

## **POTENSI EKSTRAK DAUN KAMBOJA PUTIH DARI MADIUN DAN MAGETAN SEBAGAI PENGHAMBAT PERTUMBUHAN BAKTERI SALMONELLA TYPHOSA (IN VITRO)**

**Ani Sulistyarsi<sup>1)</sup>, Fani Mardina Cahyani<sup>2)</sup>**

<sup>1</sup>Fakultas Keguruan Dan Ilmu Pendidikan, Universitas PGRI Madiun  
email: anisulistyarsi@unipma.ac.id

<sup>2</sup>Fakultas Ilmu Kesehatan Dan Sains, Universitas PGRI Madiun  
email: fani@unipma.ac.id

### **Abstrak**

Penelitian ini bertujuan untuk menghasilkan obat antiseptik yang aman bagi kesehatan masyarakat. Target penelitian ini adalah pengujian potensi ekstrak metanol daun Kamboja Putih (*Plumeria Acuminata* W.T.Ait) dari Madiun dan Magetan sebagai antiseptik terhadap *Salmonella typhi*. *Salmonella typhi* menghasilkan zat toksin yang menyebabkan demam tifoid pada saluran pencernaan berupa pendarahan, kerusakan hati dan sumsum tulang belakang sampai meningitis. Pemanfaatan obat-obatan tradisional dari tanaman semakin diminati karena pada umumnya sangat kecil mempunyai efek samping negatif bila dibandingkan dengan obat-obatan yang berasal dari bahan kimia. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan metode difusi sumuran. Ekstrak konsentrasi 75%, 50%, 25%, kontrol positif, kontrol negatif masing-masing sebanyak 2µl dimasukkan ke dalam lubang sumuran kemudian diinkubasi pada suhu 37°C. Pengamatan dilakukan pada 48 jam. Hasil pengujian kandungan fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak metanol dari daun kamboja putih yang berasal dari Madiun dan Magetan mengandung antara lain senyawa fenol, glikosida, tannin, dan alkaloid. Perbedaan kamboja dari Magetan tidak mengandung glikosida. Hasil penelitian menunjukkan ada perbedaan zona hambat pada ekstrak 2 macam daun kamboja terhadap bakteri *Salmonella typhi* p value = 0,01 < 0,05. Pada uji daya hambat diperoleh hasil lebih baik dari ekstrak kamboja Madiun daripada kamboja Magetan, dengan konsentrasi terendah 25% dan zona hambat 22,33 mm.

**Kata Kunci:** Ekstrak Kamboja Madiun dan Magetan, fitokimia, *Salmonella typhosa*

### **PENDAHULUAN**

Kesehatan merupakan faktor yang sangat penting dalam kehidupan manusia. Pola hidup sehat dan kondisi lingkungan sangat mempengaruhi tingkat kesehatan manusia. Kondisi lingkungan yang kurang baik dapat menimbulkan berbagai macam penyakit antara lain demam berdarah, demam tifoid, flue, batuk, dll. *Salmonella typhi* merupakan salah satu bakteri batang gram negative yang tidak membentuk spora, serta memiliki kapsul. *Salmonella typhi* merupakan penyebab penyakit yang dapat menimbulkan malnutrisi. *Salmonella typhi* menghasilkan zat toksin yang menyebabkan demam tifoid pada saluran pencernaan berupa pendarahan, kerusakan hati dan sumsum tulang belakang sampai meningitis. Angka kematian demam tifoid di Indonesia masih tinggi dengan Case Fatality Rate sebesar 10% (Nainggolan, 2011). Tingginya angka morbiditas dan mortalitas karena demam tifoid, menggerakkan berbagai pihak berupaya untuk menyelesaikan masalah ini. Menurut WHO (World Health Organisation) memperkirakan angka insiden di seluruh dunia sekitar 17 juta jiwa per tahun, angka kematian akibat demam typhoid mencapai 600.000 dan 70% terjadi di Asia. Di Indonesia penyakit demam typhoid bersifat endemik, menurut WHO angka penderita demam typhoid di Indonesia mencapai 81% per 100.000 (Depkes RI, 2013).

Permasalahan global yang ada adalah masih tingginya resistensi bakteri terhadap senyawa antibakteri. Beberapa isolat bakteri yang resisten mengakibatkan kegagalan terapi dalam proses klinik. Adapun upaya yang dapat dilakukan adalah dengan melakukan penelitian lebih lanjut untuk mendapatkan bahan alternatif yang mampu mengatasi infeksi oleh bakteri yang resisten terhadap antibiotika antara lain dengan menggunakan tanaman obat antimikroba alami yang dapat diperoleh dari

tumbuh-tumbuhan. Tumbuhan menghasilkan banyak senyawa untuk pertahanan diri melawan infeksi mikroba (Oyetayo, F.L. et.al, 2007). Senyawa – senyawa hasil metabolit sekunder yang dihasilkan tumbuhan yang bersifat sebagai antibakteri antara lain senyawa fenol dan fenolat (Pelczar and Chan, 1988), terpenoid (Daisy et.al, 2008), flavonoid (Pilewski, 2004), saponin, alkaloid, tanin, poliasetilen, poliamina, isotiosianat, tiosulfonat, dan glukosida (Cowan, 1999). Salah satu tanaman yang dapat dikembangkan sebagai antibakteri adalah Daun Kamboja Putih (*Plumeria Acuminata* W.T.Ait).

Tanaman kamboja putih (*Plumeria Acuminata* W.T.Ait) adalah jenis tanaman yang berpohon (perdu) dengan tinggi bisa mencapai 3-7 meter dan banyak mengandung getah. Batang pokok tanaman kamboja besar, berkayu keras dan kuat, bercabang-cabang dan tumbuh membengkok. Tanaman ini mampu tumbuh dengan baik di dataran rendah sampai ketinggian 700 meter di atas permukaan laut. Tanaman kamboja biasanya hidup sendiri tanpa harus mengelompok dengan tanaman lainnya, bisa beradaptasi di berbagai tempat dan tidak memerlukan iklim tertentu untuk tumbuh. Tumbuhan ini sebagai tumbuhan herbal liar, hidup menahun yang banyak manfaatnya bagi kesehatan manusia dalam penyembuhan beberapa penyakit (Trubus, 2013). Berdasarkan uraian diatas maka penelitian ini ingin mengetahui kandungan fitokimia dari daun kamboja putih yang berada pada lokasi yang berbeda, yaitu dari Madiun dan Magetan. Selain itu juga menguji daya hambat kedua ekstrak daun kamboja tersebut terhadap bakteri *Salmonella typhosa*. Pendahuluan mencakup latar belakang atas isu atau permasalahan serta urgensi dan rasionalisasi kegiatan.

## **METODE PENELITIAN**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan metode difusi cakram (paper disc) dengan membuat sumuran. Uji kandungan fitokimia dengan menggunakan metode KLT (Kromatografi Lapis Tipis).

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biologi Universitas PGRI Madiun dan Laboratorium AKAFARMA Sunan Giri Ponorogo. Pembuatan simplisia dilakukan di Laboratorium Biologi Universitas PGRI Madiun. Pembuatan ekstrak metanol, uji fitokimia dan uji daya hambat bakteri dilakukan di AKAFARMA Sunan Giri Ponorogo. Waktu penelitian pada bulan April hingga Juli 2018.

### **Alat dan Bahan**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Blender, Saringan, Stoples, Cawan petri, Pipet tetes, Tabung reaksi, Jangka sorong, Ose, Beker glass, Labu ukur 100 ml, Labu ukur 10 ml, Toples kaca, Bunsen, Lempeng silinder, Mikropipet, Transpipet, Autoklaf, Rotary evaporator, Inkubator, Lempeng silinder, kertas label dan alat tulis.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kamboja Putih (*Plumeria Acuminata* W.T.Ait) segar dari pekarangan makam di Kelurahan Patihan Kota Madiun dan pekarangan makam Desa Gerih Magetan. Bahan lainnya adalah Kertas saring, Alumunium foil, larutan metanol, HNO<sub>3</sub> pekat, larutan NaCl fisiologis, Aquadest steril, biakan bakteri *Salmonella typhi*, Media pepton 1% dan media Mueller Hinton Agar (MHA) diperoleh dari Laboratorium AKAFARMA Sunan Giri Ponorogo.

### **Prosedur Kerja**

#### **Preparasi Sampel**

Daun Kamboja Putih (*Plumeria Acuminata* W.T.Ait) segar yang sudah dipilih ditimbang sebanyak 1000 g dicuci bersih, dirajang atau dipotong kecil-kecil dan dikering-anginkan selama kurang lebih 14 hari sampai benar-benar kering. Daun Kamboja Putih (*Plumeria Acuminata* W.T.Ait) yang sudah kering dihaluskan dengan blender sehingga terbentuk serbuk daun kamboja kering yang disebut simplisia.

#### **Maserasi Simplisia**

Menimbang simplisia yang dihasilkan sebanyak 100 gram menggunakan beker glass. Memindahkan serbuk tersebut ke dalam botol maserasi. Kemudian menambahkan pelarut dengan perbandingan 1:10, 1 untuk sampel dan 10 untuk pelarut (metanol : air, 7:1). Bagi pelarut 1000 ml,  $\frac{3}{4}$  bagian (750 ml) untuk merendam dan  $\frac{1}{4}$  bagian (250 ml) untuk membilas. Setelah serbuk sampel terendam semua, mengaduk

hingga benar-benar rata. Menutup botol maserasi rapat-rapat, dengan tujuan agar tidak ada pelarut yang menguap. Menunggu selama 7 hari, sambil diaduk sesekali. Menyaring ekstrak menggunakan kertas saring, selanjutnya ekstrak dipekatkan pada rotary evaporator dengan suhu  $\pm 50^{\circ}\text{C}$ . Memasukkan ekstrak yang sudah pekat ke dalam botol dan menimbang ekstrak tersebut. (Depkes, 1986)

#### ***Sterilisasi Alat***

Seluruh alat yang digunakan dicuci dengan air dan cairan pembersih kemudian dibungkus dengan kertas koran/kertas perkamen lalu dikeringkan dengan oven sampai suhu  $160^{\circ}\text{C}$  -  $170^{\circ}\text{C}$  selama 1 jam.

#### ***Tahap Skrining kandungan Fitokimia ekstrak daun Kamboja dari Madiun dan Magetan.***

Tahap skrining dilakukan terhadap senyawa fenol, glikosida, Saponin, Tannin dan Alkaloid, dengan menggunakan metode KLT (Kromatografi Lapis Tipis).

#### ***Uji Fitokimia***

##### ***Uji Fenolik***

Sedikit ekstrak dimasukkan dalam tabung reaksi lalu ditambahkan dengan pereaksi besi (III) klorida 1% dalam akuades. Reaksi positif jika memberikan warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam yang kuat (Bawa, 2011).

##### ***Uji Glikosida***

Uapkan 0,1 ml ekstrak kamboja di atas penangas air, kemudian larutkan sisa dalam 5 ml asam asetat anhidrat lalu tambahkan 10 tetes  $\text{H}_2\text{SO}_4$  sampai pH 2. Jika larutan berwarna biru kehijauan maka glikosida positif (reaksi Liebermann Burchardat). Masukkan 0,1 ml ekstrak kamboja dalam tabung reaksi lalu uapkan diatas penangas air, pada sisa-sisa pertama tambahkan 2 ml air dan 5 tetes molish kemudian tambahkan 2 ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$  p maka terbentuk cincin ungu pada batas cairan maka ikatan gula positif (reaksi molish).

##### ***Uji Saponin***

Hasil ekstraksi ditambah aquades yang telah dipanaskan kurang lebih 10 ml. Kocok sampai berbusa selama 10 detik. Tambahkan HCl 2N sebanyak 1 tetes. Jika buih tetap maka positif mengandung saponin.

##### ***Uji Tanin***

Maserat diambil sedikit kemudian ditambahkan HCl 2N pada penangas air selama 30 detik. Angkat Erlenmeyer, biarkan dingin bila terlihat warna merah maka positif mengandung tannin. Tambahkan  $\text{FeCl}_3$

- Jika terbentuk larutan hijau = tannin terkondensasi
- Jika terbentuk larutan merah = tannin terhidrolisis

Tambahkan HCl, panaskan 30 menit jika tetap bening maka tannin terhidrolisis, jika tidak bening maka tannin terkondensasi

##### ***Uji Alkaloid***

Maserat diuapkan sampai 1/10 bagian lalu diekstraksi dengan kloroform, ambil fase asam, ekstrak dengan kloroform:etanol (3:1) sebanyak 3 kali. Uapkan filtrate di atas penangas air, larutkan sisa dengan sedikit HCl 2N. Lakukan percobaan dengan reaksi pengendapan dan reaksi warna. Sampel mengandung sekurang-kurangnya terbentuk endapan dengan 2 golongan yang digunakan.

Reaksi pengendapan:

- Golongan I = larutan percobaan dengan alkaloid membentuk garam yang tidak larut (fosfo molibdat, silica wolframat)
- Golongan II = larutan percobaan dengan alkaloid membentuk senyawa kompleks bebas, kemudian membentuk endapan (bouchardat, wagner)
- Golongan III = larutan percobaan dengan alkaloid membentuk senyawa adisi yang tidak larut (mayer, dragendroff, dan marme)
- Golongan IV = larutan percobaan dengan alkaloid membentuk ikatan asam organik dengan alkaloida (hager)

Reaksi warna:

- Pindahkan beberapa ml filtrate pada cawan porselen
- Tambahkan 1 – 3 tetes larutan percobaan (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> p, HNO<sub>3</sub> p, frohde, dan Erdmann)

#### **Tahap Pengujian Daya Hambat pada Bakteri**

##### **Pembuatan Media Mueller Hinton Agar (MHA)**

Komposisi: pepton 6 gram, kasein 17,5 gram, pati 1,5 gram, dan agar 10 gram. Menyiapkan beker glass 250 ml. Masukkan 100 ml aquadest ke dalam beker glass. Tambahkan media MHA yang sudah ditimbang. Aduk sampai homogen. Tambahkan 100 ml aquadest untuk membersihkan pinggiran beker glass, kemudian campur larutan dengan baik. Larutan dipanaskan agar semua bahan terlarut. Masukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 10 ml sampai habis. Mensterilkan tabung dalam autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit (Lay, 1994:33).

##### **Ekstraksi**

Sebanyak kurang lebih 100 gram serbuk daun kamboja diekstraksi secara maserasi dengan menggunakan 750 mL metanol air sampai semua serbuk terendam dan diaduk lalu ditutup dan disimpan selama 7 hari. Pengadukan dilakukan kurang lebih sebanyak tiga kali sehari. Selanjutnya dilakukan penyaringan sehingga didapat filtrat dan residu. Residu yang dihasilkan kemudian dimaserasi kembali dengan penambahan 250 mL metanol selama 3 hari dan dilakukan penyaringan setiap hari. Semua filtrat yang dihasilkan disatukan menjadi satu dalam satu wadah sebagai filtrat ekstrak metanol. Kemudian filtrat tersebut dipekatkan dengan vacuum rotary evaporator dengan suhu  $\pm 50^{\circ}\text{C}$ , hinggapdidapatkan ekstrak yang kental kemudian ditimbang (Depkes, 1986).

##### **Persiapan sample dengan seri kadar 25%, 50%, 75%.**

Pembuatan konsentrasi ekstrak daun kamboja menggunakan rumus persentase melalui pelarut NaCl fisiologis, yaitu dengan rumus :

$$V_p \cdot K_p = V_e \cdot K_e$$

Keterangan:

$V_p$  = Volume larutan pekat,

$K_p$  = Konsentrasi larutan pekat,

$V_e$  = Volume larutan encer,

$K_e$  = Konsentrasi larutan encer (Suhara, 2013, hlm 44).

##### **Regenerasi Bakteri Uji**

Bakteri yang akan dipakai untuk uji antibakteri harus diregenerasikan terlebih dahulu sebelum digunakan. Bakteri stok *Salmonella typhosa* yang merupakan kultur primer, mula-mula dibiakkan ke dalam Nutrient Agar (NA) miring. Beberapa koloni isolat bakteri *Salmonella typhosa* diambil dengan jarum ose steril secara aseptis lalu dikultur dalam 10 ml pepton 1%. Jarum ose yang mengandung biakan dimasukkan sambil digoyang-goyang sedikit agar biakan terlepas dari ose. Setelah itu inkubasi biakan pada inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam (Lay, 1994:43).

##### **Uji Aktifitas Bakteri Dengan Metode Difusi**

Menandai cawan petri dengan nama, tanggal dan mikroorganisme yang diuji, kemudian media MHA dituangkan ke dalam cawan petri steril, dibiarkan memadat. Mencilupkan tangkai kapas dalam biakan mikroorganisme, kemudian putar bagian kapas ke sisi tabung agar cairan tidak menetes dari ujung kapas tersebut. Menyebar mikroorganisme pada seluruh permukaan lempengan agar.

Untuk mendapatkan pertumbuhan yang merata, gores secara mendatar, kemudian putar lempengan 90° dan buat goresan kedua, putar lempengan 45° dan buat goresan ketiga. Biarkan lempengan mengering selama 5 menit, kemudian tempatkan silinder secara aseptis pada permukaan lempeng media. Jarak antara silinder harus luas sehingga wilayah jernih tidak berhimpitan. Silinder ditekan menggunakan pinset pada permukaan lempengan sehingga terdapat kontak yang baik antara silinder dan lempengan agar. Memasukkan larutan sampel menggunakan *mikropipet* sebanyak 2µl ke dalam silinder.

Menandai masing-masing silinder seri perlakuan pengambilan sampel. Menginkubasi lempengan pada suhu 37°C selama 48 jam (Lay, 1994:71-72).

#### **Pengukuran Diameter Zona Hambat**

Setelah dilakukan proses inkubasi selama 2x24 jam, maka dilakukan pengamatan ukuran diameter zona hambat, yaitu daerah yang tidak terdapat pertumbuhan bakteri. Pengukuran diameter dilakukan dengan menggunakan jangka sorong manual dengan ketelitian 0,01 mm. Diameter zona hambat diukur dari tepi (*break point*) ke tepi (*break point*) zona hambat yang berseberangan melewati pusat lempeng silinder. Jika tidak terdapat zona hambat disekitar lempeng silinder, maka nilai zona hambat dikatakan 0.00 mm (Hudzicki dalam Putra, 2016:28).

Rumus pengukuran zona hambat adalah:

$$X = \frac{Z_1 + Z_2 + Z_3 + \dots + Z_n}{n}$$

Keterangan :

$X$  = rata-rata daya hambat (mm)

$Z$  = diameter zona hambat (mm)

$n$  = jumlah perlakuan

#### **Analisis Data**

Data penelitian dianalisis dengan pengamatan secara visual dan pengukuran rata-rata diameter zona hambat bakteri di sekitar *paper disc* yang telah ditetesi larutan uji terhadap bakteri *Salmonella typhosa*. Diamati KHM sudah tercapai apa belum.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Hasil Pengujian Kandungan Fitokima Ekstrak Metanol Daun Kamboja Putih Berasal Dari Madiun Dan Magetan**

Daun kamboja putih yang digunakan dalam penelitian ini diambil dari pekarangan makam di kelurahan Patihan Kota Madiun dan pekarangan makam Desa Gerih Magetan. Bila diamati dari keadaan daunnya yang berasal dari Madiun lebih tebal, lebih kaku, berwarna hijau lebih muda, ujungnya agak lancip dan ukuran lebih kecil memanjang. Sedangkan daun kamboja putih yang dari Magetan lebih lentur, tidak terlalu tebal, berwarna lebih hijau dan mengkilat, ujungnya agak tumpul dan membulat, ukuran relatif lebih besar dan lebih pendek terlihat seperti pada Gambar 1.



(a)



(b)

Gambar 1. Daun kamboja Putih (a) Madiun dan (b) Magetan (Sulistiyarsi, 2018)

Pada saat proses pengeringan waktu yang dibutuhkan juga relatif berbeda. Daun kamboja putih dari Madiun relatif lebih cepat kering membutuhkan waktu 13 hari meskipun lebih tebal dari pada daun kamboja putih dari Magetan. Sedangkan daun kamboja putih dari Magetan yang lebih besar dan tidak terlalu tebal membutuhkan waktu 15 hari. Hal ini menunjukkan bahwa kandungan air daun kamboja putih Madiun lebih rendah daripada kandungan air daun kamboja putih Magetan. Kandungan fitokimia yang diuji pada daun tumbuhan umumnya yaitu senyawa fenol, alkaloid, saponin, tanin/polifenol dan glikosida. Hasil pengujian kandungan fitokimia terhadap kedua sampel daun kamboja putih tersebut terlihat seperti pada Tabel 1. berikut:

Tabel 1. Hasil Uji Kandungan Fitokimia Ekstrak Kamboja dari Madiun dan Magetan

| Nama sampel     | Uji fitokimia                 | Pereaksi                                 | Ket |
|-----------------|-------------------------------|------------------------------------------|-----|
| Kamboja Madiun  | Senyawa fenol (kemferol)      | KLT                                      | +   |
|                 | Glikosida                     | Lieberman-Burchad                        | +   |
|                 | Saponin                       | Aquadest                                 | -   |
|                 | Tannin(tannin terhidrolisis)  | HCl+FeCl <sub>3</sub>                    | +   |
|                 | Alkaloid                      | Wagner,dragendrof, mayer, fosfo molibdat | +   |
| Kamboja Magetan | Senyawa fenol (apiqenin)      | KLT                                      | +   |
|                 | Glikosida                     | Lieberman-Burchad                        | -   |
|                 | Saponin                       | Aquadest                                 | -   |
|                 | Tannin (tannin terhidrolisis) | HCl+FeCl <sub>3</sub>                    | +   |
|                 | Alkaloid                      | Wagner,dragendrof, mayer, fosfo molibdat | +   |

Pada ekstrak daun kamboja Madiun terdapat senyawa fenol golongan kemferol sedangkan pada daun kamboja Magetan menunjukkan senyawa fenol golongan apiqenin. Banyak penelitian telah membuktikan bahwa flavon adalah senyawa dengan bioaktivitas yang luas. Di antaranya, luteolin dan apigenin telah digambarkan sebagai senyawa dengan kemampuan anti-kanker dan antimutagenik in vitro dan in vivo. Luteolin memiliki efek vasodilatasi pada dada aorta tikus dan apigenin yang juga memiliki efek vasodilatasi dapat menekan pertumbuhan tumor kulit (Materska, M, 2014). Melalui uji Kromatografi Lapis Tipis menggunakan sinar UV, keduanya menunjukkan warna kuning yang agak berbeda karena adanya perbedaan berat molekulnya seperti terlihat pada Gambar 2. berikut.



Madiun



Magetan

Gambar 2. Hasil Uji KLT Ekstrak Daun kamboja Putih (Sulistyarsi, 2018)

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun kamboja terhadap bakteri *Salmonella typhosa* dilakukan dengan metode Kirby-Bauer, dimana prinsip metode ini adalah pengukuran diameter zona jernih di sekeliling kertas cakram yang berisi zat anti mikroba. Berdasarkan penelitian Rolliana (2010), adanya senyawa flavonoid yang terdapat dalam daun kamboja berfungsi sebagai penghambat pembelahan sel bakteri melalui jalur transduksi dari membran ke inti sel bakteri. Selain flavonoid, beberapa senyawa yang terkandung dalam daun kamboja yang bersifat bakteristatik adalah alkaloid, terpenoid, dan glikosida.

Hasil dari uji fitokimia diketahui bahwa di dalam ekstrak daun kamboja yang digunakan sebagai sampel dalam penelitian ini mengandung beberapa senyawa metabolit yaitu fenol, glikosida, tanin dan alkaloid. Menurut Saifudin (2006), senyawa alkaloid merupakan salah satu senyawa yang bersifat antibakteri karena dapat merusak dinding sel bakteri, sehingga pembelahan sel terhambat.

Mekanisme antibakteri senyawa fenol dalam membunuh mikroorganisme yaitu dengan mendenaturasi protein sel. Ikatan hidrogen yang terbentuk antara fenol dan protein mengakibatkan struktur protein menjadi rusak. Ikatan hidrogen tersebut akan mempengaruhi permeabilitas dinding sel dan membran sitoplasma sebab keduanya tersusun atas protein. Permeabilitas dinding sel dan membran sitoplasma yang terganggu dapat menyebabkan ketidakseimbangan makromolekul dan ion dalam sel, sehingga sel menjadi lisis (Palczar adan Chan, 1988).

Mekanisme kerja antibakteri tanin mempunyai daya antibakteri dengan cara mempresipitasi protein. Efek antibakteri tanin melalui reaksi dengan membran sel, inaktivasi enzim dan inaktivasi fungsi materi

genetik. Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri adalah menghambat enzim reverse transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk (Nuria dkk, 2009).

Berdasarkan senyawa yang terkandung di dalam ekstrak daun kamboja, mekanisme penghambatan bakteri oleh ekstrak kamboja yaitu merusak dinding dan membran plasma sel bakteri. Struktur dinding sel bakteri Gram negatif lebih kompleks, yaitu berlapis tiga terdiri dari sejumlah besar lipoprotein, lipopolisakarida dan lemak. Adanya lapisan-lapisan dinding sel pada bakteri tersebut mempengaruhi aktivitas kerja dari zat antibakteri. Lapisan tengah lipopolisakarida yang berperan sebagai penghalang masuknya bahan bioaktif antibakteri dan lapisan dalam berupa peptidoglikan dengan kandungan lipid tinggi (11- 12)% (Kusumaningrum, 2012).

#### Pengukuran Diameter Zona Hambat

Proses inkubasi dilakukan selama 2x24 jam, kemudian dilakukan pengamatan ukuran diameter zona hambat, yaitu daerah yang tidak terdapat pertumbuhan bakteri. Berdasarkan klasifikasi respon hambatan pertumbuhan bakteri menurut Davis dan Stout (1971) ada 4 tingkat, yaitu disajikan pada Tabel 2. berikut.

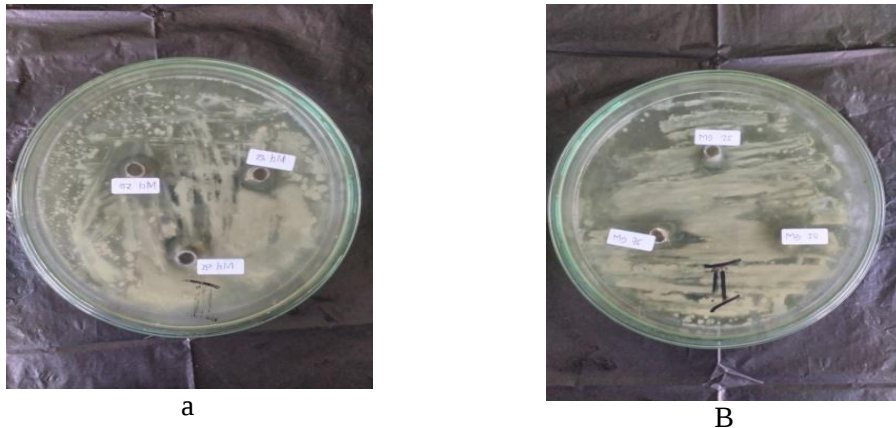
| Tabel 2. Klasifikasi Respon Hambatan Pertumbuhan Bakteri |                             |
|----------------------------------------------------------|-----------------------------|
| Diameter zona hambat                                     | Respon hambatan pertumbuhan |
| Lebih dari 20                                            | Sangat kuat                 |
| 10 – 20 mm                                               | Kuat                        |
| 5 – 10 mm                                                | Sedang                      |
| Kurang dari 5 mm                                         | Lemah                       |

Pengukuran diameter dilakukan dengan menggunakan jangka sorong manual dengan ketelitian 0,01 mm. Diameter zona hambat diukur dari tepi (break point) ke tepi (break point) zona hambat yang berseberangan melewati pusat lempeng silinder. Jika tidak terdapat zona hambat disekitar lempeng silinder, maka nilai zona hambat dikatakan 0.00 mm (Hudzicki dalam Putra, 2016:28).

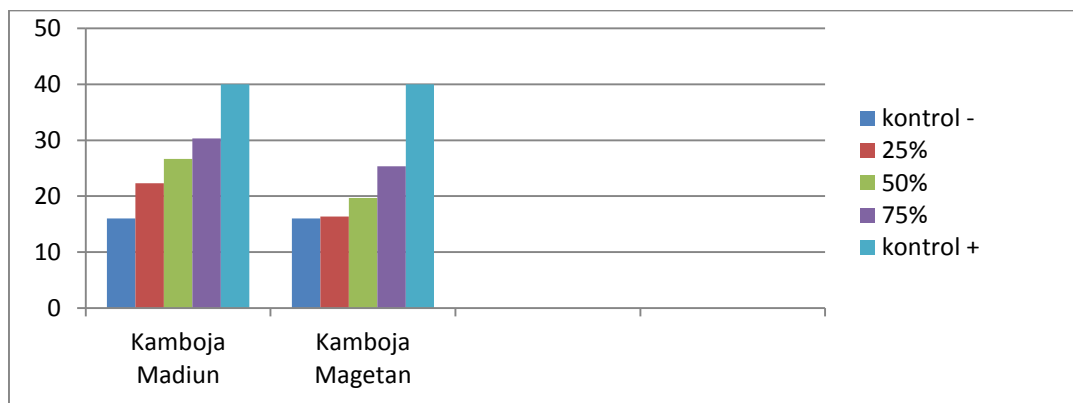
Sampel berupa ekstrak daun kamboja yang sudah dibuat dengan seri kadar 25%, 50%, dan 75%. Hasil pengamatan zona daya hambat ekstrak daun kamboja terhadap bakteri *Salmonella typhosa* dapat dilihat pada Tabel 3. berikut ini.

| Tabel 3. Data Rata-rata Pengukuran Zona Hambat Bakteri <i>Salmonella Typhosa</i> |                                                          |         |
|----------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|---------|
| Sampel                                                                           | Rata-rata Nilai Zona Hambat <i>Salmonella typhi</i> (mm) |         |
|                                                                                  | Madiun                                                   | Magetan |
| Kontrol +                                                                        | 40,00                                                    | 40,00   |
| 75%                                                                              | 30,33                                                    | 25,33   |
| 50%                                                                              | 26,66                                                    | 19,66   |
| 25%                                                                              | 22,33                                                    | 16,33   |
| Kontrol -                                                                        | 16,00                                                    | 16,00   |

Hasil pengujian ekstrak daun kamboja dari Madiun dan Magetan terhadap bakteri tersebut menunjukkan respon hambatan yang kuat menurut respon hambatan pertumbuhan Davis dan Stout (1971), dimana rata-rata nilai zona hambat lebih dari 10 mm.

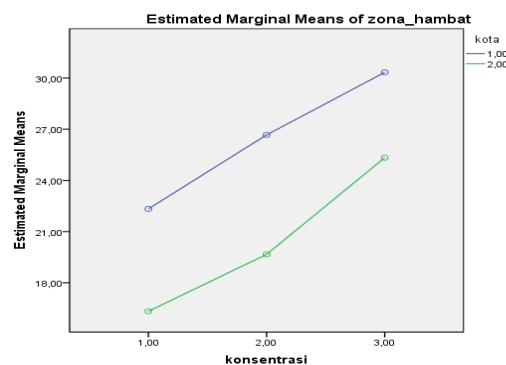


Gambar 4. Pemberian Ekstrak Daun Kamboja Konsentrasi 25%, 50%, 75% Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Salmonella typhosa* pada (a) Kamboja Madiun (b) Kamboja Magetan



Gambar 5. Histogram Uji Efektifitas ekstrak daun kamboja konsentrasi 25%, 50%, 75% terhadap bakteri *Salmonella typhosa*

Hasil analisis statistik menggunakan uji anova didapatkan hasil  $p$  value = 0,01, lebih kecil dari 0,05 yang berarti bahwa  $H_0$  ditolak sehingga dari penelitian tersebut dapat dikatakan ekstrak daun kamboja memiliki perbedaan daya hambat terhadap bakteri *Salmonella typhosa*. Ekstrak kamboja dari Madiun menunjukkan daya hambat terhadap bakteri *Salmonella typhosa* lebih baik dari kamboja Magetan. Salah satu penyebabnya adalah kandungan senyawa fitokimianya lebih lengkap dari kamboja Magetan. Namun keduanya menunjukkan daya hambat yang relatif kuat.



Gambar 6. Hasil Uji Anova

Nilai korelasi *Spearman* dalam pengujian didapatkan  $r = 0,773$ . Nilai hasil korelasi *Spearman* menunjukkan arah korelasi positif dengan nilai korelasi tinggi. Hasil uji korelasi menunjukkan semakin besar konsentrasi ekstrak daun kamboja, maka semakin besar diameter zona hambat yang dihasilkan.

## **SIMPULAN DAN SARAN**

Ekstrak daun kamboja putih mengandung senyawa fitokimia antara lain senyawa fenol, alkaloid, saponin, tanin/polifenol dan glikosida. Ekstrak daun kamboja memiliki aktivitas antibakteri yang kuat pada bakteri *Salmonella typhosa*. Berdasarkan hasil uji daya hambat diperoleh hasil bahwa ekstrak kamboja Madiun lebih baik, yaitu dengan konsentrasi terendah 25% dan zona hambat 22,33 mm. Semakin besar konsentrasi ekstrak daun kamboja yang diberikan secara in vitro pada bakteri, semakin besar pula diameter zona hambat yang dihasilkan.

Berdasarkan hasil penelitian ini disarankan untuk melakukan pengujian kandungan senyawa fitokimia secara kuantitatif pada ekstrak daun kamboja putih. Selain itu juga perlu dilakukan pengujian pada bakteri gram positif, untuk mengetahui efektifitas daya hambatnya.

## **DAFTAR PUSTAKA**

- Bawa, I.G.A.G. 2011. Aktivitas Antioksidan Dan Antijamur Senyawa Atsiri Bunga Cempaka Putih (*Michelia alba*). Universitas Udayana Bukit Jimbaran, Jurusan Kimia FMIPA. Vol 5(1): 43-50
- Cowan, M.M. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*. 1999;12: 564 – 582.
- Davis & Stout. (1971). Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Essay. *Journal Of Microbiology*. Vol 22 No 4.
- Daisy, P., Mathew, S., Suveena, S., Nirmala, A. R. 008. A Novel Terpenoid from *Elephantopus scaber* Antibacterial Activity on *Staphylococcus aureus*: A Substantiate Computational Approach. *International Journal of Biomedical Science*. Int J Biomed Sci 2008;4(3):196-203.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1986. Sediaan Galenik dan Uji Klinik Obat Tradisional. Katalog dalam Terbitan Departemen Kesehatan RI. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan.
- Depkes RI, 2013. Sistematika Pedoman Penyakit Demam Tifoid. Jakarta: Direktorat Jendral Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan.
- Jawetz, Melnick, Adelberg. *Mikrobiologi Kedokteran*, Edisi Ke-23. Jakarta: EGC; hal: 229-230. 2008.
- Kusumaningrum, YN. 2012. Aktivitas antibakteri ekstrak kulit rambutan (*nephelium lappaceum*) terhadap *staphylococcus aureus* & *escherichia coli*. Tesis. Bogor: Departemen Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.
- Lay, Bibiana. 1994. Analisis Mikroba di Laboratorium. Jakarta: Raja Grafindo
- Nainggolan, R. 2011. Karakteristik Penderita Demam Tifoid. Medan: Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Sumatera Utara
- Nuria, Maulita Cut, Faizaitun, Arvin, Sumantri, Uji ktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha Curcas L*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Atcc 25923 *Escherichia coli* Atcc 25922, Dan *Salmonella typhi* Atcc 14028, *Mediagro*. 2009;5(2):26–37.
- Palczar, J.M dan Chan, E.C.S. *Dasar-dasar Mikrobiologi* 2. Jakarta: Penerbit UI Press. 1988.
- Pilewski, Bylka, W., Matlawska, N.A. 2004. Natural Flavonoids as Antimicrobial Agents, Department of Pharmacognosy, K. Marcinkowski University of Medicinal Sciences 10 Sieroca, 61-771 Poznan, Poland. *JANA* Vol 7. No. 2. 2004
- Rolliana, E.R. 2010. Uji Toksisitas Akut (*Plumeria alba L*) Terhadap Larva *Artemia salina* Leach dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BST). Skripsi. Fakultas Kedokteran UNDIP. Semarang.
- Saifudin, A. 2006. Alkaloid : Golongan Paling Prospek Menghasilkan Obat Baru. Departemen Farmakologis. Gorleu Laboratory. University Leiden. Jerman.
- Trubus. 2013. 100 Plus Herbal Indonesia Bukti Ilmiah dan Racikan Vol.11. Jakarta: Trubus Swadaya.