

**UJI DAYA HAMBAT EKSTRAK ETANOL DAUN KACAPIRING
(*Gardenia augusta*) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus*,
Escherichia coli DAN *Salmonella thypi***

**THE INHIBITION TEST OF ETHANOL EXTRACT IN GARDENIA
(*Gardenia augusta*) LEAVES AGAINSTS *Staphylococcus aureus*,
Escherichia coli AND *Salmonella thypi* Bacteria**

Serly D. S. Toding¹⁾, Herny E. I. Simbala¹⁾, Deby A. Mpila¹⁾
¹⁾ Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT Manado, 95115

ABSTRACT

*One of the potential medicinal plants as traditional medicine is gardenia plant (*Gardenia augusta*). Gardenia leaf extract contains alkaloid compounds, flavonoids, tannins, saponins and triterpenoids, which are known to have antibacterial abilities..The aim of this research was to determine the antibacterial activity of gardenia leaf extract on the growth of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Salmonella thypi*. The examination on the inhibitory power using the Kirby-Bauer method. The Kirby-Bauer method is referring to the diffusion method using paper disc with five treatments, namely the extract of gardenia leaves with a substance concentration of 20%, 40%, and 60% as well positive control (*Ciprofloxacin*) and negative control (aquades). Based on the research results obtained, it can be concluded that gardenia leaf extract can inhibit growth of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Salmonella thypi* at a concentration of 20%, 40% and 60% and classified as strong and medium category.*

Keywords : *Gardenia augusta*, antibacterial, of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella thypi*

ABSTRAK

Salah satu tanaman obat dengan potensi sebagai obat tradisional adalah tanaman kacapiring (*Garddenia augusta*). Daun kacapiring mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin dan triterpenoid, yang berpotensi sebagai antibakteri sehingga digunakan dalam penelitian ini. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak daun kacapiring terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Salmonella thypi*. Pengujian daya hambat menggunakan metode Kirby-Bauer, yaitu metode difusi dengan cakram kertas dengan 5 perlakuan yaitu ekstrak daun kacapiring dengan konsentrasi 20%, 40%, dan 60% serta kontrol positif (*ciprofloxacin*) dan kontrol negatif (akuades). Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun kacapiring dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Salmonella thypi* pada konsentrasi 20%, 40% dan 60% dan tergolong dalam kategori kuat dan sedang.

Kata Kunci : Kacapiring, Antibakteri, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella thypi*

PENDAHULUAN

Kekayaan keanekaragaman spesies yang dimiliki Indonesia merupakan potensi kandungan bahan-bahan kimia dan sumber daya genetika. Potensi ini merupakan keunggulan komparatif, karena pada saat ini terjadi peningkatan industri terhadap sumber-sumber bahan kimia untuk memproduksi obat-obatan, agrokimia, kosmetika, zat pewarna dan lain-lain (Simbala, 2007). Salah satu tanaman obat yang memiliki potensi sebagai obat tradisional adalah tanaman kacapiring (*Gardenia augusta*). Uji fitokimia daun kacapiring menunjukkan bahwa daun mengandung senyawa flavonoid, saponin, tanin, steroid dan terpenoid. Saponin merupakan zat alkaloid yang dapat merusak asam (DNA dan RNA) bakteri. Tanin sebagai antibakteri bekerja dengan menginaktivasi adhesin sehingga bakteri tidak dapat menempel pada sel epitel hospes. Daun kacapiring mengandung flavonoid yang akan mengakibatkan lisis dan menghambat proses pembentukan dinding sel. Mekanisme diatas menyebabkan daun kacapiring dapat membunuh ataupun menghambat pembentukan bakteri (Yoga *et al*, 2007).

Penyakit infeksi merupakan salah satu masalah dalam bidang kesehatan yang banyak diderita oleh masyarakat Indonesia sejak dahulu yang dari waktu ke waktu terus berkembang (Dehgani *et al*, 2012). Banyak usaha yang telah dilakukan untuk melawan bakteri-bakteri patogen, antara lain dengan upaya penemuan senyawa yang mampu membunuh dan menghambat bakteri tersebut. Zat-zat seperti ini kemudian dikenal dengan istilah zat antibakteri. Perkembangan obat antibakteri merupakan suatu kemajuan terpenting dalam bidang pengobatan, karena pengobatan efektif terhadap infeksi serius telah memperbaiki kualitas hidup dan memberi banyak kemajuan dalam bidang kedokteran maupun di bidang industri obat (Kumala *et al*, 2006).

Salah satu obat antibiotik yang digunakan untuk menghambat dan membunuh pertumbuhan bakteri yaitu *Ciprofloxacin*. *Ciprofloxacin* merupakan antibiotik yang

termasuk dalam golongan fluorokuinolon yang merupakan generasi ke 2. Obat ini bekerja dengan melakukan penghambatan terhadap dua jenis enzim topoisomerase yaitu enzim DNA girase dan enzim topoisomerase IV. Kedua enzim tersebut berperan dalam pembentukan DNA sel bakteri. Dengan mekanisme kerja tersebut, *Ciprofloxacin* dapat membunuh bakteri sehingga obat ini digolongkan sebagai bakterisidal. Antibiotik ini merupakan antibiotik spektrum luas yang aktif mematikan bakteri gram negatif maupun gram positif (Setiabudy, 2007).

METODOLOGI PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2019 – Juni 2020, di Laboratorium Mikrobiologi Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.

Bentuk Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental laboratorium, dimana dibuat 5 perlakuan dan setiap perlakuan terdiri atas 3 pengulangan. Perlakuan dalam penelitian ini adalah pemberian konsentrasi 20%, 40% dan 60% pada ekstrak daun kacapiring (*Gardenia augusta*), kontrol positif *Ciprofloxacin* dan kontrol negatif akuades. Metode yang digunakan adalah metode *disc diffusion (test Kirby and Bauer)* terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Salmonella thypi*.

Alat dan Bahan

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu, Erlenmeyer, gelas ukur, tabung reaksi, cawan petri, *aluminium foil*, *hot plate*, *Laminar Air Flow (LAF)*, timbangan digital, *stirer*, lampu bunsen, jarum inokulasi, autoklaf, lemari pendingin, *mortar and pestle*, rak tabung, korek api, kapas, ayakan, kertas label, oven, cakram kertas jenis Whatman no. 42 dengan diameter 6 mm.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan yaitu ekstrak daun kacapiring (*Gardenia augusta*), bakteri uji *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Salmonella thypi*, etanol 96%, *nutrient agar*, akuades, *Ciprofloxacin* 500 mg, H₂SO₄ 0,36 N, BaCl₂·2H₂O 1,175% dan NaCl 0.9%.

Prosedur Penelitian

Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini yaitu daun kacapiring (*Gardenia augusta*) yang diambil di Kelurahan Kakaskasen Kota Tomohon, Sulawesi Utara.

Persiapan Sampel

Daun kacapiring yang digunakan sebanyak 300 gram dibersihkan dari pengotor, selanjutnya dicuci dengan air sampai bersih, ditiriskan, lalu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Sampel yang telah kering diserbukkan dengan menggunakan blender, serbuk yang dihasilkan diayak menggunakan ayakan hingga diperoleh serbuk yang halus.

Pembuatan Ekstrak

Daun Kacapiring diekstrak dengan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Proses maserasi dilakukan selama 5 hari hingga didapat filtrat 1 dan ampas 1. Ampas 1 kemudian dilakukan remaserasi selama 2 hari hingga didapat filtrat 2 dan ampas 2. Filtrat 1 dan filtrat 2 dicampurkan dan diuapkan menggunakan oven hingga diperoleh ekstrak kental (Anonim, 1986 dalam Pinta, *et al*, 2017).

Pembuatan Media Pengujian

Nutrient Agar (NA) ditimbang sebanyak 2,8 g, lalu dilarutkan dalam 100 mL akuades menggunakan erlenmeyer. Media dihomogenkan dengan *stirer* diatas penangas air sampai mendidih. Media yang sudah homogen ini disterilkan dalam autoklaf pada

suhu 121°C selama 15 menit, kemudian didinginkan sampai suhu ± 45-50 °C. Media dibuat untuk masing-masing jenis bakteri uji (Lay, 1994).

Pembuatan Larutan Standar *Mc. Farland*

Larutan H₂SO₄ 1% sebanyak 9,95 mL dicampurkan dengan larutan BaCl₂·2H₂O 1,175% sebanyak 0,5 mL dalam Erlenmeyer. Kemudian dikocok sampai terbentuk larutan yang keruh. Kekeruhan ini dipakai sebagai standar kekeruhan suspensi bakteri uji (Ngajow, 2013).

Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Bakteri uji yang telah diinokulasi dengan jarum ose steril lalu disuspensikan ke dalam tabung berisi 3 mL larutan NaCl 0,9% hingga diperoleh kekeruhan yang sama dengan standar kekeruhan *Mc. Farland*. Perlakuan yang sama dilakukan pada setiap jenis bakteri uji (Ngajow, 2013).

Pembuatan Larutan Kontrol Positif

Satu tablet *ciprofloxacin* digerus lalu ditimbang 0,05 g, kemudian dilarutkan dalam 50 ml akuades. Diambil 1 mL dari larutan tersebut dan ditambahkan akuades sampai 10 mL, sehingga diperoleh larutan *ciprofloxacin* dengan konsentrasi 50µg/50µl (Rahmadani, 2015).

Pembuatan Larutan Kontrol Negatif

Sebanyak 5 mL akuades dimasukkan kedalam wadah kemudian ditutup dengan kertas *aluminium foil* (Rahmadani, 2015).

Pembuatan Larutan Uji

Dibuat larutan uji 20%, 40% dan 60% dengan cara ditimbang 0,2 g; 0,4 g dan 0,6 g ekstrak daun kacapiring kemudian dilarutkan dalam 1 mL larutan akuades (Rahmadani, 2015).

Pengujian Aktivitas Antibakteri

Masing- masing suspensi bakteri *Staphylococcus aures*, *Escherichia coli* dan

Salmonella thypi, dituangkan ke cawan petri steril yang berisi media NA yang masih cair, kemudian cawan petri diaduk untuk menyebarkan biakan bakteri secara merata dan didiamkan hingga media memadat. Cakram kertas steril dipindahkan secara aseptik menggunakan pinset steril ke dalam ekstrak etanol daun kacapiring dengan konsentrasi 20%, 40%, dan 60% dan juga dalam larutan kontrol positif (*ciprofloxacin*) dan larutan kontrol negatif (akuades) selama ± 1 menit. Cakram kertas yang telah direndam dengan ekstrak etanol daun Kacapiring, larutan kontrol positif (*ciprofloxacin*) dan larutan kontrol negatif (akuades), dipindahkan dengan pinset steril di atas permukaan medium NA yang berisi bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Salmonella thypi* secara aseptik, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam. Pengujian dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan untuk setiap konsentrasi yang diuji (Tangapo, 2005).

Analisis Data

Zona bening atau daya hambat dari diameter ekstrak etanol daun kacapiring disajikan dalam bentuk tabel dan gambar. Penggolongan kekuatan antibakteri dari daya hambat yang diperoleh ekstrak etanol daun

kacapiring digolongkan menurut Davis and Stout (2009).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi Daun Kacapiring

Simplisia daun kacapiring dieskrak menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% dan diuapkan menggunakan oven hingga menghasilkan ekstrak kental sebanyak 27 gram. Hasil persen rendemen sebesar 9.00 % dengan warna hijau kehitaman.

Pengujian Aktivitas Antibakteri

Kategori kekuatan daya antibakteri digolongkan menurut Davis and Stout (2009), dimana daerah hambatan 20 mm atau lebih tergolong sangat kuat, daerah hambatan 10-20 mm tergolong kuat, daerah hambatan 5-10 mm tergolong sedang dan daerah hambatan 5 mm atau kurang tergolong lemah. Konsentrasi ekstrak daun kacapiring yang digunakan dalam penelitian yaitu 20%, 40% dan 60% dengan kontrol positif *ciprofloxacin* dan kontrol negatif akuades.

Hasil pengukuran diameter zona hambat ekstrak etanol daun kacapiring (*Gardenia augusta*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol Daun Kacapiring (*Gardenia augusta*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Perlakuan	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-rata	Kategori Kekuatan Daya Antibakteri
	I	II	III		
Kontrol +	0	0	0	0	Lemah
Kontrol -	22,6	23	24,4	23,3	Sangat Kuat
20%	10,8	11,1	10,5	10,8	Kuat
40%	12,5	11,1	12,2	11,93	Kuat
60%	14,4	12,5	12,6	13,16	Kuat

Berdasarkan tabel 1. Hasil pengukuran diameter zona hambat ekstrak etanol daun kacapiring terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, terlihat memiliki zona hambat di konsentrasi 20%, 40% dan 60% masing-masing sebesar 10,8 mm, 11,93 mm dan 13,16 mm dan termasuk dalam kategori kuat. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun

kacapiring memiliki aktivitas antibakteri dan mampu menghambat bakteri *Staphylococcus aureus*.

Hasil pengukuran diameter zona hambat ekstrak etanol daun kacapiring (*Gardenia augusta*) terhadap bakteri *Escherichia coli* dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol Daun Kacapiring (*Gardenia augusta*) terhadap bakteri *Escherichia coli*

Perlakuan	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-rata	Kategori Kekuatan Daya Antibakteri
	I	II	III		
Kontrol +	0	0	0	0	Lemah
Kontrol -	27	25	26	26	Sangat Kuat
20%	11,1	9,8	11,1	10,67	Kuat
40%	13,7	12	13	12,9	Kuat
60%	14,4	12,2	13	13,2	Kuat

Berdasarkan tabel 2. Hasil pengukuran diameter zona hambat ekstrak etanol daun kacapiring terhadap bakteri *Escherichia coli*, terlihat memiliki zona hambat di konsentrasi 20%, 40% dan 60% masing-masing sebesar 10,67 mm, 12,9 mm, dan 13,2 mm dan termasuk dalam kategori kuat. Hal ini

menunjukkan bahwa semakin kecil konsentrasi yang digunakan maka semakin kecil zona hambat yang terbentuk.

Hasil pengukuran diameter zona hambat ekstrak etanol daun kacapiring (*Gardenia augusta*) terhadap bakteri *Salmonella thypi* dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol Daun Kacapiring (*Gardenia augusta*) Terhadap bakteri *Salmonella thypi*

Perlakuan	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-rata	Kategori Kekuatan Daya Antibakteri
	I	II	III		
Kontrol +	0	0	0	0	Lemah
Kontrol -	27	26	26,5	26,16	Sangat Kuat
20%	9	8,3	8	8,43	Sedang
40%	9	11,1	12	10,7	Kuat
60%	12,2	12	11	11,73	Kuat

Dari hasil pengukuran diameter zona hambat ekstrak etanol daun kacapiring terhadap bakteri *Salmonella thypi*, terlihat memiliki zona hambat pada konsentrasi 20% sebesar 8,43 mm termasuk dalam kategori sedang, 20% dan 40% masing-masing sebesar 10,7 mm, dan 11,73 mm dan termasuk dalam kategori kuat.

Walaupun terdapat hasil yang berbeda-beda dari penelitian ini, tetapi dapat dilihat bahwa konsentrasi 20%, 40% dan 60% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Salmonella thypi*. Berdasarkan hasil tersebut dapat diketahui bahwa bakteri bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Salmonella thypi* pada konsentrasi ekstrak memiliki sifat dan karakteristik yang berbeda dalam merespon bahan antibakteri. Salah satu faktor yang paling berpengaruh adalah adanya perbedaan struktur dinding sel antara bakteri Gram positif dan Gram negatif (Suriawiria, 2005).

Kontrol negatif yang digunakan pada pengujian tidak menunjukkan adanya zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Salmonella thypi*. Hal tersebut menunjukkan bahwa kontrol yang digunakan tidak berpengaruh pada pengujian yang dilakukan. Tujuan penggunaan kontrol negatif agar dapat mengetahui ada tidaknya pengaruh pelarut terhadap pertumbuhan bakteri uji, sehingga dapat dipastikan bahwa aktivitas yang ditunjukkan oleh ekstrak daun kacapiring ialah dari senyawa yang terkandung dalam sampel bukan berasal dari pelarut (Djakatara *et al*, 2019).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa diameter zona hambat yang dibentuk oleh kontrol positif yaitu *ciprofloxacin* lebih besar pada bakteri Gram negatif *Escherichia coli* (26 mm), dan *Salmonella thypi* (26,16 mm) dibandingkan bakteri gram positif *Staphylococcus aureus* (23,33 mm). Hal ini disebabkan karena kedua bakteri berasal dari golongan bakteri yang berbeda. Sesuai dengan literatur dalam buku *Basic Pharmacology and Drug Notes* (2017), bahwa

antibiotik *Ciprofloxacin* memiliki daya antibakteri yang lebih kuat pada bakteri gram negatif seperti *Escherichia coli* dan *Salmonella thypi*.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun kacapiring (*Gardenia augusta*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Salmonella thypi* pada konsentrasi 20%, 40% dan 60%. Konsentrasi ekstrak etanol daun kacapiring (*Gardenia augusta*) yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Salmonella thypi* yaitu pada konsentrasi 60% dengan rata-rata diameter zona hambat yang terbentuk masing-masing sebesar 13,16 mm, 13,2 mm, dan 11,73 mm.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dalam mengembangkan kacapiring (*Gardenia augusta*) sebagai senyawa atau bahan aktif obat dengan mengidentifikasi, mengekstraksi, dan fermentasi terhadap zat-zat yang memiliki efek antibakteri. Juga diperlukan penelitian lebih lanjut dari ekstrak kacapiring (*Gardenia augusta*) terhadap bakteri lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 1986. Sediaan Galenik. Departemen Kesehatan RI, Jakarta.
- Davis, W.W. And Stoud, T. R. 2009. Disc Plate Methods Of Microbiological Antibiotic Assay. *Journal of Microbiology*. 22(4): 666-670.
- Dehghani, F., Heshmatpour, A., Panjeshahin, M.R. and Khozani, T.T. 2012. Toxic effects of water/ alcoholic extract of *Syzygium aromaticum* on sperm quality, sex hormones and reproductive tissues in male mouse. *Journal Biology IUFS* 71 (2):95-102.

- Dwijendra, I. M. 2014. Aktivitas Antimikroba dan Karakterisasi Senyawa Fraksi Spos Lamellodysidea herbacea yang Diperoleh dari Teluk Manado [skripsi]. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Sam Ratulangi, Manado.
- Kumala, S., Tambunan R. M. & Mochtar, D., 2006, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Kembang Pukul 4 (*Mirabilis jalapa* L.) Dengan Metode Bioautografi, *Jurnal Pharmaceutical Science*, 8 (2), 335-339.
- Lay, B.W. 1994. Analisis Mikroba di Laboratorium. Edisi 1. Raja Grafindo Persada, Jakarta.
- Ngajow, F. 2013. Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometian pinnata*) terhadap bakteri *Stahpylococcus aureus* secara in vitro. *Jurnal MIPA Unsrat* 2(2) :128-132.
- Rahmadani, F. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Dari Ekstrak Etanol 96% Kulit Batang Kayu Jawa (*Lannea o romandelica*) Terhadap Bakteri *Stahpylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Helicobacter pylori*, *Pseudomonas aeruginosa* [skripsi]. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Setia Budy, R. Gan, V. H. 2007. *Pengantar Antimikroba*. Dalam *Famakologi Dan Terapi* Edisi ke-5. Balai Penerbit FKUI, Jakarta.
- Simbala, H. E. I. 2007. Keanekaragaman Floristik dan Pemanfaatannya Sebagai Tumbuhan Obat di Kawasan Konservasi II Taman Nasional Bogani Nani Wartabone (Kabupaten Bolaang Mongondow Sulawesi Utara) [disertasi]. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Suriawiria, Unus. 2005. *Mikrobiologi Dasar*. Papas Sinar Sinarti : Jakarta
- Tangapo, A. M. 2005. Efektivitas Antibakteri Ekstrak Tumbuhan Daun Sendok (*Plantago major*) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* [skripsi]. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sam Ratulangi, Manado.
- Team Medical Mini Notes. 2017. *Basic Pharmacology & Drug Notes*. MMN Publishing. Makassar.
- Yoga, IB K.W, Nuri. A & Endang P. 2007. Potensi Antioksidan Gel Dan Daun Kacaping (*Gardenia augusta*) [skripsi]. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam : Universitas Udayana, Bali.