

Efektivitas Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) terhadap Penghambatan Pertumbuhan Bakteri *Shigella flexneri* dengan Metode Sumuran

The Effectivity of Binahong (*Anredera cordifolia*) Leaves Extracts for Growth Inhibition of *Shigella flexneri* by Agar Well Difussion Method

Anis Ainurrochmah, Evie Ratnasari, Lisa Lisdiana

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Surabaya

ABSTRAK

Shigella flexneri merupakan salah satu bakteri penyebab disentri. Penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Shigella* sp. dapat disembuhkan dengan menggunakan antibiotik, tetapi penggunaan antibiotik yang berlebihan menyebabkan bakteri menjadi resisten. Salah satu alternatif pengganti antibiotik adalah dengan memanfaatkan senyawa metabolit sekunder daun binahong (*Anredera Cordifolia*). Penelitian ini bertujuan untuk mendeskripsikan hambatan pertumbuhan bakteri *Shigella flexneri* strain BW 1201 dan konsentrasi yang paling optimal dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella flexneri* strain BW 1201 dengan menggunakan ekstrak daun binahong. Pembuatan ekstrak daun binahong dilakukan dengan metode maserasi, yaitu dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Filtrat yang diperoleh kemudian diuapkan menggunakan rotary vacuum evaporator untuk memperoleh ekstrak kental. Konsentrasi ekstrak daun binahong yang diujikan adalah 0% (kontrol negatif/akuades), 40%, 60%, 80% dan 100% dengan 4 pengulangan. Data yang diperoleh berupa ukuran diameter zona hambat (mm) yang terbentuk pada media kultur *S. flexneri* strain BW 1201. Data dianalisis dengan menggunakan Analisis Varian Satu Arah dan dilanjutkan dengan uji Duncan untuk mengetahui perbedaan pada setiap konsentrasi dengan lebih jelas. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun binahong dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. flexneri* strain BW 1201. Perlakuan dengan konsentrasi 100% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. flexneri* strain BW 1201 paling optimal dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar 27,2 mm.

Kata kunci: *Shigella flexneri*; ekstrak daun binahong; hambatan pertumbuhan bakteri; metode sumuran

ABSTRACT

Shigella flexneri is one of pathogenic bacteria that cause dysentery. Disease caused by *Shigella* sp. can be cured using antibiotics, but the excessive use of antibiotics causes bacterial resistance. One of antibiotics alternate is secondary metabolites of binahong (*Anredera cordifolia*) leaves. This research aimed to determine the growth inhibitory of *S. flexneri* strain BW 1201 and the optimal concentration of binahong leaf extracts to inhibit the growth of *S. flexneri* strain BW 1201. Binahong leaves extracts was prepared by maceration method, using 96% ethanol. The filtrate of binahong leaves was evaporated by vacuum rotary evaporator to obtain a viscous extract. Binahong leaf extracts tested concentration were 0% (distilled water/control), 40%, 60%, 80% dan 100% with 4 repetitions. Data obtained were the diameter of clear zone (mm) formed in the culture medium of *S. flexneri* strain BW 1201. Data were analyzed using one way variant analysis test and Duncan's test. Results showed that the binahong leaves extracts had inhibitory effects on the growth of *S. flexneri* strain BW 1201 and optimal clear zone of 27,2 mm against the test bacterial at the concentration of 100%.

Key words: *Shigella flexneri*; binahong leaf extracts; growth inhibitory of bacterial; well difussion method

PENDAHULUAN

Disentri adalah penyakit semacam diare dengan gejala umum buang air besar dengan bentuk kotoran yang cair. Perbedaan disentri dari diare adalah ada bercak-bercak darah di kotoran. Setiap tahun penyakit disentri menjadi penyebab kematian satu juta orang di negara berkembang

dan kebanyakan dari mereka adalah anak-anak (Thompson, 2012).

Penyebab utama disentri di Indonesia adalah bakteri *Shigella* sp., *Salmonella* sp., *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, dan *Entamoeba histolytica*. Disentri berat umumnya disebabkan oleh *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Salmonella* sp. dan *Escherichia coli*. Perbandingan persentase anggota genus *Shigella* yang menjadi penyebab disentri

yaitu *S. flexneri* 70,6 %, *S. sonnei* 17,6 %, *S. boydii* 5,9 %, dan *S. dysenteriae* 5,9 %. Anggota genus *Shigella* yang memiliki persentase tertinggi sebagai penyebab disentri adalah *Shigella flexneri* (Santoso, dkk., 2004).

Shigella flexneri merupakan bakteri Gram negatif, nonmotile, dan berbentuk batang. *Shigella flexneri* dapat menyebabkan Shigellosis (disentri basiler) dengan cara menginvasi epitel usus besar. Bakteri *S. flexneri* mampu menyerang dan memecah sel-sel epitel serta makrofag dan sel dendritik kemudian masuk ke sitosol (Lucchini, dkk., 2005). Bakteri ini umumnya ditemukan dalam air yang tercemar oleh kotoran manusia kemudian ditransmisikan ke dalam air atau makanan yang terkontaminasi dan melalui kontak antara manusia.

Penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Shigella* sp. dapat disembuhkan dengan menggunakan antibiotik, tetapi penggunaan antibiotik yang berlebihan menyebabkan bakteri menjadi resisten. Salah satu alternatif ialah dengan memanfaatkan senyawa metabolit sekunder tanaman. Tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai alternatif antibakteri adalah tanaman dari famili *Basellaceae*, yaitu binahong. Pengalaman yang berkembang di masyarakat, daun binahong banyak digunakan untuk menyembuhkan luka bakar. Bagian tanaman binahong yang bermanfaat sebagai obat pada umumnya adalah akar dan daun.

Ekstraksi bertahap pada daun binahong dengan pelarut etil asetat, petroleum eter, dan etanol 70% menunjukkan bahwa pada daun binahong mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, saponin dan polifenol (Rochani, 2009 dalam Darsana, dkk., 2012). Ekstrak daun binahong pernah diujikan pada bakteri Gram negatif yaitu Bakteri *Escherichia coli* dengan konsentrasi 0%, 25%, 50%, 75% dan 100%. Hasil uji menunjukkan bahwa perasan daun binahong memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* secara in vitro. Hasil uji juga menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi maka akan semakin besar daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri dan konsentrasi paling optimal yang dapat menghambat adalah konsentrasi 100% (Darsana, dkk., 2012).

Mekanisme penghambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh senyawa alkaloid, polifenol, saponin dan flavonoid secara umum ialah dengan cara merusak komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh. Kerusakan dinding sel menyebabkan permeabilitas membran sel akan berubah sehingga menghambat kerja enzim

intraseluler dan menyebabkan masuknya air secara tidak terkontrol ke dalam sel bakteri yang pada akhirnya mengakibatkan kematian (Robinson, 1995).

Berdasarkan penelitian terkait mengenai aktivitas antibakteri yang dimiliki daun binahong, maka dilakukan penelitian yang bertujuan untuk mendeskripsikan aktivitas penghambatan pertumbuhan dan konsentrasi yang paling optimal dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella flexneri* strain BW 1201 dengan menggunakan ekstrak daun binahong.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini terbagi atas tahap ekstraksi dan uji aktivitas antibakteri. Proses ekstraksi daun binahong dilakukan di Laboratorium Fisiologi gedung C10, Universitas Negeri Surabaya pada bulan Juni. Uji aktivitas antibakteri dilakukan di Balai Besar Karantina Pertanian Surabaya pada bulan Juni-Juli.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain daun binahong yang diperoleh dari daerah Kepanjen, Malang sebanyak 5 kg, etanol 96% yang digunakan sebagai pelarut pada proses maserasi, kultur murni bakteri patogen *Shigella flexneri* strain BW 1201 yang diperoleh dari Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga, Surabaya, akuades, alkohol 70%, media NA (Oxoid) dan media NB (Merck) serta *Methylene Blue* 0,01% yang digunakan untuk mengatasi kelemahan perhitungan jumlah sel bakteri dengan hemositometer sehingga sel yang mati akan terwarnai menjadi biru sedangkan sel yang hidup tidak terwarnai.

Pembuatan ekstrak daun binahong dilakukan dengan metode maserasi menggunakan etanol 96% sebagai pelarut. Proses maserasi dilakukan sebanyak 3 kali. Hasil maserasi kemudian diuapkan dengan menggunakan *rotary vacuum evaporator*. Konsentrasi ekstrak daun binahong yang digunakan adalah 40%, 60%, 80% dan 100%. Konsentrasi tersebut diperoleh dengan membuat larutan stok 100% dengan cara melarutkan 15g ekstrak kental dan menambahkan akuades steril 15ml. Larutan stok kemudian diencerkan dengan menambahkan akuades steril untuk mendapatkan konsentrasi ekstrak daun binahong 80%, 60%, dan 40%.

Prosedur selanjutnya adalah perbanyakan dan pengenceran bakteri sampai diperoleh jumlah bakteri 10^3 sel/ml. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan cara membuat sumuran (diameter 6 mm) pada media *Nutrient Agar* yang sudah dicampur dengan bakteri uji sebanyak 1 ml setiap cawan. Setiap cawan dibuat 3 sumuran,

kemudian pada setiap sumuran dimasukkan ekstrak daun binahong dengan konsentrasi yang berbeda, masing-masing sebanyak 50 μ l (Wisudaningrum, 2008).

Data diperoleh dengan mengukur diameter zona hambat (zona bening) yang terbentuk pada media kultur *S. flexneri* strain BW 1201 dalam satuan millimeter. Data yang diperoleh kemudian diuji dengan uji normalitas dan selanjutnya dianalisis dengan menggunakan analisis varian 1 arah, sehingga perbedaan efektivitas konsentrasi ekstrak daun binahong terhadap penghambatan pertumbuhan bakteri *S. flexneri* strain BW 1201 dapat diketahui. Data tersebut kemudian diuji dengan menggunakan uji Duncan untuk mengetahui perbedaan pada setiap konsentrasi dengan lebih jelas.

HASIL

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan mengenai efektivitas ekstrak daun binahong terhadap penghambatan pertumbuhan bakteri *Shigella flexneri* strain BW 1201 dengan metode sumuran pada konsentrasi ekstrak 0%, 40%, 60%, 80% dan 100% diperoleh data sebagaimana disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Shigella flexneri* strain BW 1201 setelah diberi perlakuan dengan berbagai konsentrasi ekstrak daun binahong selama 24 jam pada media *Nutrient Agar*

	Perlakuan	Rata-rata \pm SD
1	A	0
2	B	18,5 ^a \pm 0,95
3	C	21,1 ^b \pm 0,74
4	D	24,5 ^c \pm 0,89
5	E	27,2 ^d \pm 2,18

Keterangan : A: Konsentrasi 0%; B: Konsentrasi 40%; C: Konsentrasi 60%; D: Konsentrasi 80%; E: Konsentrasi 100%

Tabel 1 menunjukkan penurunan rata-rata diameter zona hambat (*clear zone*) dari konsentrasi 100% (A) ke konsentrasi 40% (D). Pada konsentrasi 100% (A) rata-rata diameter zona hambat sebesar 27,2 mm ; konsentrasi 80% (B) rata-rata diameter zona hambat sebesar 24,5 mm ; konsentrasi 60% (C) rata-rata diameter zona hambat sebesar 21,1 mm, sedangkan

pada konsentrasi 40% (D) rata-rata diameter zona hambat sebesar 18,5 mm.

Data di atas kemudian diuji menggunakan uji Normalitas dan hasil uji menunjukkan tingkat signifikansi $p > \alpha$, dengan (p) = 0,760 ; 0,997 dan $\alpha = 0,05$. Hal tersebut menunjukkan data berdistribusi normal.

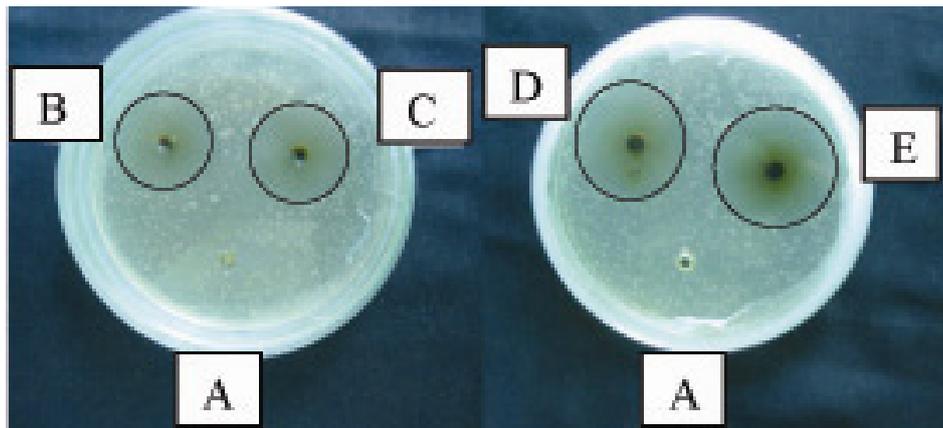
Data penghambatan pertumbuhan bakteri *S. flexneri* strain BW 1201 yang ditunjukkan dengan diameter zona hambat yang beragam selanjutnya diuji secara statistik dengan menggunakan uji Varian Satu Arah. Hasil uji Varian Satu Arah menunjukkan bahwa $p (0,000) < \alpha (0,05)$, yang berarti data berbeda signifikan. Hasil tersebut menunjukkan bahwa ada perbedaan aktivitas antibakteri setiap konsentrasi ekstrak daun binahong terhadap penghambatan pertumbuhan bakteri *S. flexneri* strain BW 1201. Data yang berbeda signifikan selanjutnya dianalisis dengan uji Duncan dengan $\alpha = 0,05$ untuk mengetahui perbedaan pada setiap konsentrasi dengan lebih jelas. Hasil uji Duncan menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi maka semakin besar diameter zona hambat yang terbentuk. Perlakuan terbaik yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. flexneri* strain BW 1201 secara optimal yakni pada konsentrasi 100%.

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan mengenai uji efektivitas ekstrak daun binahong terhadap penghambatan pertumbuhan bakteri *Shigella flexneri* menunjukkan bahwa adanya aktifitas antibakteri ditandai dengan terbentuknya zona hambat pertumbuhan yang bersifat radikal (Gambar 1). Zona radikal merupakan suatu daerah di sekitar sumuran yang sama sekali tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri (Yulianty, dkk., 2011). Aktivitas antibakteri ekstrak daun binahong dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. flexneri* BW 1201 diketahui dengan mengukur diameter dari zona radikal kemudian dikurangi dengan diameter sumuran.

Kemampuan ekstrak daun binahong dalam menghambat pertumbuhan bakteri dikarenakan adanya kandungan senyawa metabolit sekunder, yaitu alkaloid, flavonoid, polifenol dan saponin. Mekanisme penghambatan pertumbuhan mikroorganisme dapat dilakukan melalui penghambatan sintesis dinding sel, penghambatan fungsi membran sel, penghambatan sintesis protein dan penghambatan pertumbuhan sel bakteri (Robinson, 1995).

Cara penghambatan struktur dinding sel dan membran sel bakteri, yaitu dengan menggunakan gugus -OH senyawa fenol yang dapat mendenaturasi protein dan dapat melarutkan lemak dengan cara berikatan dengan membran sel sehingga dengan adanya senyawa ini rantai karbon menjadi terputus sehingga terbentuk celah pada membran sel (Schlegel dan Karin, 1994).



Gambar 1. Hasil dokumentasi penghambatan pertumbuhan bakteri *S. flexneri* strain BW 1201 dengan ekstrak daun binahong ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening di sekitar sumuran. A (kontrol negatif/akuades steril), B (Konsentrasi 40%), C (Konsentrasi 60%), D (Konsentrasi 80%), dan E (Konsentrasi 100%).

Mekanisme penghambatan bakteri oleh polifenol, yaitu dengan cara menghambat dan merusak pembentukan dinding sel sehingga akan memudahkan senyawa lain berinteraksi dengan komponen penyusun sel lain dari bakteri (Poelongan, 2005). Polifenol mempunyai komposisi sama dengan flavonoid yang merupakan senyawa fenol dan bersifat sebagai koagulator protein. Senyawa flavonoid memiliki kemampuan membentuk kompleks dengan protein sel bakteri melalui ikatan hidrogen. Ikatan hidrogen dan flavonoid menyebabkan struktur dinding sel dan membran sel bakteri menjadi tidak stabil dan mengakibatkan sel lisis (Harborne, 1987).

Alkaloid juga memiliki aktivitas yang sama, yakni merusak dinding sel melalui komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri. Perusakan peptidoglikan dapat melalui perusakan ikatan hidrogen antara peptida yang menyusunnya sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian (Robinson, 1995).

Komponen sel lain yang menjadi target setelah dinding sel adalah membran sel. Senyawa saponin dapat merusak membran sel bakteri dengan cara berinteraksi dengan membran sel. Hal tersebut dapat terjadi karena saponin mempunyai sisi aktif pada permukaan sel yang memungkinkan untuk berikatan dengan senyawa penyusun membran sel bakteri, yaitu lipid (Robinson, 1995). Ikatan tersebut mengakibatkan terbentuknya senyawa kompleks yang sulit dipisahkan dan mengakibatkan ikatan normal fosfolipid dalam membran terlepas. Lepasnya ikatan normal menyebabkan aktivitas enzim pada

membran menjadi terganggu dan akibatnya metabolisme sel juga terganggu. Perusakan membran sel tersebut mengakibatkan tegangan lapisan sel menjadi lemah sehingga senyawa akan masuk ke dalam sitoplasma dan merusak ribosom dengan cara mengganggu proses replikasi dan transkripsi. Akibat terganggunya proses tersebut maka sintesis protein serta proses metabolisme juga terganggu sehingga menyebabkan kerusakan dan kematian sel (Pelczar dan Chan, 1988).

Kerja zat antibakteri yang terdapat pada ekstrak daun binahong dapat dipengaruhi oleh banyak faktor. Faktor-faktor tersebut harus dipertimbangkan agar zat antibakteri dapat bekerja secara efektif. Beberapa hal yang dapat memengaruhi kerja zat antibakteri menurut Pelczar dan Chan (1988) adalah konsentrasi zat antibakteri, jumlah bakteri, jenis bakteri, dan suhu.

SIMPULAN

Berdasarkan analisis dan pembahasan data hasil penelitian mengenai efektivitas ekstrak daun binahong terhadap penghambatan pertumbuhan bakteri *Shigella flexneri* strain BW 1201 dengan metode sumuran dapat disimpulkan, bahwa ekstrak daun binahong dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella flexneri* strain BW 1201. Konsentrasi optimal ekstrak daun binahong yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella flexneri* strain BW 1201 adalah konsentrasi 100% dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar 27,2 mm.

UCAPAN TERIMA KASIH

Keberhasilan penelitian ini tidak lepas dari bantuan dan dukungan dari berbagai pihak.

Untuk itu kami mengucapkan terima kasih terutama kepada Kepala Balai Besar Karantina Pertanian Surabaya, Bapak Ir. Agus Suparto beserta seluruh staf BBKP Surabaya khususnya Ibu Wiwik Endarsih, Wulandari Yuliana, Baiq Hesty K., dan Intan Wisudaningrum atas bantuan dan saran yang diberikan sehingga penelitian ini dapat terlaksana sampai selesai.

DAFTAR PUSTAKA

- Darsana IO, Besung IK, Mahatmi H, 2012. Potensi Daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* Secara In Vitro. *Indonesia Medicus Veterinus*. 1(3): 337 - 351.
- Harborne JB, 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, diterjemahkan oleh Padmawinata K & Soediro. Penerbit Bandung : ITB.
- Thompson N, 2012. Wabah Disentri Gaya Baru Ancam Dunia. *Artikel*. <http://www.jpnn.com/read/2012/08/08/136228/Wabah-Disentri-Baru-Ancam-Dunia-> Diakses pada tanggal 1 November 2012.
- Lucchini S, Liu H, Jin Q, Hinton JCD, Yu J, 2005. Transcriptional Adaptation of *Shigella flexneri* during Infection of Macrophages and Epithelial Cells: Insights into the Strategies of a Cytosolic Bacterial Pathogen. *Infection and Immunity*. 73(1): 88-102.
- Pelczar MJ, Chan ECS, 1988. *Dasar-Dasar Mikrobiologi* (Jilid 1). Hadioetomo dkk, penerjemah. Jakarta : UI Press. Terjemahan dari : *Elements of Microbiology*.
- Poeloengan M, Susan MN, Andriani, 2005. Efektivitas Ekstrak Daun Sirih (*Piper Betle* Linn) Terhadap Mastitis Subklinis. *Journal Online*. Bogor : Balai Penelitian Veteran.
- Robinson T, 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*, diterjemahkan oleh Prof. Dr. Kosasih Padmawinata, Penerbit Bandung : ITB.
- Santoso SS, Gotama IBI, Waluyo I, 2004. Persepsi Masyarakat Terhadap Penyakit Shigella (Disentri) di Jakarta Utara. *Media Litbang kesehatan*. XIV(3): 1.
- Schlegel HG, Schmidt K, 1994. *Mikrobiologi Umum*. Edisi keenam. Diterjemahkan oleh Georg Thieme Verlag. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Wisudaningrum SMI, 2008. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Majapahit (*Crescentia cujete* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus pyogenes* dan *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *Tugas Akhir*. Tidak Dipublikasikan. Surabaya: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam ITS Surabaya.
- Yulianty R, Rante H, Alam G, Tahir A, 2011. Skrining dan Analisis KLT-Bioautografi Senyawa Antimikroba Beberapa Ekstrak Spons Asal Perairan Laut Pulau Barang Lompo, Sulawesi Selatan. *Majalah Obat Tradisional*. 16(2): 88-94.