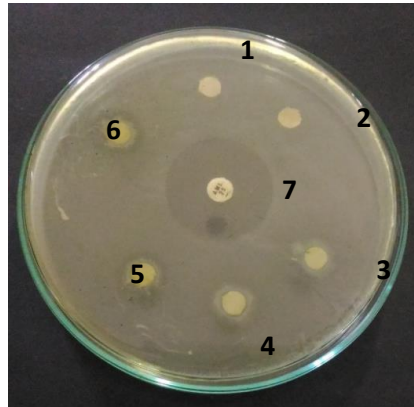
Perlakuan	Diameter Zona Hambat (cm)			Rerata±SD
	1	2	3	
Kontrol negatif (akuades steril)	-	-	-	-

Ekstrak perasan daun mengkudu 1,56 %	-	-	-	-
Ekstrak perasan daun mengkudu 3,12 %	1,50	3,00	3,00	2,50 ± 0,86 ^a
Ekstrak perasan daun mengkudu 6,25 %	4,00	4,50	5,50	4,66 ± 0,75 ^b
Ekstrak perasan daun mengkudu 12,5 %	5,50	6,00	5,50	5,66 ± 0,29 ^c
Ekstrak perasan daun mengkudu 25 %	9,50	10,00	11,00	10,16 ± 0,76 ^c
Kontrol positif (Amoxicillin 25µg)	23,00	21,00	21,00	21,66 ± 1,15 ^d

\
Keterangan: *subscript* yang berbeda menunjukkan perbedaan bermakna ($p < 0.05$) dengan uji *Mann Whitney* taraf kepercayaan 95%.

Tabel IV menunjukkan besar rata-rata zona hambat yang terbentuk pada masing-masing konsentrasi ekstrak perasan daun mengkudu. Pada konsentrasi 1,56% tidak terbentuk zona hambat. Zona hambat mulai terlihat pada konsentrasi 3,12% sebesar $2,50 \pm 0,86$ cm. Zona hambat tersebut menurut Davis & Stout (1971) termasuk kategori lemah. Konsentrasi tersebut merupakan Kadar Hambat Minimal (KHM) pada ekstrak perasan daun mengkudu, diikuti oleh konsentrasi 6,25%; 12,5%; dan 25%. Semakin besar konsentrasi maka semakin besar pula zona hambat yang ditimbulkan (Prescott, 2005), namun besarnya masih lebih kecil dibandingkan dengan kontrol positif. Pada kontrol positif digunakan

Amoksisilin *paper disk* 25µg. Amoksisilin merupakan antibiotik golongan penisilin dengan spektrum luas (Harianto, 2006). Penggunaan amoksisilin dalam ISK dapat diberikan apabila pasien mengalami kontra indikasi penggunaan kotrimoksasol, seperti reaksi alergi atau menderita gangguan fungsi ginjal. Kontrol negatif yang digunakan adalah akuades steril dan hasilnya tidak menimbulkan zona penghambatan. Hasil uji statistik menunjukkan bahwa terlihat adanya perbedaan yang bermakna dengan uji *Kruskal Wallis* dengan $p = 0,03$ ($p < 0,05$) dan dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney*. Hasil pengamatan aktivitas antibakteri ekstrak perasan daun mengkudu dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Hasil Aktivitas Antibakteri Ekstrak Perasaan Daun Mengkudu

Keterangan:

1. Kontrol negatif (akuades steril)
2. Ekstrak perasan daun mengkudu 1,56 %
3. Ekstrak perasan daun mengkudu 3,12 %
4. Ekstrak perasan daun mengkudu 6,25 %
5. Ekstrak perasan daun mengkudu 12,5 %
6. Ekstrak perasan daun mengkudu 25 %
7. Kontrol positif (Amoxicillin 25µg)

Perbedaan diameter zona hambat ekstrak perasan daun mengkudu dipengaruhi oleh konsentrasi senyawa zat aktif yang terdapat dalam ekstrak perasan daun mengkudu. Mekanisme penghambatan pada bakteri *E.coli* pada ekstrak perasan daun mengkudu diduga berasal dari kandungan senyawa flavonoid dan antrakuinon. Mekanisme kerja flavonoid menghambat fungsi membran sel dengan cara membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga merusak membran bakteri yang diikuti keluarnya senyawa intraseluler (Nuriddin, 2009). Antrakinon bekerja sebagai antibakteri dengan cara mempengaruhi sintesis sel bakteri *E.coli*. Antrakinon merupakan suatu persenyawaan fenolik yang mekanismenya serupa dengan golongan fenol, yaitu menghambat

bakteri dengan cara mendenaturasi protein (Fitri, 2005).

SIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah :

1. Ekstrak perasan daun mengkudu mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *E.coli*.
2. Besarnya Kadar Hambat Minimal (KHM) pada ekstrak perasan daun mengkudu pada konsentrasi 3,12 % dengan zona penghambatan sebesar $2,50 \pm 0,86$ cm, termasuk dalam kategori lemah (Davis & Stout, 1971).

DAFTAR PUSTAKA

- Anief, M. 2010. *Ilmu Meracik Obat*. Gadjah Mada University: Yogyakarta.
- Davis & Stout. 1971. *Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic*

- Essay. Journal Of Microbiology.*
- DepKes RI, 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Edisi I. Direktorat Pengawasan Obat Tradisional: Jakarta.
- Fitri, DN. 2005. Studi Tentang Daya Hambat Ekstrak Lidah Buaya (*Aloe vera*) dengan Konsentrasi yang Berbeda Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Aeromonas hydrophila* Secara *In vitro*. *Skripsi*. Jurusan Perikanan. Fakultas Peternakan Perikanan. UMM. Malang.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Penerbit ITB: Bandung
- Hariato., 2006. Perbandingan dan Harga Tablet Amoxicilin 500 mg Generik Dengan Non Generik Yang Beredar Di Pasaran. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 3(3): 127-142.
- Jawetz, Melnick & Adelberg. 2014. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi 25*. Salemba Medika: Jakarta.
- Kameswari, M. S., Mahatmi, H., & Besung, K.N., 2013. Perasan Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) Menghambat Pertumbuhan Bakteri *E.coli* Secara *In Vitro*. *Jurnal Indonesia Medicus Veterinus*. 2(2):216-224.
- Nuria, M.C., Faizaitun, A., & Sumantri, 2009. 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*. 5(2):26–37.
- Putra, Nusa. 2012. *Metode Penelitian Kualitatif Pendidikan*. Raja Grafindo Persada: Jakarta.
- Rukmana, HR. 2002. *Mengkudu Budidaya dan Prospek Agribisnis*. Kanisius.
- Sari R.P. 2018. Angka Kejadian Infeksi Saluran Kemih (ISK) dan Faktor Resiko yang Mempengaruhi pada Karyawan Wanita di Universitas Lampung, *Skripsi*. Universitas Lampung: Lampung.
- Sirait, M. 2007. *Penuntun Fitokimia Dalam Farmasi*. ITB : Bandung.
- Sutriani, L. 2008. *Teknik Pembelajaran Fitokimia*. Universitas Muhammadiyah: Semarang.
- Wahyudi, Irfan, 2015, *Guideline Penatalaksanaan Infeksi Saluran Kemih dan Genitalia Pria: Infeksi Saluran Kemih Pada Anak*, Ikatan Ahli Urologi Indonesia, Surabaya.
- Wiradona, I., Suwarsono, & Sunarjo, L., 2015, Pengaruh Perasan Mengkudu Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Kesehatan Gigi*. 2(1):8-13.