

PERBEDAAN ZONA HAMBAT PERTUMBUHAN *Staphylococcus aureus* PADA BERBAGAI KONSENTRASI EKSTRAK ETANOL DAUN BIDURI SECARA *IN VITRO*

Desak Gede Dian Purnama Dewi¹, Nyoman Mastra², I Nyoman Jirna³

^{1,2,3} Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Denpasar
Email: nyoman_mastra@yahoo.co.id

Abstract

Background *Staphylococcus aureus* is a pathogenic bacteria that can cause infection. Biduri leaf has antibacterial compound such as tannin, flavonoid, saponin, and polyphenol.

Objective This study aimed to know the difference of growth inhibition zone of *Staphylococcus aureus* at the various concentration of ethanol extract of biduri leaf and to determine an effective concentration.

Methods This study was the true experiment with posttest only control design, used Kirby-Bauer disk diffusion method with five concentrations (20%, 40%, 60%, 80%, 100%), positive control (chloramphenicol 30 µg) and negative control (ethanol 96%).

Result The result of this study showed the average of inhibition zone diameter of each concentration consecutively 26,2 mm, 28,3 mm, 29,7 mm, 31 mm and 31,5 mm. One Way Anova statistic analysis showed that the value of p is 0.000 so there is the difference of growth inhibition zone of *Staphylococcus aureus* at various concentrations of ethanol extract of a biduri leaf.

Conclusion The conclusion of this study is there are differences in growth inhibition zone of *Staphylococcus aureus* at various concentrations of ethanol extract of biduri leaf and an effective concentration that can inhibit of *Staphylococcus aureus* is concentration 20%

Keywords: ethanol extract of biduri leaf; *Staphylococcus aureus*; inhibition zone

PENDAHULUAN

Staphylococcus merupakan bakteri gram positif yang tersusun dalam bentuk bergerombol seperti buah anggur. Spesies yang paling sering dijumpai dalam kepentingan klinis adalah *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus saprophyticus*. *Staphylococcus aureus* merupakan flora normal bagi manusia jika dalam jumlah normal, selain itu bakteri ini juga terdapat di udara dan lingkungan sekitar. Apabila jumlahnya berlebih dan berada tidak sesuai

dengan tempatnya, maka bakteri *Staphylococcus aureus* dapat bersifat patogen dan menimbulkan penyakit infeksi pada manusia¹. *Staphylococcus aureus* juga merupakan bakteri penyebab utama infeksi nosokomial, keracunan makanan, dan sindrom syok toksik². *Staphylococcus aureus* telah terbukti sebagai salah satu bakteri yang ditemukan resisten terhadap antibiotik. *Methicilin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) adalah salah satu strain *Staphylococcus aureus*

yang resisten terhadap berbagai macam antibiotik.

Saat ini pengembangan untuk penemuan antimikroba dari tanaman dianggap penting karena antimikroba dari tanaman dipercaya memiliki efek samping yang minimal bahkan ada yang sama sekali tidak menimbulkan efek samping apabila digunakan secara tepat³. Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional adalah tanaman biduri.

Tanaman biduri adalah gulma gurun yang dapat tumbuh secara liar di daerah pesisir pantai dan lahan kering sehingga sangat mudah untuk dibudidayakan. Tanaman ini memiliki nama latin *Calotropis gigantea* L⁴. Tanaman biduri di Bali dikenal dengan sebutan tanaman manori atau maduri¹. Tanaman ini dapat tumbuh dengan subur di pesisir pantai dan tersebar di seluruh pantai yang ada di pulau Bali. Daun biduri mengandung senyawa aktif tanin, saponin, flavonoid, dan polifenol yang memiliki potensi sebagai antibakteri⁴. Berdasarkan uraian diatas maka penulis tertarik untuk meneliti perbedaan zona hambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* pada berbagai konsentrasi ekstrak etanol daun biduri secara *in vitro*.

METODE

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Analis Kesehatan, Politeknik Kesehatan Denpasar. Desain penelitian ini adalah *true experiment* dengan rancangan *posttest only control design*. Terdapat lima perlakuan terhadap ekstrak etanol daun biduri yaitu konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% dengan dua kali replikasi dan lima kali pengulangan menggunakan metode uji sensitivitas cara *Kirby Bauer*. Kontrol positif digunakan antibiotik kloramfenikol dan kontrol negatif adalah etanol 96%. Tahap penelitian dilakukan dengan penanaman bakteri *Staphylococcus aureus* pada media *Mueller Hinton Agar* (MHA), kemudian masing-masing cakram disk yang mengandung berbagai konsentrasi ekstrak etanol daun biduri ditempatkan ke dalam media. Media MHA yang telah ditempel cakram disk diinkubasi pada inkubator selama 24 jam dengan suhu 37°C. Hasil zona hambat yang terbentuk dinyatakan dalam satuan millimeter (mm).

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Hasil

Hasil pengukuran diameter zona hambat yang diperoleh pada penelitian ini selanjutnya dianalisis menggunakan uji statistik. Langkah pertama yang dilakukan saat mengolah data adalah menguji distribusi data dengan menggunakan uji

Kolmogorov Smirnov (KS). Hasil uji KS yang diperoleh dalam penelitian ini adalah nilai $p = 0,065$. Bila dibandingkan dengan nilai $\alpha(0,05)$, artinya data berdistribusi normal, langkah selanjutnya adalah melakukan uji *One Way Anova*.

Pada uji *One Way Anova* diperoleh hasil nilai $p < 0,001$ dengan derajat kepercayaan 95% (0,05). Perbedaan pada masing-masing konsentrasi ekstrak etanol daun biduri dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dapat diketahui dengan uji LSD (*Least Significant Difference*). Nilai $p < 0,001$

diperoleh pada konsentrasi 20% terhadap konsentrasi 40%, 60%, 80%, dan 100%; konsentrasi 40% terhadap konsentrasi 20%, 60%, 80%, 100%; konsentrasi 60% terhadap konsentrasi 20%, 40%, 80% dan 100%, nilai tersebut menandakan bahwa ada perbedaan bermakna pada masing-masing konsentrasi, sedangkan untuk konsentrasi 80% terhadap konsentrasi 100% diperoleh nilai $p (0,135)$ yang artinya bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara konsentrasi 80% dengan 100%.

Tabel 1. Data Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*

		Zona Hambat (mm)										
No	Konsentrasi	Replikasi I					Replikasi II					Rerata ± SD
		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	
1	20%	27	25	25	26	27	27	27	27	26	25	26,2±0,4
2	40%	28	29	29	28	29	27	28	28	29	28	28,3±0,4
3	60%	30	30	30	30	28	30	30	29	30	30	29,7±0,4
4	80%	32	30	30	31	31	31	31	32	31	31	31±0,3
5	100%	31	31	32	32	30	32	32	32	31	32	31,5±0,3
6	Kontrol (+)	25	25	25	25	27	25	25	25	25	25	25,2±0,5
7	Kontrol (-)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Kontrol positif yang digunakan

2. Pembahasan

adalah antibiotik kloramfenikol.

a. Panjang diameter zona hambat pada kontrol

Berdasarkan hasil pengukuran rerata

1) Kontrol positif

diameter zona hambat yang terbentuk pada kontrol positif adalah 25,2 mm, jika nilai

tersebut dibandingkan dengan tabel NCCLS maka kontrol positif ini termasuk dalam kategori sensitif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Zona hambat yang terbentuk oleh kontrol positif disebabkan karena antibiotik kloramfenikol menghambat proses sintesis protein mikroba dan bersifat bakteristatik.⁵ Pengerjaan kontrol positif ini berfungsi sebagai pembanding untuk menentukan tingkat kepekaan dari zat uji yang diteliti.

2) Kontrol negatif

Pemeriksaan pada kontrol negatif bertujuan untuk melihat apakah pelarut yang digunakan memiliki pengaruh terhadap diameter zona hambat yang terbentuk. Kontrol negatif yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 96%. Hasil pengukuran pada kontrol negatif adalah 0 mm. Nilai nol tersebut menandakan bahwa kontrol negatif yang digunakan tidak berpengaruh dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* karena etanol 96% hanya bekerja secara *short acting* dan tidak persisten⁶.

b. Panjang diameter zona hambat terhadap perlakuan

1) Diameter zona hambat pada konsentrasi 20%

Rerata diameter zona hambat yang terbentuk pada konsentrasi 20% adalah

26,2 mm dan merupakan rerata paling pendek diantara kelima konsentrasi ekstrak etanol daun biduri, tetapi apabila dibandingkan dengan kontrol positif (antibiotik kloramfenikol) ekstrak etanol daun biduri konsentrasi 20% memiliki daya hambat lebih besar dan termasuk kategori sensitif.

2) Diameter zona hambat pada konsentrasi 40%

Pengukuran diameter zona hambat ekstrak etanol daun biduri konsentrasi 40% menunjukkan rerata zona hambat sebesar 28,3 mm. Jika rerata diameter zona hambat yang terbentuk pada konsentrasi 40% dibandingkan dengan kontrol positif yang mengandung antibiotik kloramfenikol, maka konsentrasi ini memiliki diameter dan kekuatan yang lebih besar untuk menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan termasuk kategori sensitive, bila dibandingkan dengan ekstrak etanol daun biduri konsentrasi 20%, maka konsentrasi 40% memiliki diameter zona hambat yang lebih luas (28,3 mm > 26,2 mm).

3) Diameter zona hambat pada konsentrasi 60%

Rerata diameter zona hambat dari seluruh replikasi dan pengulangan pada konsentrasi ini adalah 29,7 mm. Jika dibandingkan dengan kontrol positif yang mengandung antibiotik kloramfenikol,

konsentrasi 60% ini memiliki zona hambat yang lebih besar dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* sehingga termasuk kategori sensitif. Bila hasil zona hambat yang terbentuk pada konsentrasi 60% dibandingkan dengan konsentrasi 20% dan 40%, maka konsentrasi 60% menghasilkan diameter yang lebih luas.

4) Diameter zona hambat pada konsentrasi 80%

Pengukuran diameter zona hambat ekstrak etanol daun biduri konsentrasi 80% menunjukkan rerata diameter zona hambat sebesar 31 mm. Jika rerata diameter zona hambat yang terbentuk pada konsentrasi 80% dibandingkan dengan diameter zona hambat yang terbentuk pada kontrol positif (kloramfenikol) maka dapat dilihat bahwa konsentrasi 80% memiliki daya yang lebih besar dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan termasuk kategori sensitif. Bila diameter zona hambat yang terbentuk pada konsentrasi 80% dibandingkan dengan diameter zona hambat yang terbentuk pada konsentrasi 20%, 40% dan 60% maka konsentrasi 80% memiliki diameter zona hambat yang lebih luas.

5) Diameter zona hambat pada konsentrasi 100%

Rerata diameter zona hambat pada konsentrasi 100% adalah 31,5 mm.

Konsentrasi 100% merupakan konsentrasi terbesar yang dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Jika dibandingkan dengan kontrol positif (kloramfenikol), konsentrasi ini memiliki daya yang lebih besar dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan termasuk kategori sensitif. Rerata diameter zona hambat ekstrak etanol daun biduri pada konsentrasi 100% bila dibandingkan dengan rerata diameter zona hambat yang terbentuk pada ekstrak etanol daun biduri konsentrasi 20%, 40%, 60%, dan 80% menghasilkan diameter paling luas.

Diameter zona hambat yang terbentuk pada berbagai konsentrasi ekstrak etanol daun biduri dipengaruhi oleh kandungan zat aktif yang terdapat dalam daun biduri. Senyawa tanin mampu membentuk ikatan kompleks dengan protein polipeptida dari dinding sel bakteri sehingga akan mengganggu proses sintesis protein dan menyebabkan sel bakteri menjadi lisis⁷. Senyawa tanin memiliki efek bakteriostatik, tetapi aktivitasnya dapat meningkat menjadi bakterisida apabila kadar antibakterinya ditingkatkan melebihi kadar hambat minimal⁸.

Flavonoid merupakan senyawa yang bersifat lipofilik sehingga mampu mengikat fosfolipid-fosfolipid pada dinding sel bakteri. Senyawa flavonoid akan berikatan dengan lipid DNA bakteri

sehingga menghambat replikasi DNA yang menyebabkan perubahan kerangka mutasi pada sintesis protein⁹. Mekanisme penghambatan sintesis DNA ini memiliki efek bakteristatik⁸. Saponin bekerja sebagai antibakteri yang mengganggu stabilitas membrane sel bakteri yang mengakibatkan keluarnya komponen penting dari dalam sel bakteri yaitu protein, asam nukleat dan nukleotida sehingga proses pembentukan dinding sel bakteri tidak sempurna¹⁰. Mekanisme kerja ini memiliki efek bakteristatik dan dalam kadar yang tinggi dapat bersifat bakterisida⁸.

Perbedaan diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada masing-masing konsentrasi disebabkan oleh adanya pengenceran dari setiap seri konsentrasi. Semakin tinggi pengenceran maka semakin sedikit kandungan zat aktif yang terdapat didalamnya sehingga semakin kecil diameter zona hambat yang terbentuk, sehingga pada konsentrasi 20% diperoleh diameter zona hambat yang paling kecil dibandingkan dengan konsentrasi yang lebih tinggi yaitu 40%, 60%, 80%, dan 100%. Terdapat hasil yang tidak berbeda nyata pada konsentrasi 80% dengan 100%, hal tersebut disebabkan karena ekstrak konsentrasi 100% terlalu kental dan pekat sehingga sulit untuk terserap ke dalam

cakram disk dan tidak mampu berdifusi secara maksimal.

Berdasarkan pemaparan diatas diketahui bahwa konsentrasi efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* adalah konsentrasi 20% dengan diameter zona hambat sebesar 26,2 mm. Konsentrasi efektif adalah konsentrasi terendah yang bersifat sensitif dan mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, sehingga hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat untuk mengatasi penyakit infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus*.

SIMPULAN DAN SARAN

Ada perbedaan zona hambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* pada berbagai konsentrasi ekstrak etanol daun biduri secara *in vitro* dengan konsentrasi efektif yang dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* adalah 20%

Bagi peneliti disarankan untuk melakukan penelitian mengenai koefisien hambat minimum ekstrak etanol daun biduri untuk mengetahui kemampuan dan konsentrasi minimum efektif yang dapat membunuh bakteri *Staphylococcus aureus*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Jawetz, Melnick and Adelberg. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi 25. Alih bahasa: Aryandhito Widhi

- Nugroho. Jakarta: Buku Kedokteran EGC. 2013
2. Radji, M. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. 2011
 3. Herbie, T. *Kitab Tanaman Berkhasiat Obat: 226 Tumbuhan Obat Untuk Penyembuhan Penyakit dan Kebugaran Tubuh*. Yogyakarta: Octopus Publishing House. 2015
 4. Kumar, G., L. Karthik and K.V.B. Rao. *Antibacterial Activity Aqueous Extract of Calotropis gigantean Leaves-An In Vitro Study*. International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research.4(2): 141-144.<http://www.globalresearchonline.net/journalcontents/volume4issue2/Article%20024.pdf>.diakses tanggal 26 November 2016. 2010
 5. Katzung, B.G. *Farmakologi Dasar & Klinik*. Edisi 10. Alih Bahasa: Aryandhito Widhi Nugroho. Jakarta: Buku Kedokteran EGC. 2012
 6. Ramadhan, I. *Efek Antiseptik Berbagai Merk Hand Sanitizer Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus*. Skripsi. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Program Studi Pendidikan Dokter, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta. 2013
 7. Sujatmiko, A.Y. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kayu Manis (Cinnamomum burmannii B.) Dengan Cara Ekstraksi Yang Berbeda Terhadap Escherichia coli Sensitif Dan Multiresisten Antibiotik*. Naskah Publikasi. Fakultas Keguruan Dan Ilmu Pendidikan, Program Studi Biologi, Universitas Muhammadiyah Surakarta. 2014
 8. Kee, J.L and Hayes, E.R. *Farmakologi: Pendekatan Proses Keperawatan*. Alih bahasa: dr. Peter Anugrah. Jakarta: Buku Kedokteran EGC. 2008
 9. Suryani, D. *Efektivitas Daun Sukun (Artocarpus altilis) Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri Escherichia coli*. Karya Tulis Ilmiah. Fakultas Ilmu Kesehatan, UM Palangkaraya. 2014
 10. Kurniawan, B. dan W.F. Aryana. *Binahong (Cassia Alata L) As Inhibitor Of Escherichia coli Growth*. J Majority. 4(4): 100-104. 2015