

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK KULIT BUAH KAWISTA (*Limonia acidissima*) TERHADAP *Escherichia coli*

Putu Rika Veryanti^{1*} dan Ika Maruya Kusuma¹

¹Institut Sains dan Teknologi Nasional

Jl. Moh. Kahfi II, Srengseng Sawah, Jagakarsa, Jakarta Selatan, (021) 7270090

*corresponding author, e-mail: rika_veryanti@istn.ac.id

Abstract

Background: *Escherichia coli* is a normal bacteria lives in the large intestine to help the process and maintain human digestive health. However, there are certain types of *Escherichia coli* which are pathogenic to human body and cause infections, such as diarrhea, urinary tract infections, meningitis, sepsis and so on. Irrational use of antibiotics leads to bacterial resistance to antibiotics. Kawista is one of the fruits that used as traditional medicine in Indonesia. Kawista peel extract can be used as an alternative therapy to prevent resistance. Based on the content of secondary metabolites, kawista peel extract is thought to have antibacterial activity.

Purpose: This study was to determine the antibacterial activity of kawista (*Limonia acidissima*) peel extract against *Escherichia coli*.

Method: This research is an in-vitro study, preceded by a phytochemical screening test for methanol extract of kawista peel, then followed by an antibacterial activity test using the disc diffusion method and determining the minimum inhibitory concentration (MIC).

Results: This research showed that the kawista peel extract contained secondary metabolites such as alkaloids, flavonoids, saponins, tannins and terpenoids which have antibacterial activity. The concentration of the extract is directly proportional to its antibacterial activity. The 5% extract concentration gave an average inhibition zone diameter of 8.81 mm (moderate antibacterial activity), while at the 80% extract concentration the average inhibition zone diameter was 22.71 mm (very strong bacterial activity).

Conclusion: Kawista peel extract (*Limonia acidissima*) has antibacterial activity with a minimum inhibitory concentration of 5%.

Keywords: Antibacterial, Kawista, *Limonia acidissima*, *Escherichia coli*

Pendahuluan

Escherichia coli hidup dalam usus manusia sebagai flora normal dan membantu dalam proses pencernaan. Beberapa jenis dari *Escherichia coli* juga bersifat patogen dan menginfeksi manusia. Infeksi yang dapat ditimbulkan oleh *Escherichia coli* patogen diantaranya adalah diare akut, infeksi saluran kemih, meningitis

dan sepsis.^{1,2} Terapi pilihan pertama untuk mengobati infeksi bakteri adalah antibiotic.³ Namun sampai saat ini masih ditemukan beberapa masalah terkait penggunaan antibiotic. Di salah satu rumah sakit di Jakarta terdapat potensi ketidak-tepatan dosis pada penggunaan antibiotik pasien pediatri sebanyak 29,73%, ketidak-tepatan lama pemberian antibiotic 51,35% dan

ketidak-tepatan pemilihan antibiotic sebanyak 18,92%.⁴ Ketidakrasionalan penggunaan antibiotic ini dapat menyebabkan resistensi bakteri terhadap antibiotic. Hasil penelitian menunjukkan *Escherichia coli* telah resisten terhadap antibiotic kloramfenikol, ampisilin, amoksisilin dan tetrasiklin.⁵ Penelitian lain juga melaporkan hal yang sama, dimana *Escherichia coli* resisten terhadap amoksisilin dan streptomisin.⁶ Hal ini dapat berdampak pada ketidak-berhasilan pengobatan pasien. Rendahnya tingkat keberhasilan terapi antibiotic terhadap infeksi e coli juga disebabkan oleh kemampuan e coli dalam memproduksi enzim *extended spectrum beta lactamases* (ESBLs). ESBLs merupakan enzim yang mampu menghidrolisis antibiotik golongan beta laktam generasi ketiga, dan keempat, serta monobaktam (*aztreonam*).⁷

Para peneliti terus mengembangkan terapi antibiotic untuk mengantisipasi *multidrug-resistant* bakteri, termasuk juga dalam pengembangan obat berbasis bahan alam. Dewasa ini, pengobatan berbasis bahan alam semakin diminati masyarakat. Selain karena efektivitasnya juga karena efek samping yang ditimbulkan relative lebih ringan dan jarang ditemui.⁸

Kawista merupakan salah satu tanaman yang banyak dimanfaatkan sebagai pengobatan tradisional oleh masyarakat Indonesia dan secara empiris dianggap memiliki aktivitas antibakteri.⁹ Berdasarkan penelitian yang pernah dilakukan, diketahui bahwa tanaman kawsita baik daun, batang, dan buah nya mengandung metabolit sekunder yang bermanfaat bagi kesehatan. Metabolit sekunder tersebut diantaranya adalah polifenolat, alkaloid, kuinon, steroid, triterpenoid, dan flavonoid^{10,11,12} Sampai saat ini belum ada penelitian terkait kandungan kimia dari ekstrak kulit buah kawista. Kulit buah kawista selama ini hanya dianggap sampah yang tidak memiliki manfaat. Namun akan memiliki nilai ekonomis tinggi bila terbukti memiliki aktivitas antibakteri dan dapat menjadi alternative untuk mencegah resistensi serta mengatasi infeksi yang disebabkan *Escherichia coli*.

Metode Penelitian

Penelitian ini diawali dengan dilakukannya determinasi buah kawista (*Limonia acidissima*) di Herbarium Bogoriense Badan Penelitian dan Pengembangan Botani, Pusat Penelitian dan Pengembangan Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Cibinong-Bogor. Hal ini

bertujuan untuk mengetahui kebenaran sampel yang akan digunakan dalam penelitian. Selanjutnya dilakukan pembuatan ekstrak kulit buah kawista dengan metode maserasi di Laboratorium Fitokimia, Institut Sains dan Teknologi Nasional, Jakarta. Sebanyak 500gram serbuk kulit buah kawista dimaserasi dalam 5 L methanol



Gambar 1. Serbuk kulit buah kawista kawista

Sumber: primer (foto dari peneliti)

Ekstrak kental selanjutnya dilakukan uji penapisan fitokimia untuk mendeteksi kandungan metabolit sekunder seperti: Alkaloid, Flavonoid, Saponin, Tanin, dan Triterpenoid. Setelah pengujian fitokimia, dilanjutkan dengan pengujian aktivitas antibakteri dan penentuan konsentrasi hambat minimum (KHM).

Pengujian aktivitas antibakteri dari ekstrak metanol kulit buah kawista (*Limonia acidissima*) dilakukan dengan metode difusi cakram dalam lima konsentrasi ekstrak yang berbeda (Gambar 4). Konsentrasi ekstrak yang digunakan sebagai larutan uji adalah

dalam 24 jam. Filtrat kemudian disaring dan diremaserasi sebanyak 2 kali. Ekstrak yang diperoleh dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dan *waterbath*, sehingga diperoleh ekstrak kental kulit buah kawista. Serbuk dan ekstrak kulit buah kawista ditunjukkan pada gambar 1 dan 2.

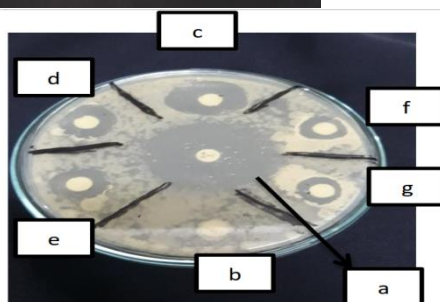


Gambar 2. Ekstrak kulit buah

Sumber: primer (foto dari peneliti)

5%, 10%, 20%, 40% dan 80% dan ditampilkan pada gambar 3. Suspensi bakteri *Escherichia coli* disebar ke permukaan media *Mueller Hinton Agar* (MHA), kemudian cakram yang masing-masing berisi kontrol positif (siprofloksasin), kontrol negative (aquadest) dan larutan uji diletakkan pada permukaan media secara steril dalam laminar *air flow* kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah itu dilakukan pengukuran terhadap diameter daerah hambat (DDH) yang dihasilkan dengan menggunakan

jangka sorong. Uji ini dilakukan 3 kali pengulangan.



Gambar 3. Larutan uji/ekstrak cakram
Sumber: primer (foto dari peneliti)

Gambar 4. Difusi cakram
Sumber: primer (foto dari peneliti)

Konsentrasi hambat minimum ditentukan berdasarkan konsentrasi ekstrak terendah yang masih memiliki aktifitas antibakteri. Pada pengujian ini konsentrasi larutan uji diturunkan menjadi 5%, 4%, 3%, 2% dan 1%. Konsentrasi terendah dari ekstrak kulit buah kawista yang masih memberikan daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ditetapkan sebagai konsentrasi hambat minimum.

Berdasarkan hasil uji penapisan fitokimia terhadap ekstrak kulit buah kawista (*Limonia acidissima*) diketahui bahwa ekstrak mengandung metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, saponin, tannin dan terpenoid. Hasil ini sejalan dengan penelitian lain dimana kandungan kimia yang diduga berkhasiat sebagai antibakteri adalah alkaloid, saponin, tanin, flavonoid dan terpenoid.¹³ Hasil uji penapisan fitokimia ekstrak kulit buah kawista ditampilkan pada Tabel 1.

Hasil dan Pembahasan

Uji Penapisan Fitokimia

Tabel 1 Hasil Penapisan Uji Fitokimia Ekstrak Kulit Buah Kawista

Identifikasi	Hasil	Ekstrak
--------------	-------	---------

Alkaloid	Pereaksi Bouchardat: Endapan Coklat	+
	Pereaksi Mayer: Endapan Putih	+
	Pereaksi Dragendorf: Endapan Merah Bata	+
	Flavonoid	Terbentuk warna merah atau jingga
Saponin	Busa stabil setinggi 1 cm	+
Tanin	Terbentuk warna hijau atau hitam	+
Terpenoid	Terbentuk cincin warna ungu	+

Berbagai penelitian yang pernah dilakukan juga menunjukkan bahwa tanaman kawista mengandung metabolit sekunder yang bermanfaat bagi kesehatan sehingga banyak digunakan sebagai pengobatan tradisional di masyarakat. Buah kawista mengandung senyawa polifenolat, alkaloid, kuinon, steroid, triterpenoid, dan flavonoid.¹⁰ Senyawa-senyawa tersebut dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri pada *Escherichia coli*.¹¹ Tidak hanya buah dan kulit buah kawista, daun kawista juga memiliki kandungan kimia yang tidak jauh berbeda yaitu, fenolik, flavonoid, tannin, saponin dan terpenoid.¹²

Uji Aktivitas Antibakteri

Pada pengujian aktivitas antibakteri ekstrak kulit buah kawista

terhadap *Escherichia coli*, dilakukan pengukuran terhadap diameter daerah hambat (DDH) cakram pada media agar. Hasil yang diperoleh menunjukkan hubungan yang linear antara aktivitas antibakteri dengan konsentrasi ekstrak. Semakin besar konsentrasi ekstrak kulit buah kawista, semakin besar DDH yang dihasilkan. Jika dibandingkan dengan control (+) / antibiotik siprofloksasin yang telah terbukti efektif dalam pengobatan infeksi, konsentrasi ekstrak 80% memiliki potensi aktivitas antibakteri yang sama, yaitu masuk dalam kategori sangat kuat dengan rata-rata DDH > 20mm. Hasil pengukuran DDH ekstrak kulit buah kawista ditampilkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Pengukuran DDH Ekstrak Kulit Buah Kawista

Konsentrasi Ekstrak	Rata-rata DDH (mm)	Keterangan
5%	8,81	Sedang
10%	11,73	Kuat
20%	15,95	Kuat
40%	18,21	Kuat

80%	22,71	Sangat Kuat
Kontrol (+)	31,36	Sangat Kuat
Kontrol (-)	0	-

Keterangan: Menurut Davis and Stout (2009) ≥ 20 mm = Sangat Kuat, 10-20 mm = Kuat, 5-10 mm = Sedang, ≤ 5 mm = Lemah

Siprofloksasin merupakan salah satu antibiotic golongan fluorokuinolon yang memiliki spektrum luas. Antibiotik ini mampu membunuh bakteri gram positif maupun gram negative. Antibiotik ini bekerja dengan menghambat topoisomerase II dan IV yang dibutuhkan bakteri untuk replikasi DNA. Siprofloksasin membentuk ikatan kompleks dengan enzim tersebut. Hambatan ini memberikan efek sitotoksik pada sel bakteri, seperti pada bakteri *Escherichia coli*.¹⁴

Escherichia coli merupakan bakteri gram negative dengan dinding sel yang tebal.^{1,2,3} Berdasarkan tabel 2, selain control (+) atau siprofloksasain, metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak kulit buah kawista terbukti memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Eschericia coli*. Alkaloid dapat mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada dinding sel bakteri, sehingga pembentukan lapisan dinding sel menjadi tidak sempurna. Hal ini menyebabkan dinding sel tidak mampu melindungi dan menyebabkan kematian sel

bakteri.¹⁵ Saponin memiliki sifat seperti deterjen sehingga dapat menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri dan merusak permeabilitas membrane. Saponin mengakibatkan terjadinya kebocoran protein dan enzim dari dalam sel.⁸ Metabolit sekunder lainnya seperti tanin mampu mendenaturasi protein dan mengganggu proses pencernaan bakteri.⁸ Potensi flavonoid sebagai antibakteri dapat menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel dan menghambat metabolisme energi bakteri.¹⁵ Sedangkan terpenoid dapat berikatan dengan porin yang merupakan protein transmembran pada membran luar dinding sel bakteri, kemudian membentuk ikatan polimer yang kuat dan merusak porin.¹⁵

Uji Konsentrasi Hambat Minimum

Konsentrasi hambat minimum (KHM) merupakan konsentrasi terendah dari ekstrak yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Tabel 3 menunjukkan bahwa pada

konsentrasi ekstrak 5%, tidak ada pertumbuhan bakteri pada media agar. Sedangkan pada konsentrasi yang lebih rendah masih ditemukan adanya pertumbuhan bakteri. Konsentrasi ekstrak kulit buah kawista di bawah 5%

tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*, sehingga dalam penelitian ini dapat diketahui bahwa KHM ekstrak kulit buah kawista terhadap bakteri *Escherichia coli* adalah 5%.

Tabel 3. Hasil Pengukuran KHM Ekstrak Kulit Buah Kawista

Konsentrasi Ekstrak	Pertumbuhan Bakteri
5%	-
4%	+
3%	+
2%	+
1%	+

Kesimpulan

Ekstrak kulit buah kawista (*Limonia acidissima*) berpotensi memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dengan konsentrasi hambat minimum 5%. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait uji aktivitas antibakteri kulit buah kawista (*Limonia acidissima*) terhadap *Escherichia coli* dengan fraksinasi.

Daftar Pustaka

1. Mandell GL, Bennet JE, Dolin R. 2010. *Principals and Practice of Infectious Diseases*. Elsevier Book Aid.
2. Nugroho AW, Translator. Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA, Nietzner TA. 2013. *Mikrobiologi Kedokteran Jawetz Melnick & Adelburg ed 25*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
3. Kementerian Kesehatan RI. 2011. *Pedoman Umum Penggunaan*

Antibiotik. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.

4. Kristiani Fetri, Maksum Radji, dan Alfina Rianti. Evaluasi Penggunaan Antibiotik secara Kualitatif dan Analisis Efektivitas Biaya pada Pasien Pediatri di RSUP Fatmawati Jakarta, *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, vol. 6(1), pp. 46-53, 2019.
5. Sumampouw Oksfriani Jufri. Uji Sensitivitas Antibiotik terhadap Bakteri *Escherichia Coli* Penyebab Diare Balita di Kota Manado, *Journal of Current Pharmaceutical Sciences*, vol 2(1), pp. 140-110, 2018.
6. Sasongko Hadi. Uji Resistensi Bakteri *Escherichia Coli* dari Sungai Boyong Kabupaten Sleman terhadap Antibiotik Amoksisilin, Kloramfenikol, Sulfametoxasol, dan Streptomisin, *Jurnal BIOEDUTIKA*, vol 2(1), pp. 25-29, 2014.
7. Prasetya Yulianto Ade, Ike Yuyun Winarsih, Kharisma Aprilia Pratiwi, Merinsa Chorry Hartono, dan Dian Nur Rochimah. Deteksi Fenotipik *Escherichia Coli* Penghasil *Extended Spectrum Beta-Lactamases* (ESBLs) pada Sampel

- Makanan di Krian Sidoarjo, *Life Science*, vol 8(1), pp. 75-85, 2019.
8. Rohyani, Immy Suci,. Evi A,. Suropto. (2015). "Kandungan Fitokimia Beberapa Jenis Tumbuhan Lokal Yang Dimanfaatkan Sebagai Bahan Baku Obat di Pulau Lombok". *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon*. Vol 1 No. 2
9. Vijayvargia, P. dan Vijayvergia, R. (2014). A Review on *Limonia acidissima* L.: Multipotential Medicinal Plant. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. Vol. 28(1): 191 – 195.
10. Gunarti Neni Sri. Uji Pendahuluan dan Karakterisasi Buah Kawista (*Limonia Acidissima*) Khas Karawang, *PharmaXplore*, vol 2(2), pp. 136-144, 2017.
11. Supriatno dan Audia Anda Rini. Uji Fitokimia dan Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Kawista (*Limonia Acidissima* L.) pada Bakteri *Escherichia Coli*, *Prosiding Seminar Nasional Pendidikan Biologi*, pp. 236-241, Juni 2018.
12. Ridwanuloh Dadan dan lin Lidia Putama Mursal. Isolasi Metabolit Sekunder dari Daun Kawista (*Limonia Acidissima* L.), *PharmaXplore*, vol 3(1), pp. 159-163, 2018.
13. Panda *et al.*, (2013). "Evaluation of Phytochemical and Anti-Microbial Activity of Ethanolic Extract of *Limonia acidissima* L. Leaves", *International Journal of Herbal Medicine*. Volume: 1, Issue:1 First page: (22) Last page: (27) ISSN: 2321-2187.
14. Raini Mariana. Antibiotik Golongan Fluorokuinolon: Manfaat dan Kerugian. *Media Litbangkes*, Vol 26 (3), pp.163-174,2016.
15. Saifudin Aziz .(2014). Senyawa Alam Metabolit Sekunder Teori, Konsep, dan Teknik dan Teknik Pemurnian, Ed. 1, Cet.1—

Yogyakarta: publish November 2014.