

AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK METANOL KULIT BATANG TUMBUHAN SALAM (*Syzygium polyanthum*) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Escherchia coli*

Agni Rimba Mawan¹, Sri Endah Indriwati², Suhadi²

¹Mahasiswa Pendidikan Biologi, Pascasarjana, Universitas Negeri Malang

²Dosen Jurusan Biologi FMIPA, Universitas Negeri Malang

email: agnirimba@gmail.com

Abstract

Syzygium polyanthum has medicinal benefits, especially in its stem bark. This study aims to determine the antibacterial activity of methanol extract of *Syzygium polyanthum*'s stem bark to the inhibit of *Escherchia coli* growth. Extraction method done by maceration using methanol solvent. The extract used 40%, 60% and 80%, with tetracycline as a positive control and aquades as a negative control. Antibacterial activity tested by disk diffusion method. The result of antibacterial activity test analyzed using one-way ANOVA, followed by LSD test. The result showed that the extract concentration of 40%, 60%, and 80% have antibacterial activity with an average diameter of inhibitory zone, such as: 40% (16,2 mm), 60% (8,5 mm) and 80% (16,3 mm), while the positive control 27,3 mm and negative control 0 mm. The results of the ANOVA analysis showed a significant value of 0.000 ($p < 0.05$), which means there are significant differences in the effects of various concentrations of methanol extract of *Syzygium polyanthum*'s stem bark against *Escherchia coli* growth. The results of the LSD (Least Significance Different) test showed that all treatments were significantly different than concentration of 40% to consentration of 80%. The conclusion of the study is the methanol extract of *Syzygium polyanthum*'s stem bark have antibacterial activity against *Escherchia coli*.

Keywords: antibacterial activity, *Syzygium polyanthum*, *Escherchia coli*, disk diffusion method

1. PENDAHULUAN

Penyakit infeksi merupakan salah satu masalah dalam bidang kesehatan. Infeksi bisa disebabkan oleh berbagai mikroorganisme yang salah satunya adalah bakteri. Bakteri yang seringkali menjadi penyebab infeksi adalah *Escherchia coli*. Bakteri *Escherchia coli* adalah salah satu penyebab diare yang sampai saat ini menjadi masalah klinis yang harus ditangani. Masalah baru muncul karena *Escherchia coli* mengalami resistensi terhadap beberapa antibiotik (Tadesse dkk., 2012), yang diakibatkan oleh penggunaan obat antibiotik yang tidak terkontrol (Bisht dkk., 2009). Karena penyakit yang ditimbulkan dan karena peningkatan resistensi *Escherchia coli* terhadap berbagai antibiotik, maka perlu untuk dicari obat antibakteri baru.

Tumbuhan dapat digunakan sebagai alternatif untuk obat antibakteri baru. Tumbuhan dapat berkhasiat sebagai

antibakteri karena mengandung senyawa bioaktif atau senyawa metabolit sekunder (Saxena & Kalra, 2011; Pfoze dkk., 2011; Chavan & Gaikwad, 2013).

Tumbuhan salam (*Syzygium polyanthum*) adalah salah satu tumbuhan yang dapat digunakan sebagai antibakteri. Penelitian sebelumnya telah melaporkan bahwa ekstrak etanol 96% kulit batang tumbuhan salam dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* tetapi tidak menghambat pertumbuhan *Escherchia coli* (Putra dkk., 2015). Diduga senyawa metabolit sekunder dari kulit batang tumbuhan salam belum terekstrak secara maksimal oleh pelarut etanol, sehingga tidak menunjukkan daya hambat terhadap *Escherchia coli*. Oleh sebab itu, perlu digunakan pelarut yang lebih baik dari etanol 96% untuk proses ekstraksi, sehingga senyawa metabolit sekunder dari kulit batang tumbuhan salam akan terekstrak dengan

maksimal. Pelarut yang lebih baik dari etanol adalah pelarut metanol (Depkes RI, 2000; Pandey & Tripathi, 2014).

Penelitian ini bertujuan untuk menguji secara kualitatif senyawa yang terdapat di dalam ekstrak metanol kulit batang tumbuhan salam (*Syzygium polyanthum*), serta menguji aktivitas antibakteri dari ekstrak metanol kulit batang tumbuhan salam terhadap bakteri *Escherchia coli*.

2. METODE PENELITIAN

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimen dengan rancangan acak lengkap (RAL). Penelitian ini dilakukan pada bulan September-Oktober 2016 di Laboratorium Kimia Unit Pelaksanaan Teknis (UPT) Materia Medica Kota Batu dan Laboratorium Biologi FMIPA Universitas Negeri Malang.

Alat

Alat yang digunakan adalah neraca analitik, *beaker glass* 1000 ml, tabung reaksi kecil, cawan petri, mikropipet 10 ml dan 5 ml, kertas cokelat, kapas, aluminium foil, benang nilon, vortex, pengaduk, autoklaf, pisau, gunting, tampah bambu, *blander*, toples bertutup, alkoholmeter, *shaker digital*, kertas saring, *rotary evaporation*, botol kecil, gelas ukur, corong gelas, tabung reaksi, penjepit tabung reaksi, bunsen, korek api, spatula, pipet tetes, jarum inokulasi berkelong dan jarum inokulasi lurus, *cotton bud*, *paper disk*, *laminar air flow* (LAF), inkubator, jangka sorong.

Bahan

Bahan yang digunakan adalah kulit batang tumbuhan salam (*Syzygium polyanthum*), *Escherchia coli*, metanol, FeCl_3 , serbuk Mg, asam asetat anhidrat, H_2SO_4 , HCL, pereaksi mayer, dragendroff, 20 gram NA, 1000 ml aquades, nutrient cair, 1,5 gram *beef extract*, 2,5 gram *bacto pepton*.

Pembuatan Ekstrak

Kulit batang dibersihkan dari kotoran, dicuci, dipotong kecil-kecil dan kemudian dikeringkan dengan beralaskan tampah bambu, selama 4 hari, dibawah matahari langsung dari pukul 07.00–10.00. Setelah kering sampel dihaluskan sampai berbentuk serbuk. Sebanyak 400 gram serbuk kulit batang dimasukkan ke dalam gelas erlenmeyer 500 mL, kemudian ditambahkan

pelarut metanol sebanyak 2000 ml lalu diamkan selama 24 jam di atas *shaker digital*. Sampel disaring dan filtrat yang diperoleh ditampung, kemudian dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C sampai diperoleh ekstrak pekat.

Analisis Fitokimia

Analisis fitokimia meliputi analisis senyawa flavonoid, terpenoid, tannin, alkaloid (Hanani, 2015), saponin (Harborne, 1987).

1. Analisis senyawa flavonoid

5 ml ekstrak dipanaskan selama 5 menit, kemudian ditambahkan HCl pekat 2 tetes dan ditambahkan serbuk Mg, warna merah tua menunjukkan adanya flavonoid.

2. Analisis senyawa terpenoid.

1 ml ekstrak ditambahkan 3 tetes *Pereaksi Liebermann-burchard*, dibiarkan selama 15 menit, warna orange, jingga kecoklatan menunjukkan adanya terpenoid.

3. Analisis senyawa tanin.

0,5 ml ekstrak ditambahkan FeCl_3 1%, warna coklat kehitaman, biru kehitaman, atau hijau kehitaman menunjukkan adanya tannin.

4. Analisis senyawa alkaloid

1 ml ekstrak dimasukkan dalam 2 tabung reaksi, tabung reaksi satu ditambahkan dengan pereaksi mayer, endapan berwarna putih menunjukkan adanya alkaloid. Tabung reaksi lainnya ditambahkan pereaksi dragendroff, endapan jingga menunjukkan adanya alkaloid.

5. Analisis senyawa Saponin

1 ml ekstrak ditambahkan 2 ml air panas, kemudian dikocok dengan kuat, terbentuknya busa permanen setinggi 1 cm – 10 cm selama tidak kurang dari 10 menit menunjukkan adanya saponin.

Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi agar dengan menggunakan *paper disk*, adapun tahapannya adalah sebagai berikut.

1. Membuat media pertumbuhan bakteri NA (Nutrien Agar)

Memasukkan 6 gram NA ke dalam *beaker glass* yang berisi aquades 300 ml, lalu memanaskan larutan hingga homogen. Menuangkan 10 ml medium ke dalam tiap cawan petri dan 5 ml ke dalam tabung reaksi. Menutup semua cawan petri dan tabung reaksi kemudian media disterilkan dalam autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit. Media NA dalam cawan petri yang sudah di sterilkan ditunggu hingga membeku, sedangkan media yang ada di tabung reaksi diletakkan pada kemiringan 30°. Media agar miring digunakan untuk inokulum bakteri.

2. Membuat beberapa konsentrasi larutan uji

Larutan uji dibuat dengan konsentrasi yang didasarkan pada penelitian sebelumnya oleh Kusuma dkk. (2011) dengan konsentrasi 40%, 60%, 80%, dengan cara menimbang 0,4 g; 0,6 g; dan 0,8 g ekstrak metanol kulit batang kemudian masing-masing dilarutkan dalam 1 ml aquades.

3. Menguji Aktivitas Antibakteri

Mengambil isolat bakteri yang berumur 1 x 24 jam sebanya 5 jarum ose dan mencelupkannya ke dalam nutrien cair kemudian dihomogenkan. Mencelupkan *cotton bud* steril ke dalam biakan murni bakteri dalam medium nutrien cair. Mengoleskan secara merata pada permukaan medium lempeng NA secara aseptik. Mencelupkan *paper disk* ke dalam masing-masing konsentrasi ekstrak kulit batang selama 15 menit. Meletakkan *paper disk* di atas media agar yang sudah ditumbuhkan bakteri *Escherchia coli* dengan ketentuan satu cawan petri satu *paper disk* dengan jumlah pengulangan 5 kali. Menginkubasi pada suhu 37°C selama 24

jam. Mengukur diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Escherchia coli* pada masing masing konsentrasi ekstrak kulit batang tumbuhan salam.

Analisis Data Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

Data hasil pengujian aktivitas ekstrak metanol kulit batang tumbuhan salam terhadap diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Escherchia coli* dianalisa secara statistik menggunakan metode *one way anova* dan dilanjutkan dengan *LSD test*.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis Fitokimia

Hasil Analisis fitokimia secara kualitatif menunjukkan bahwa pada ekstrak kulit batang tumbuhan salam hanya mengandung senyawa tannin (Tabel 1).

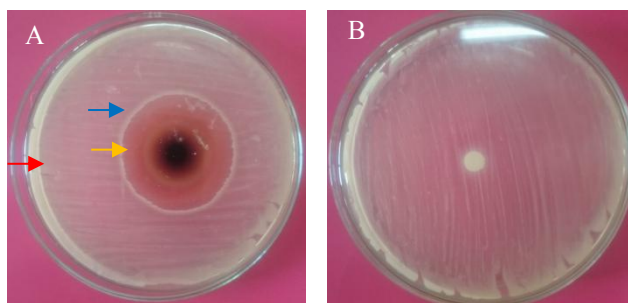
Tabel 1. Hasil Analisis Fitokimia Ekstrak Metanol Kulit Batang *Syzygium polyanthum*

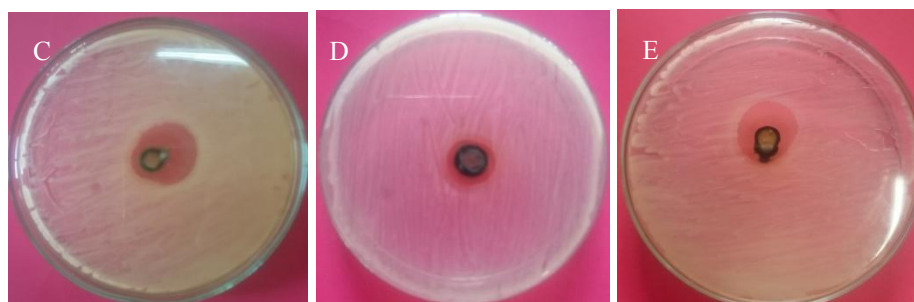
Analisis	Hasil Tes
Flavonoid	-
Saponin	-
Terpenoid	-
Tanin	+
Alkaloid	-

Keterangan : (-) : tidak terdeteksi
(+) : terdeteksi

Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri ekstrak metanol kulit batang tumbuhan salam (*Syzygium polyanthum*) terhadap bakteri *Escherchia coli* dilakukan menggunakan metode *disk diffusion*. Setelah diinkubasi selama 1 x 24 jam kemudian diamati zona hambat di sekeliling *paper disk* yang telah diberi zat antibakteri (Gambar 1).





Gambar 1. (A) Kontrol positif, (B) Kontrol negatif, (C) Konsentrasi 40%, (D) Konsentrasi 60%, (E) Konsentrasi 80%. Tanda panah warna biru (zona hambat), warna kuning (zat antibakteri), warna merah (bakteri *Escherchia coli*)

Hasil pengukuran diameter zona hambat menunjukkan rata-rata diameter zona hambat kontrol positif (27,3 mm), konsentrasi 40% (16,2 mm), 60% (8,5 mm), dan 80% (16,3 mm), sedangkan kontrol negatif tidak menunjukkan adanya zona hambat (Tabel 2).

Tabel 2. Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Ekstrak metanol kulit batang *Syzygium polyanthum* terhadap Bakteri *Escherchia coli*

Perlakuan	Rata-rata Diameter \pm SD (mm)	Notasi
Konsentrasi 40%	16,2 \pm 6,7971	A
Konsentrasi 60%	8,5 \pm 3,4095	B
Konsentrasi 80%	16,3 \pm 7,1379	A
Kontrol Positif	27,3 \pm 2,7065	C
Kontrol Negatif	0	d

Hasil analisis *one way anova* menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak tumbuhan salam (*Syzygium polyanthum*) berpengaruh signifikan terhadap bakteri *Escherchia coli* ($p < 0,05$). Hasil uji LSD menunjukkan bahwa semua perlakuan baik kontrol positif, kontrol negatif, konsentrasi 40%, 60%, dan 80% menunjukkan perbedaan yang signifikan terhadap perlakuan lain, kecuali konsentrasi 40% terhadap konsentrasi 80% yang menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan. Kontrol positif menunjukkan aktivitas terbaik dibandingkan kelompok perlakuan, sedangkan kelompok perlakuan yang menunjukkan aktivitas terbaik adalah konsentrasi 80% dan 40% yang memiliki

kemampuan yang sama dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

Pembahasan

Ekstrak metanol kulit batang tumbuhan salam (*Syzygium polyanthum*) berpengaruh secara signifikan menghambat pertumbuhan *Escherchia coli* ($p < 0,05$). Pengaruh ekstrak metanol dalam menghambat pertumbuhan bakteri dapat dilihat dari zona bening yang terbentuk disekitar *paper disk* yang telah direndam dengan zat antibakteri.

Pengaruh terbaik ekstrak metanol kulit batang tumbuhan salam ditunjukkan oleh konsentrasi 80% dan 40% yang memiliki kemampuan yang sama dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Konsentrasi 80% dapat memberikan pengaruh terbaik karena semakin tinggi konsentrasi maka semakin tinggi daya hambatnya (Rastina, 2015; Rahmawati & Bintari, 2014), dan diduga konsentrasi yang tinggi mengandung senyawa aktif yang lebih banyak dibandingkan dengan konsentrasi lain. Sedangkan konsentrasi 40% dapat memberikan pengaruh terbaik diduga karena konsentrasinya yang tidak terlalu pekat menyebabkan ekstrak dapat berdifusi dengan luas dalam medium agar (Nurainy dkk., 2008).

Ekstrak metanol kulit batang tumbuhan salam dapat menghambat pertumbuhan *Escherchia coli* karena mengandung senyawa metabolit sekunder. Hasil analisis fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak metanol kulit batang tumbuhan salam positif mengandung tanin. Tanin umum terdapat pada kulit batang tumbuhan (Bobbarala, 2012). Tanin merupakan senyawa metabolit sekunder yang

merupakan agen antibakteri (Min dkk, 2008). Aktivitas tanin dalam menghambat pertumbuhan antibakteri berkaitan dengan kemampuannya untuk menginaktivasi adhesin (komponen permukaan sel untuk perlekatan dengan reseptor), enzim, dan protein transport membran dari bakteri (Bobbarala, 2012), sehingga bakteri rusak dan lepas dari perlekatannya terhadap inang (Hastuti dkk., 2016).

4. KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah terdapat pengaruh yang signifikan ekstrak metanol kulit batang tumbuhan salam (*Syzygium polyanthum*) terhadap bakteri *Escherchia coli*. Pengaruhnya adalah menghambat pertumbuhan bakteri *Escherchia coli*. Senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak kulit batang dan berperan dalam menghambat pertumbuhan bakteri adalah tanin.

5. REFERENSI

- Bisht, R., Katiyar, A., Singh, R., dan Mittal, P. 2009. Antibiotic Resistance-A Global Issue of Concern. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 2(2): 34-39.
- Bobbarala, V. 2012. *Antimicrobial Agents*. Croatia: InTech.
- Chavan, R. B. dan Gaikwad, D. K. 2013. Antibacterial Activity of Medicinally Important Two Species of *Allophylus*- *Allophylus cobbe* (L.) Raeusch. and *Allophylus serratus* (Roxb.) Kurz. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2(1): 1-7.
- Depkes RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Hanani, E. 2015. *Analisis Fitokimia*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Hastuti, U. S., Rahmawati, I., Mastika, L. M. K. 2016. Daya Antibakteri Metabolit Kapang Endofit Dari Tanaman Obat Ginseng Jawa (*Talinum Paniculatum* (JAQ.) Gaertn) terhadap E.Coli dan *B.Subtilis*. *Seminar Nasional Pendidikan dan Saintek 2016*.
- Kusuma, I. W., Kuspradini, H., Arung, E. T., Aryani, F., Min, Y. H., Kim, J. S., dan Kim, Y. U. 2011. Biological Activity and Phytochemical Analysis of Three Indonesian Medicinal Plants, *Murraya koenigii*, *Syzygium polyanthum* and *Zingiber purpurea*. *J Acupunct Meridian Stud*, 4(1): 75-79.
- Min, B. R., Pinchak, W. E., Merkel, R., Walker, S., Tomita, G. dan Anderson, R. C. 2008. Comparative Antimicrobial Activity of Tannin Extracts from Perennial Plants on Mastitis Pathogens. *Scientific Research and Essay*, 3(2): 066-073.
- Nurainy, F., Rizal, S., dan Yudiantoro. The Effect of Chitosan Concentrations on the Antibacterial Activiry with Gel Diffusion/Well Method. *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian*, 13(2): 117-125.
- Pandey, A. dan Tripathi, S. 2014. Concept of Standardization, Extraction and Pre Phytochemical Screening strategies for Herbal Drug. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2(5): 115-119.
- Pfoze, N. L., Kumar, Y., Myrboh, B., Bhagobaty, R. K., dan Joshi, S. R. 2011. *In vitro* Antibacterial Activity of Alkaloid Extract from Stem Bark of *Mahonia manipurensis* Takeda. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(5): 859-861.
- Putra, I. A., Erly, dan Masri, M. 2015. Uji Efek Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Batang Salam {*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp} terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* secara *Invitro*. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 4(2): 497-501.
- Rahmawati, F. dan Bintari, S. H. 2014. Studi Aktivitas Antibakteri Sari Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) terhadap Pertumbuhan *Bacillus cereus* dan *Salmonella enteritidis*. *Unnes Journal of Life Science*, 3(2): 103-111.

- Restina, Sudarwanto, M., dan Wientarsih, I. 2015. Antibacterial Activity of Ethanol Extract of Curry Leaf (*Murraya koenigii*) on *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, and *Pseudomonas Sp.* *Jurnal Kedokteran Hewan*, 9(2): 185-188.
- Saxena, G. dan Kalra, S.S. 2011. Antimicrobial Activity Pattern of Certain Terpenoids. *Internasional Journal of Pharma and Bio Sciences*, 2(1): 87-91.
- Tadesse, D. A., Zhao, S., Tong, E., Ayers, S., Singh, A., Bartholomew, M. J., dan Patrick, F. 2012. Antimicrobial Drug Resistance in *Escherichia coli* from Humans and Food Animal, United States, 1950-2002. *Emerging Infectious Diseases*, 18(5): 741-749.