

IDENTIFIKASI KANDUNGAN FITOKIMIA DAN UJI KADAR HAMBAT MINIMUM DAN KADAR BUNUH MINIMUM EKSTRAK ETANOL DAUN PANGI (*PANGIUM EDULE* REINW. EX BLUME) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *ESCHERICHIA COLI*

Pinta¹⁾, Widya Astuty Lolo¹⁾, Paulina V.Y Yamlean¹⁾

¹⁾Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT Manado, 95115

ABSTRACT

Pangi Leaf (Pangium edule Reinw. Ex Blume) has the chemical content as antibacterial. The purpose of this research is to know the chemical content of Pangi leaf and to know the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) from the ethanol extract of Pangi leaf against Escherichia coli bacteria. The extraction was done by maceration method to obtain ethanol extract. Testing begins with Phytochemical Screening, followed by testing the antibacterial activity of Escherichia coli performed by liquid dilution method. The concentration of test solution used was 50%, 25%, 12.5%, 6.25%, 3.125%, respectively, and 1.56% for positive controls used Ciprofloxacin and negative controls used Aquades. Based on the results of the research, the Pangi leaf extract contains Flavonoid compounds, Saponins and Steroids. The KHM of Pangi leaf extract was found at the concentration of 25% and KBM of Pangi leaf cannot be determined because of the bacterial growth at the concentration of 50%.

Keywords: Pangi Leaves, Maseration, MIC and MBC

ABSTRAK

Daun Pangi (*Pangium edule* Reinw. ex Blume) memiliki kandungan senyawa fitokimia yang berpotensi sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan fitokimia dari daun Pangi dan mengetahui Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) dari ekstrak etanol daun Pangi terhadap bakteri *Escherichia coli*. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi sehingga diperoleh ekstrak etanol. Pengujian diawali dengan melakukan Skrining Fitokimia, kemudian dilanjutkan dengan pengujian aktivitas antibakteri *Escherichia coli* yang dilakukan dengan metode Dilusi cair. Konsentrasi larutan uji yang digunakan 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125% dan 1,56% untuk kontrol positif digunakan Ciprofloxacin dan kontrol negatif digunakan Aquades. Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh hasil bahwa ekstrak daun Pangi mengandung senyawa Flavonoid, Saponin dan Steroid. KHM ekstrak daun Pangi terdapat pada konsentrasi 25% dan KBM ekstrak daun Pangi belum dapat ditentukan karena sampai konsentrasi 50% masih menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri.

Kata kunci: Daun Pangi, Maserasi, KHM dan KBM

PENDAHULUAN

Saat ini masyarakat cenderung menggunakan obat yang berasal dari bahan alam, dengan alasan obat tersebut memiliki efek samping yang relatif lebih kecil dibandingkan dengan obat sintesis. Dari survey penggunaan antibiotik di beberapa rumah sakit dan pusat kesehatan masyarakat banyak dijumpai adanya penggunaan obat antibiotik yang tidak rasional seperti penggunaan antibiotik yang berlebihan, penggunaan antibiotik untuk indikasi yang tidak jelas, penggunaan antibiotik dalam dosis yang kurang tepat, cara pemberian, waktu dan lama pemberian antibiotik yang tidak sesuai, dapat memberikan dampak negatif antara lain timbulnya efek samping atau toksisitas, mempercepat terjadinya resistensi hingga terjadinya resiko kegagalan terapi (Staf FK UNSRI, 2008). Sehingga mengakibatkan meningkatnya penggunaan bahan alam sebagai bahan obat.

Tanaman Pangi merupakan salah satu tanaman yang banyak dimanfaatkan untuk mengobati penyakit gatal-gatal pada kulit yang di sebabkan oleh bakteri yang terdapat pada kulit. Bagian tanaman yang sering digunakan ialah bagian daun (Mora, 2014). Bagian daun tanaman Pangi ini diketahui mengandung beberapa senyawa kimia seperti alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan terpenoid. Senyawa kimia inilah yang diduga berkhasiat sebagai antibakteri (Sangi,dkk., 2008). Daun Pangi yang direbus dapat digunakan sebagai antiseptik, pemusnah hama dan pencegah parasit (Mora, 2014).

Penelitian yang pernah dilakukan terkait khasiat tanaman ini yaitu uji aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat daun Pangi.

Berdasarkan penelitian tersebut, pada konsentrasi 5, 10, 15 dan 20% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dimana aktivitasnya tergolong lemah (Mora, 2014).

METODOLOGI PENELITIAN

Waktu dan Tempat

Penelitian dilakukan pada bulan Desember 2016 – Juni 2017 bertempat di Laboratorium Farmakognosi dan Fitokimia serta Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sam Ratulangi Manado.

Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan ialah penelitian deskriptif. Pengujian antibakteri dari ekstrak etanol daun Pangi disusun dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan dan masing-masing diulang sebanyak 6 kali sehingga ada 36 satuan percobaan dengan konsentrasi ekstrak sebesar 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,56%.

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini ialah Erlenmeyer (*Approx*), gelas ukur (*Pyrex*), gelas kimia (*Pyrex*), tabung reaksi (*Pyrex*), rak tabung, pipet tetes (*Pyrex*), penangas air, blender, ayakan *mesh* 200, kaca arloji, timbangan analitik (*Kern*), batang pengaduk, cawan petri (*Normax*), *rotary evaporator*, jarum ose, pinset, *incubator (Incucell)*, *laminar air flow*

(*Biotek*), tissue, colony counter, Aluminium foil, autoklaf (*ALP*), mikropipet (*Ecopipette*), kertas saring, kertas label, *aluminium foil* dan alat fotografi.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini ialah daun Pangi (*Pangium edule* Reinw. ex Blume), bakteri uji (*Escherichia coli*), media NA (*nutrient agar*), media NB (*nutrient Broth*), spiritus, kapas steril, NaCl 0,9%, Aquades, dan Etanol 96%.

Persiapan Sampel

Sampel berupa daun Pangi yang dikumpulkan dan dibersihkan dari pengotor, dan dicuci dibawah air mengalir sampai bersih. Setelah itu ditiriskan, lalu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Setelah itu, Sampel yang telah kering dihaluskan dengan menggunakan blender sampai menjadi serbuk. Serbuk yang dihasilkan diayak menggunakan ayakan *mesh* 200, hingga diperoleh serbuk yang halus dan seragam. Hasilnya dimasukkan ke dalam wadah gelas tertutup (Gunawan, 2004).

Pembuatan Ekstrak

Ekstrak daun Pangi dibuat dengan cara maserasi. Dimana sebanyak 380 g serbuk simplisia daun Pangi dimasukkan ke dalam Erlenmeyer, kemudian direndam dengan pelarut etanol 96% sebanyak 1.900 mL. Wadah ditutup dengan *aluminium foil* dan dibiarkan selama lima hari sambil sesekali diaduk. Setelah lima hari, sampel yang direndam tersebut disaring menggunakan kertas saring dan menghasilkan filtrat I dan ampas I. Ampas yang ada kemudian direndam lagi dengan

larutan etanol 96% sebanyak 1.140 mL, ditutup dengan *aluminium foil* dan dibiarkan selama dua hari sambil sesekali diaduk. Setelah dua hari, sampel tersebut disaring menggunakan kertassaring, sehingga menghasilkan filtrat II dan ampas II. Filtrat I dan II digabungkan, kemudian dievaporasi menggunakan *rotary evaporator*, sehingga diperoleh ekstrak kental daun Pangi. Ekstrak kental yang dihasilkan dibiarkan pada suhu ruangan hingga seluruh pelarut etanol menguap. Setelah itu ekstrak ditimbang dan disimpan dalam wadah gelas tertutup sebelum digunakan untuk pengujian (Anonim, 1986).

Uji Kandungan Fitokimia

Uji Alkaloid

Sebanyak 1-2 mL ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan dengan 2 mL. Campuran ditambahkan dengan 2 mL amoniak, dikocok dan disaring. Filtrat yang dihasilkan ditambahkan dengan asam sulfat pekat sebanyak 3-5 tetes dan dikocok sampai terbentuk 2 lapisan. Lapisan asam yang tidak berwarna dimasukkan ke dalam 2 tabung reaksi, lalu masing-masing tabung ditambahkan dengan pereaksi Mayer dan pereaksi Wagner sebanyak 4-5 tetes. Adanya alkaloid ditandai dengan terbentuknya warna putih keruh setelah penambahan pereaksi Mayer dan berwarna kuning merah lembayung setelah penambahan pereaksi Wagner.

Uji Flavonoid

1) Uji Wilstatter

Sebanyak 1 mL ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan dengan serbuk magnesium dan 2-4 tetes HCl

pekat. Kemudian campuran dikocok. Terbentuknya warna jingga menunjukkan adanya flavonoid golongan flavonol dan flavanon.

2) Uji NaOH 10%

Sebanyak 1 mL ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan dengan larutan NaOH 10% beberapa tetes. Terjadinya perubahan warna menunjukkan adanya flavonoid.

Uji Saponin

Sebanyak 1-2 mL ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan dengan air panas. Kemudian campuran didinginkan dan dikocok selama 10 menit. Terbentuknya buih yang stabil menunjukkan adanya saponin.

Uji Steroid dan Terpenoid

Sebanyak 1-2 mL ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan dengan asam asetat glasial sebanyak 10 tetes. Lalu campuran ditambahkan dengan 2 tetes asam sulfat pekat dan dikocok. Adanya steroid ditandai dengan terbentuknya warna biru atau hijau, sedangkan adanya terpenoid ditandai dengan terbentuknya warna merah atau ungu.

Sterilisasi Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini di sterilkan dengan Autoklaf. Alat-alat gelas dan media disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121⁰ C selama 15-20 menit, sedangkan jarum ose dan pinset disterilkan dengan cara dibakar dengan pembakaran di atas api langsung (Lay dan Hastowo, 1992).

Pengujian daya Antibakteri

Pembuatan Larutan Uji

- 1) Dibuat larutan uji 50% b/v dengan cara ditimbang masing-masing 5 g ekstrak etanol daun Pangi kemudian dilarutkan dalam aquades dan dicukupkan volumenya hingga 10 mL.
- 2) Dibuat larutan uji 25% b/v dengan cara ditimbang masing-masing 2.5 g ekstrak etanol daun Pangi kemudian dilarutkan dalam aquades dan dicukupkan volumenya hingga 10 mL.
- 3) Dibuat larutan uji 12,5% b/v dengan cara ditimbang masing-masing 1,25 g ekstrak etanol daun Pangi kemudian dilarutkan dalam aquades dan dicukupkan volumenya hingga 10 mL.
- 4) Dibuat larutan uji 6,5% b/v dengan cara ditimbang masing-masing 0,65 g ekstrak etanol daun Pangi kemudian dilarutkan dalam aquades dan dicukupkan volumenya hingga 10 mL.
- 5) Dibuat larutan uji 3,125% b/v dengan cara ditimbang masing-masing 0,3125 g ekstrak etanol daun Pangi kemudian dilarutkan dalam dalam aquades dan dicukupkan volumenya hingga 10 mL.
- 6) Dibuat larutan uji 1,56% b/v dengan cara ditimbang masing-masing 0,156 g ekstrak etanol daun Pangi kemudian dilarutkan dalam aquades dan dicukupkan volumenya hingga 10 mL.

Pembuatan Kontrol Positif dan Kontrol Negatif

Larutan kontrol positif dibuat dari sediaan obat tablet Ciprofloxacin 500 mg, dengan cara satu tablet Ciprofloxacin digerus, setelah itu ditimbang 65 mg dan dilarutkan dalam 50 mL aquades. Selanjutnya dibuat dengan cara diambil 1 mL larutan ciprofloxacin dan ditambahkan aquades hingga 10 mL untuk memperoleh

larutan ciprofloxacin 5µg/50µL. untuk kontrol negatif digunakan Aquades.

Pembuatan Media

1) Media Agar Miring

Nutrient Agar (NA) sebanyak 2,8 g dilarutkan ke dalam 100 mL aquades menggunakan erlenmeyer. Setelah itu, dihomogenkan dan di sterilkan dengan autoklaf kemudian dituangkan sebanyak 5 mL ke dalam masing-masing tabung dan ditutup dengan *aluminium foil*. Media tersebut disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121⁰C selama 15 menit, kemudian dibiarkan pada suhu ruangan selama ± 30 menit sampai media memadat pada kemiringan 30⁰. Media Agar Miring digunakan untuk inokulasi bakteri.

2) Media NB (*Nutrient Broth*)

Nutrient Broth (NB) sebanyak 2,7 g dilarutkan dalam 210 mL aquades. Larutan dipanaskan sampai bubuk benar-benar larut. Selanjutnya dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dilakukan sterilisasi dengan menggunakan.

3) Media NA (*Nutrient Agar*)

4) *Nutrient Agar* (NA) (28gr/1000mL) sebanyak 35,4 g dilarutkan dalam 1.300 mL aquades. Lalu dipanaskan di atas tungku pemanas magnetik sampai mendidih. Kemudian media yang telah masak disterilkan di dalam autoklaf selama 15 menit dengan tekanan udara 2 atm, suhu 121⁰ C. setelah disterilkan, media disimpan kedalam lemari pendingin. Jika akan digunakan media dipanaskan kembali hingga mendidih lalu dituangkan ke dalam masing-masing petri.

Pembuatan Standar Kekeruhan (Larutan *Mc. Farland 0,5*)

Larutan H₂SO₄ 1% sebanyak 9,95 mL dicampurkan dengan larutan BaCl₂ 1,175% sebanyak 0,05 mL dalam tabung reaksi. Kemudian dikocok sampai terbentuk larutan yang keruh. Kekeruhan ini dipakai sebagai standar kekeruhan suspensi bakteri uji (Bresson dan Borges, 2004).

Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Bakteri uji yang telah diinokulasi diambil dengan kawat ose steril lalu disuspensikan ke dalam tabung yang berisi 15 mL larutan NaCl 0,9% sehingga diperoleh kekeruhan yang sama dengan standar kekeruhan larutan.

Penentuan KHM (Kadar Hambat Minimum)

Ekstrak daun Pangi yang di pakai terdiri dari konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, dan 1,56%. Masing-masing konsentrasi tersebut diambil sebanyak 1 mL lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian diberi label sesuai konsentrasi. Suspensi bakteri yang telah di persiapkan sebelumnya diambil 1 mL kemudian dimasukkan ke dalam masing-masing tabung bahan coba yang telah diberi label. Selanjutnya tabung tersebut diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 24 jam pada inkubator kemudian diamati kekeruhan yang terjadi dengan membandingkan tabung-tabung tersebut dengan kontrol. Konsentrasi terendah dari larutan sampel yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri (ditandai dengan mulai adanya kejernihan).

Penentuan KBM (Kadar Bunuh Minimal)

Penentuan KBM dilakukan pada konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25%,

3,125%, dan 1,56%. Bahan coba dengan konsentrasi diatas diambil 50 µL untuk tiap konsentrasi kemudian diteteskan pada cawan petri setelah itu ditambahkan media NA sebanyak 20 ml dan dibuat dalam 6 kali pengulangan. Diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37 °C selama 24 jam. Dilakukan perhitungan jumlah koloni bakteri dengan prinsip satu sel bakteri hidup bila dibiakkan pada media padat akan tumbuh menjadi 1 koloni bakteri.

Analisis Data

Data hasil penelitian diperoleh dengan cara mengamati KHM dan KBM bahan coba pada berbagai konsentrasi. Konsentrasi bahan coba yang mulai jernih pada konsentrasi terkecil dianggap sebagai KHM sedangkan konsentrasi bahan coba yang sudah mampu membunuh bakteri dapat dilihat dari jumlah koloni yang terbentuk. Dengan perhitungan bila bentuk koloni melebar dianggap 1 koloni, bila bentuknya 2 koloni bersinggungan dianggap 2 koloni. Konsentrasi terkecil yang dapat membunuh bakteri dianggap sebagai KBM.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi Daun Pangi

Hasil ekstraksi 380 gram daun Pangi dalam 3 Liter etanol didapat ekstrak sebanyak 64,3 gram ekstrak kental.

Tabel 1. Identifikasi Kandungan Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Pangi

Identifikasi senyawa	Ekstrak Etanol
Alkaloid	-
Flavonoid	+
Saponin	+
Steroid	+
Terpenoid	-

Berdasarkan hasil identifikasi kandungan fitokimia yang telah dilakukan pada ekstrak etanol daun Pangi menunjukkan hasil negatif untuk alkaloid dan triterpenoid, dan hasil positif flavonoid, saponin, dan steroid.

Uji aktivitas Antibakteri

Hasil pengamatan nilai Kadar Hambat Minimum (KHM) Ekstrak etanol daun Pangi (*Pangium edule* Reinw. ex Blume) terhadap bakteri *Escherichia coli*.

No	Konsentrasi (%)	Ekstrak Etanol
1	1,56	-
2	3,125	-
3	6,5	-
4	12,5	-
5	25	+
6	50	+
7	Kontrol (-)	-
8	Kontrol (+)	+

Nilai Kadar Hambat Minimum (KHM) dapat dilihat dengan adanya perubahan warna pada tabung uji menjadi lebih jernih. Dimana berdasarkan hasil penelitian uji Kadar Hambat Minimum (KHM) yang telah dilakukan, pada konsentrasi 25% dan 50% menunjukkan adanya perubahan warna pada tabung uji menjadi lebih jernih sedangkan pada konsentrasi sebelumnya warna pada tabung uji tetap sama. Perubahan warna yang terjadi menunjukkan bahwa pada konsentrasi 25% dan 50% adanya daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *E.coli* sedangkan untuk konsentrasi sebelumnya tidak menunjukkan adanya daya hambat minimum.

Tabel 2. Hasil pengamatan nilai rata-rata Kadar Bunuh Minimum (KBM) Ekstrak Etanol daun Pangi (*Pangium edule* Reinw.

ex Blume) terhadap bakteri *E.coli*.

Perlakuan	Hasil						Rata-rata
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Ulangan 4	Ulangan 5	Ulangan 6	
50 %	25	269	1	1	66	345	117,8
25 %	20	1	1	1	1	1	4,1
12,5 %	TT						
6,25 %	TT						
3,125%	TT						
1,25%	TT						
Kontrol +	1	1					1
Kontrol -	TT	TT					TT

Berdasarkan hasil penelitian Uji Kadar Bunuh Minimum (KBM) yang telah dilakukan, ekstrak etanol daun Pangi terhadap bakteri *E.coli*, pada konsentrasi 25% dan 50% mulai menunjukkan adanya pengurangan jumlah pertumbuhan koloni bakteri. Pada konsentrasi 25% dilakukan 6 kali pengulangan dan menunjukkan jumlah pertumbuhan koloni yang berbeda sehingga didapat nilai rata-rata untuk konsentrasi 25% yaitu sebesar 4,1 sedangkan untuk konsentrasi 50% dilakukan 6 kali pengulangan dan dapat nilai rata-rata sebesar 117,8. Pada konsentrasi 12,5%, 6,25%, 3,125%, dan 1,25% tidak menunjukkan adanya pengurangan

jumlah koloni dimana pada konsentrasi tersebut pertumbuhan bakteri tidak dapat dihitung. oleh karena itu nilai Kadar Bunuh Minimum belum dapat

ditentukan, hal ini karena sampai pada pada konsentrasi 50% masih menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri.

Pada penelitian sebelumnya menurut Mora et al (2014) menyatakan bahwa daun Pangi pada konsentrasi 5%, 10%, 15%, dan 20% memiliki aktivitas antibakteri yang lemah terhadap pertumbuhan bakteri *E.coli* sehingga dari penelitian ini dapat diketahui bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin besar penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri *E.coli*.

Berdasarkan hasil identifikasi kandungan fitokimia yang diperoleh, dapat diketahui bahwa daun Pangi mengandung senyawa antibakteri yaitu Flavonoid, Saponin dan Steroid yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli*. Umumnya senyawa flavonoid dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif dan

bakteri gram positif Menurut Naidu (2000), flavonoid merupakan golongan yang penting karena memiliki spektrum antibakteri yang luas dengan mengurangi kekebalan pada organism sasaran. Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri dibagi menjadi tiga yaitu menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel, dan menghambat metabolisme energi (Cowan, 1999).

KESIMPULAN

Ekstrak etanol daun Pangli mengandung senyawa Flavonoid, Saponin dan Steroid

Ekstrak etanol daun Pangli (*Pangium edule* Reinw. ex Blume) memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Ekstrak Etanol Daun Pangli (*Pangium edule* Reinw. ex Blume) terdapat pada konsentrasi 25% dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) Ekstrak Etanol Daun Pangli (*Pangium edule* Reinw. ex Blume) belum dapat ditentukan karena sampai konsentrasi 50% masih menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 1986. *Sediaan Galenik*. Departemen Kesehatan RI, Jakarta.
- Bresson, W., dan M.T. Borges. 2004. *Delivery Methods for Introducing Endophytic*

Bacteria into Maize. *Biocontrol*.49 : 315-322.

- Cowan, M.M. 1999. *Plant Product as Antimicrobial Agents*. *J. Microbiology Reviews* 12(4):564-582.
- Gunawan, D., Mulyan, S. 2004. *Farmakognosi*. Swadaya, Jakarta.
- Lay, B. W., Hastowo, S. 1992. *Mikrobiologi*. IPB, Bogor.
- Mora, K., Emrizal., Mulyantika, E., 2014. Isolasi Senyawa dan ekstrak etil asetat daun kepayang (*Pangium edule* Reinw) dan uji aktivitas antibakteri. *Farmasains* **Vol 2 No. 3**
- Sangi, M., M. R. J. Runtuwene., H. E. I. Simbala, V. M. A. Makang, 2008, AnalisisFitokimia Tumbuhan Obat Di Kabupaten Minahasa Utara, *Chem. Prog. No.1, Vol 1*.
- Staf Pengajar Departemen Farmakologi FK UNSRI.2008.*Kumpulan Kuliah Farmakologi Edisi 2*.Jakarta: EGC (632-635).