

Konsentrasi Hambatan Minimum ekstrak *Portulaca grandiflora* terhadap penyakit Motile Aeromonad Septicaemia

Minimum Inhibition Concentration of *Portulaca grandiflora* extract Against Motile Aeromonad septicaemia

**Dafid Lauluw<sup>1</sup>, Reni L. Kreckhoff<sup>2</sup>, Sammy N.J. Longdong<sup>2</sup>, Desy M. Mantiri<sup>3</sup>,  
Juliaan Ch. Watung<sup>2</sup>, Reiny A. Tumbol<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>) Mahasiswa Program Studi Budidaya Perairan FPIK Unsrat Manado

<sup>2</sup>) Staf pengajar Program Studi Budidaya Perairan FPIK Unsrat Manado

<sup>3</sup>) Staf pengajar Program Studi Ilmu Kelautan FPIK Unsrat Manado

Email: lauluwdafid@yahoo.com

### Abstract

The objective of this study was to determine the minimum concentration of extract in inhibiting motile motile aeromonad septicaemia. The material used was the stems and leaves of the plant *P. grandiflora* as much as 10 g. The crushed simplicia was then macerated with aquades with a ratio of 1:10, then filtered with filter paper and, put in an Erlenmeyer, and evaporated in an incubator at temperature of 30°C. The sensitivity test was performed by placing a paper disc containing extract on the agar medium that had been scratched with bacterial colonies. Clear zone formed around the paper disc was compared with standard classification table for clarifying the inhibition level. The results showed that stem and leaf extract had inhibition zone against *Aeromonas hydrophila* bacteria that caused motile aeromonad septicaemia. The best result was obtain at concentration of extract 3.25 mg / L) with an average diameter of 22.67 mm and for leaf extract had a moderate to strong zone for all treatments. These proved that stem and leaf extract of *P. grandiflora* plant had antibacterial activity and can be used as control of MAS disease caused by *A. hydrophila* bacteria.

**Keywords:** *Portulaca grandiflora* plant, motile aeromonad septicemia, minimum inhibition concentration

### PENDAHULUAN

Penyakit dapat didefinisikan sebagai segala sesuatu yang dapat menimbulkan gangguan suatu fungsi atau struktur dari alat tubuh atau sebagian alat tubuh, baik secara langsung maupun tidak langsung. Penyakit yang menyerang tidak datang begitu saja, melainkan melalui proses hubungan antara tiga faktor, yaitu kondisi lingkungan, kondisi inang, dan adanya

jasad patogen (Suwarsito dan Mustafidah 2011). Salah satu jenis bakteri patogen yang sering menginfeksi ikan adalah *Aeromonas* sebagai penyebab penyakit Motile Aeromonad Septichaemia (MAS) yang paling sering meyerang ikan. Bakteri *A. hydrophila* ini dapat ditemukan dimana-mana terutama diperairan yang mengandung bahan organik yang tinggi (Kabata, 1985 dalam Erawati , 2003).

Beberapa upaya untuk meningkatkan status kesehatan dan resistensi ikan terhadap berbagai patogen perlu dilakukan. Metode kontrol penyakit yang sudah diterapkan meliputi penggunaan antibiotik dan vaksin secara tradisional. Namun demikian penggunaan antibiotik dengan dosis yang tidak tepat dan secara berlebihan dapat menimbulkan resistensi terhadap lingkungan perairan (Kee & Heyes, 1996). Penggunaan tanaman obat merupakan salah satu alternatif untuk mengurangi pemakaian antibiotic dan bahan kimia lainnya.

Perluasan pemanfaatan bahan-bahan alami yang berasal dari tanaman sebagai obat tradisional tentunya diharapkan agar dapat meminimalkan efek negatif dari penggunaan bahan kimiawi misalnya tidak ada pencemaran air dan tingkat keracunan lebih rendah daripada obat-obatan kimia. Potensi obat-obatan alamiah ini mampu memberikan peranannya dalam upaya pemeliharaan, peningkatan, dan pemulihan kesehatan serta pengobatan penyakit. Obat tradisional memiliki berbagai campuran kompleks zat kimia alami. Bahan aktif yang satu dapat bekerja sinergis dengan yang lain, namun ada pula yang bersifat antagonis sehingga akan terjadi kesesimbangan. Penggunaan obat tradisional relatif tidak menimbulkan efek samping yang besar (Dalimartha, 2006).

Wilayah Indonesia mempunyai beragam jenis tanaman obat, lebih dari 20.000 jenis tanaman obat tersebar diseluruh negara ini, dan penggunaan tanaman sebagai bahan obat tradisional memerlukan penelitian ilmiah untuk mengetahui khasiatnya dan dapat digunakan sebagai senyawa antibiotik penuntun untuk sintesis senyawa obat baru (Akbar, 2010). Salah satunya adalah Bunga Kembang Pukul 9 Pagi (*P.*

*grandiflora*) yang secara empiris dapat diuji daya antibakterinya, beberapa senyawa yang dapat diisolasi dari Bunga Kembang Pukul 9 Pagi adalah saponin, flavonoid, tanin, alkaloid, dan triterpenoid (Anghel *et al.*, 2013). Pada *P. grandiflora* tersebut dapat diperoleh melalui ekstraksi.

Penelitian tentang khasiat tanaman *P. grandiflora* belum dilakukan baik dengan uji preklinis maupun klinis. Berdasarkan informasi tersebut maka dilakukan pengujian terhadap kemampuan hambat minimum tanaman terhadap bakteri *A. hydrophylla*.

### **Tempat dan Waktu**

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bidang Kesehatan Ikan Lingkungan Dan Toksikologi. FPIK Unsrat. Penelitian berlangsung selama bulan Pebruari – Juni 2018

### **Prosedur Penelitian**

#### **Ekstraksi**

Sampel *P. grandiflora* dicuci kemudian dipisahkan batang dan daun lalu dipotong-potong dan ditimbang. masing-masing sebanyak 10 gram. Sampel selanjutnya dihaluskan secara terpisah dengan menggunakan penggerus dan dilakukan perendaman. Simplisia batang dan daun yang sudah halus dimasukkan ke dalam 2 erlenmeyer yang sudah berisi pelarut aquades 100 ml masing-masing sebanyak 10 g.

Erlenmeyer yang berisi simplisia batang dan daun dibungkus dengan alumunium foil agar tidak terjadi kontaminasi lalu di masukkan ke laminar flow selama 3×24 jam untuk pemisahan bahan aktif. Selama proses berlangsung dilakukan pengocokan setiap 2 jam. Selanjutnya dilakukan ekstraksi dengan menyaring cairan ke dalam 2 gelas ukur

menggunakan kertas saring, ekstrak di tambahkan aquades 100 ml dan dimasukkan ke dalam general inkubator dengan suhu 30° C untuk dilakukan pemekatan ekstrak.

### Kultur bakteri

Isolasi yang digunakan adalah bakteri *A. hydrophilla*. Isolasi ini dilakukan dengan mengkultur bakteri dan dimurnikan pada media TSA (Tryptic Soy Agar) dengan menggunakan metode gores dan kemudian ditumbuhkan pada suhu 28°C selama 24 jam.

### Pengujian Sampel Ekstrak

#### Uji Efektivitas Antibakteri

Dalam uji efektivitas antibakteri, metode yang digunakan yaitu metode cakram. Kertas cakram yang dicelupkan dalam larutan uji yang telah disiapkan yaitu; 50 mg/mL, 25 mg/mL, 12,5 mg/mL, 6,25 mg/mL dan E. 3,12 mg/mL masing-masing untuk batang dan daun *P. grandiflora*. Setiap cawan petri di bagi 5 bagian sebagai perlakuan. Sebagai control kertas cakram tanpa ekstrak

Inkubasi dilakukan pada suhu 30°C selama 24 jam. Sebelum inkubasi dilakukan, cawan petri diberi label agar tidak tertukar. Pertumbuhan bakteri diamati untuk setiap area. Bila zona hambatan belum tampak, dibiarkan selama 24 jam lagi untuk melihat hasilnya zona hambatan. Setiap perlakuan diulang sebanyak 3 kali.

#### Uji Konsentrasi

Uji konsentrasi bertujuan untuk menentukan dosis terbaik dalam menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophilla*. Konsentrasi larutan ekstrak yang akan diuji adalah;

Uji daya hambat dilakukan sebagai berikut:

- Cawan petri yang telah berisi media TSA, diolesi dengan bakteri *A. hydrophilla*.
- Kertas saring di potong bentuk bulas/cakram di celup pada masing konsentrasi uji.
- Letakan kertas cakram tersebut ke cawan petri yang telah berisi koloni bakteri.
- Inkubasi selama 1x24 jam pada suhu 30°C.
- Lakukan pengukuran zona. Dan dihitung untuk menentukan konsentrasi Hambat Minimum (KHM). Penentuan zona hambat di klasifikasikan sesuai tabel

Tabel 1. Klasifikasi baku respon hambatan pertumbuhan bakteri

Diameter Zona Hambat (zona bening)	Respon Hambatan Pertumbuhan
0	Tidak ada
< 5 mm	Lemah
5-10 mm	Sedang
11-20 mm	Kuat
21-30 mm	Sangat kuat

Sumber: (Wangidjaja, 2004 dalam Kolopita, 2005)

### Pengamatan dan Pengukuran ZonaHambat

Pengukuran luas wilayah jernih dilakukan setelah inkubasi selama 24 jam, dari hasil inkubasi terlihat zona jernih disekitar kertas cakram. Zona jernih tersebut menandakan daya hambat antibakteri. Zona jernih tersebut diukur menggunakan pengukur penggaris.

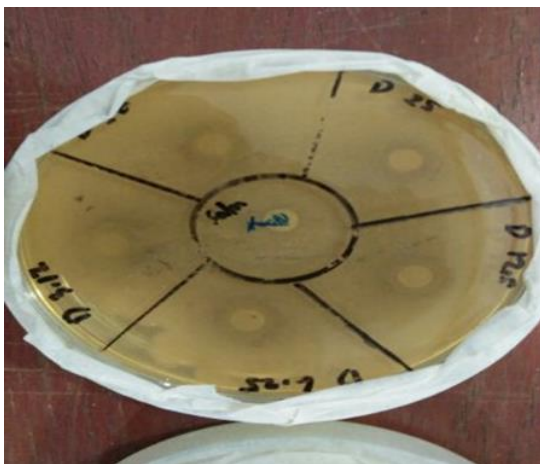
$$\underline{KHM = \frac{(DV - DC) + (DH - DC)}{2} = KMB}$$

Keterangan:

DV : Diameter Vertikal  
 DH : Diameter Horizontal  
 DC : Diameter Cakram

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian memperlihatkan bahwa ekstrak batang dan daun *P. grandiflora* dengan menggunakan pelarut aquades memiliki aktivitas antimikroba terhadap bakteri *A. hydrophila*. Hal ini ditunjukkan dengan adanya zona hambat yang terbentuk pada setiap kertas cakram perlakuan dengan diameter berbeda-beda. Proses tersebut menyatakan bahwa ekstrak yang sudah dibuat mampu memberikan respon yang baik dalam menghambat tumbuhnya atau berkembangnya organisme bakteri di sekitar area cakram kertas seperti tampak pada Gambar 1.



Gambar 5. Zona Hambat yang terbentuk disekitar cakram mengandung ekstrak kembang pukul 9 pagi

Hasil pengukuran diameter zona hambat di peroleh zona hambat paling tinggi adalah perlakuan E diameter rata-rata 22.67 mm dibanding dengan perlakuan C, D dan B meskipun

konsentrasi ekstrak paling sedikit. Sedangkan untuk ekstrak daun zona hambat paling tinggi terdapat pada perlakuan B dengan diameter rata-rata 14 mm dan diikuti dengan perlakuan E, D dan C. Namun untuk perlakuan A sebagai control, zona hambatnya paling rendah untuk ekstrak batang maupun ekstrak daun. Hasil pengukuran zona untuk masing-masing konsentras ekstrak dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Diameter zona hambat batang dan daun kembang pukul 9 pagi terhadap penyakit motil aeromonad septicaemia

Perlakuan	Zona Hambat (mm)	
	Batang	Daun
A	5.17	2,33
B	13	14
C	20.5	9.33
D	15.17	12.5
E	22.67	12.8
Total	18.967	10.7

Hasil perbandingan data dengan tabel klasifikasi baku respons hambat pertumbuhan bakteri, ekstrak batang perlakuan E (3,12 mg/l termasuk kategori respon hambatan sangat kuat karena diameter zona hambat berada pada kisaran 21-30 mm. Pada perlakuan B, C dan D tergolong kuat dengan diameter zona hambat berada pada kisaran 11-20 mm. Demikian halnya dengan ekstrak daun dengan kisaran diameter 11-20 mm tergolong dalam respon hambat pertumbuhan kuat untuk perlakuan B, D dan E namun untuk perlakuan C dengan diameter 9,33 mm tergolong respon hambat sedang. Dari keseluruhan perlakuan di lihat dari konsentrasi perlakuan maka perlakuan E dengan konsentrasi ekstrak batang paling sedikit yaitu 3,12 mg/L namun memberi respon

paling tinggi, demikian halnya dengan perlakuan ekstrak daun perlakuan E juga yang terbaik meskipun diameternya tertinggi diantara perlakuan namun secara keseluruhan masih termasuk dalam golongan kuat.

Berdasarkan klarifikasi data hasil pengamatan dengan tabel klasifikasi baku respons hambat pertumbuhan bakteri, membuktikan bahwa ekstrak batang dan daun *P. grandiflora*, memiliki aktivitas antibakteri sangat kuat untuk batang dan tergolong kuat untuk ekstrak daun. Dengan demikian *P. grandiflora* dapat digunakan sebagai bahan pengontrol penyakit MAS yang disebabkan oleh bakteri *A. hydrophilla*. Hal ini di duga karena ekstrak *P. grandiflora* mengandung senyawa bioaktif. Saponin yang terdapat pada tanaman ini. Seperti yang dinyatakan oleh Almira (2008) bahwa saponin juga berfungsi sebagai antibakteri. Tanaman ini memiliki potensi sebagai bahan antimikroba alami karena tanaman ini mengandung senyawa bioaktif yang dapat menghambat atau membunuh mikroorganisme seperti flavonoid (Middleton *et al.*, 1998). Flavonoid merupakan senyawa yang sangat bermanfaat dalam proses metabolisme tumbuhan. Pada tumbuhan senyawa ini memiliki fungsi utama untuk membantu proses pertumbuhan dan perkembangan tumbuhan tersebut (Anderson dan Markham, 2006). Mekanisme penghambatan bakteri belum dapat diprediksikan karena kandungan senyawa aktif yang berperan sebagai antibakteri belum diketahui secara pasti perlu pemurnian dan identifikasi lebih lanjut. Umumnya suatu agen antibakteri berpengaruh terhadap sel bisa melalui penghambatan dinding sel, penghambatan fungsi membran, penghambatan sintesis

protein dan asam nukleat, perubahan molekul protein dan asam nukleat serta penghambatan enzim (Pelczar, dan Chan. 1988). Salah satunya adalah Bunga Kembang Pukul 9 Pagi yang secara empiris dapat diuji daya antibakterinya. Beberapa senyawa yang dapat diisolasi dari Bunga Kembang Pukul 9 Pagi adalah saponin, flavonoid, tanin, alkaloid, dan triterpenoid (Anghel *et al.*, 2013). Senyawa aktif sebagai bahan bakteri pada *P. grandiflora* tersebut dapat diperoleh melalui ekstraksi.

### KESIMPULAN

1. Bunga Kembang Pukul 9 Pagi (*P. grandiflora*) mempunyai kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakterio *A. hidrophyla*
2. Konsentrasi hambat minimum ekstrak batang dengan konsentrasi 3,6 mg/L (perlakuan E) tergolong sangat baik dengan zona hambar 22,67 mm, sedangkan ekstrak daun tergolong sedang sampai baik.

### DAFTAR PUSTAKA

- Akbar H, Rizki. (2010). Isolasi dan Identifikasi Golongan Flavonoid Daun Dendang Gendis (*Clinacanthus nutans*) Berpotensi sebagai Antioksidan. Departemen Kimia: FMIPA IPB.
- Almira R. 2008. Kajian Aktifitas Farmasi Hexan Rimpang Kunyit (*Curcuma longa* Linn). Terhadap Proses Persembuhan Luka Pada Mencit (*Mus musculus* Albinus).
- Anghel AI, Olaru OT, Gatea F, Dinu M, Ancuceanu RV, Istudor V. 2013. Preliminary Research On *Portulaca Grandiflora* Hook. Species

- (*Portulacaceae*) For Therapeutic Use Farmacia.
- Andersan, Oyvind M, kenneth R, Markham. 2006. Flavonoids Chemistry, Biocemistry and Aplications. CRC Press. Boca Raton, Florida, USA. Pp 328-397 and 173.
- Dalimartha S. 2006. Atlas Tanaman Obat Indonesia, Jilid 4. Jakarta: Puspa Swara. Pustaka Kartini. pp. 108–109. ISBN 979-454-083-8.
- Erawati, Catur I. 2003. Pengaruh Pemberian Perasan Kasar Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) Dengan Dosis Yang Berbeda Terhadap Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) Yang Terinfeksi *Aeromonas hydrophila*. Skripsi Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang.
- Kee JL, Hayes ER. 1996. Farmakologi Pendekatan Proses Keperawatan. Hal. 140-145. Penerbit Buku Kedokteran Jakarta.
- Pelczar MJ, Chan ECS. 1988. Dasar-Dasar Mikrobiologi Jilid II. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta.
- Suwarsito, Hindayati M. 2011. Diagnosa Penyakit Ikan Menggunakan Sistem Pakar (*Diagnozing Fish Disease Using Expert Syetem*) JUITA ISSN: 2086-9398 Vol. I No. 4. Taie, H. A., Helal, M. M. I., Helmy, W. A., & Amer, H. (2013). Chemical composition and biological potentials of aqueousextracts of fennel (*Foeniculum vulgare* L). *Journal of Applied Sciences Research*, **9**(3), 1759-1767.