

Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Buah Kesemek (*Diospyros Kaki*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Pseudomonas Aeruginosa*

Katherine Gunawan, Diaz Farrasizdihar, Therry Prosperita Karnifani Wau, Evan Charista Ziralu, Yolanda Eliza Putri Lubis

Fakultas Kedokteran, Prodi Pendidikan Dokter, Universitas Prima Indonesia, Medan, Indonesia
Email: katherinegunawan@gmail.com

Abstrak

Bakteri *pseudomonas* adalah salah satu bakteri penyebab penyakit infeksi yang paling sering ditemukan. *Pseudomonas aeruginosa* sering terdapat pada floral usus dan kulit manusia, dan merupakan patogen utama dalam grup *pseudomonas*. Resistensi bakteri adalah salah satu masalah global yang sedang dihadapi pada negara berkembang maupun negara maju. Upaya-upaya yang dapat dilakukan yaitu mengontrol penggunaan antibiotik, mengembangkan penelitian untuk lebih mengerti tentang mekanisme resistensi secara genetik dan penemuan obat baru baik sintetik maupun yang berasal dari alam seperti penggunaan obat tradisional yang berasal dari tumbuhan sebagai antibakteri. Buah kesemek (*Diospyros Kaki*) merupakan salah satu jenis tanaman buah-buahan yang kaya akan zat antibakteri dan mempunyai potensi yang besar untuk dikembangkan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efektifitas antibakteri ekstrak buah kesemek (*Diospyros Kaki*) terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Penelitian ini menggunakan metode eksperimental laboratorium dan metode difusi cakram pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak buah kesemek memiliki efektivitas sangat lemah untuk menghambat pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa*. Dengan hambatan paling besar pada tingkat konsentrasi 100% adalah sebesar 8,7 mm.

Kata Kunci: Ekstrak buah kesemek, antibakteri, *Pseudomonas aeruginosa*.

1. PENDAHULUAN

Penyakit infeksi merupakan salah satu penyebab utama kematian pada negara berkembang. Penyebab dari penyakit infeksi adalah berbagai mikroorganisme seperti bakteri, jamur, virus dan parasit yang dapat menimbulkan berbagai penyakit. *Pseudomonas* adalah salah satu bakteri penyebab penyakit infeksi yang paling sering ditemukan [1]. *Pseudomonas aeruginosa* sering terdapat pada floral usus dan kulit manusia, dan merupakan patogen utama dalam grup *pseudomonas*.

Bakteri *P. aeruginosa* merupakan bakteri patogen oportunistik, yang bersifat invasif dan toksigenik, sehingga menyebabkan infeksi pada tubuh yang tidak adekuat. Dan merupakan salah satu penyebab terjadinya infeksi nosokomial. Angka kejadian infeksi nosokomial di dunia yang disebabkan oleh bakteri *P. aeruginosa* sekitar 10-15% dan sekitar 10-20% pada unit perawatan intensif (ICU), biasanya terjadi pada pasien septikemia, sistik fibrosis, luka bakar, dan infeksi luka [2].

Salah satu masalah global yang sedang dihadapi pada negara berkembang maupun negara maju adalah resistensi bakteri terhadap antibiotik. *P. aeruginosa* memiliki resistensi terhadap 14 macam obat antibiotik seperti antibiotik ampisilin, eritromisin, amoksisilin, sefurosim, seftriason, gentamsin, tetrasiklin, sefadroksilin, piperasilin, trimetoprim, tobramisin, kotrimoksazol, nalidixid, sulfonamid kompleks. Hal ini membuat pengobatan infeksi *P. aeruginosa* sangat sulit dilakukan. [3] Upaya-upaya yang dapat dilakukan yaitu mengontrol penggunaan antibiotik, mengembangkan penelitian untuk lebih mengerti tentang mekanisme resistensi secara genetik dan penemuan obat baru baik sintetik maupun yang berasal dari alam seperti penggunaan obat tradisional yang berasal dari tumbuhan sebagai antibakteri.

Indonesia sebagai negara yang kaya akan sumber daya alam harus mendorong masyarakat untuk mengkonsumsi buah sebagai salah satu cara untuk menjaga kesehatan tubuh, karena buah mengandung banyak khasiat dan dapat digunakan untuk mencegah timbulnya berbagai penyakit. Tapi data (Riskesdas, 2013) menyebutkan bahwa sebanyak 93,5% penduduk usia >10 tahun mengkonsumsi buah-buahan dan sayuran dibawah anjuran [4]. Buah kesemek (*Diospyros Kaki*) merupakan salah satu jenis tanaman buah-buahan yang mempunyai potensi yang besar untuk dikembangkan sebagai antibakteri yang dapat merusak membran sel bakteri, sehingga mengganggu permeabilitas sel bakteri [5].

2. METODOLOGI PENELITIAN

Alat-alat yang digunakan antara lain loyang, pisau, talenan, penggaris, lampu pijar 40 watt, timbangan, kertas perkamen kajang, kulkas, lemari pengering, kertas saring, toples kaca, jirigen, tabung reaksi, rak tabung reaksi, pipet tetes, jarum ose, kapas steril, cawan porselain, spatula, corong pemisah, jangka sorong, penjepit tabung, *erlenmeyer*, mesin *Rotary Evaporator*, *waterbath*, *Biological Safety Cabinet*, neraca analitik, oven, inkubator, otoklaf.

Bahan-bahan yang dipakai adalah buah kesemek. Bahan kimia yang digunakan pada penelitian ini meliputi etanol 96%, asam klorida pekat, asam sulfat pekat, besi (III) klorida, timbal (II) asetat, isopropanol, klorofom, amil alkohol, aquades, etanol, n-heksana, pereaksi mayer, dragendorff, bouchardat, Lieberman-Bouchard, dimetil sulfoksida (DMSO), *potato dextrose agar* (PDA), *nutrient agar*, spiritus, alkohol 70%, dan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Sumatera Utara.

a. Persiapan Sampel

Buah kesemek yang baru diperoleh dari pasar dibersihkan terlebih dahulu dari kapur yang menempel dengan cara dicuci dengan air mengalir, lalu tunggu sampai kering, setelah itu diiris tipis sekitar 1 cm, dan ditimbang beratnya, lalu disusun diatas kertas perkamen pajang, dan dikeringkan di lemari pengering dengan menggunakan lampu pijar 40 watt, dikeluarkan ketika buah kesemek sudah kering dan ditimbang beratnya. Simplisia diblender dan disimpan didalam toples kaca yang diisi dengan etanol 96%, lalu masukan ke lemari untuk menghindari sinar matahari.

b. Skrining fitokimia ekstrak buah kesemek

Skrining fitokimia dilakukan agar diketahui golongan senyawa kimia apa saja yang terkandung dalam simplisia, meliputi golongan tanin, flavonoid, saponin, steroida/ triterpenoida, glikosida dan alkaloid.

1. Pemeriksaan tanin

Ekstrak buah kesemek diambil dengan menggunakan spatula sebanyak 1 g, lalu didalamnya tambahkan 100 ml air suling dan dididihkan selama 3 menit lalu didinginkan dan disaring. Pada filtrat ditambahkan 1-2 tetes pereaksi besi (III) klorida 1%. Jika ada perubahan warna biru kehitaman atau hijau kehitaman berarti menunjukkan adanya tanin [6]

2. Pemeriksaan flavinoid

Ekstrak buah kesemek diambil dengan spatula sebanyak 10 g lalu ditambahkan 10 ml air panas, dididihkan selama 5 menit dan disaring dalam keadaan panas. 0,1 g serbuk magnesium, 1 ml asam klorida pekat dan 2 ml amil alkohol ditambahkan ke dalam 5 ml filtrat, lalu dikocok dan dibiarkan memisah. Flavonoid positif jika terdapat perubahan warna merah atau kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol.

3. Pemeriksaan saponin

Ekstrak buah kesemek diambil sebanyak 0,5 g dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 10 ml air panas, didinginkan kemudian dikocok secara kuat selama 10 detik. Jika terbentuk busa setinggi 1-10 cm yang stabil dalam atau lebih dari waktu 10 menit menunjukkan adanya saponin. [7]

4. Pemeriksaan steroida/ triterpenoida

Ekstrak buah kesemek diambil sebanyak 1 g dimasukkan didalam *erlenmeyer* dan dimaserasi dengan 20 ml *n*-heksan selama 2 jam, lalu disaring. Filtrat diuapkan dalam cawan penguap. Beberapa tetes pereaksi Liebermann-Burchard ditambahkan pada sisa. Jika timbul warna merah, merah muda atau ungu menunjukkan triterpenoida. Sedangkan warna biru atau biru hijau menunjukkan adanya steroida. [8]

5. Pemeriksaan glikosida

Ekstrak buah kesemek diambil sebanyak 3 g, lalu disari dengan 30 ml campuran etanol 96% dengan air (7:3) dan 10 ml asam klorida 2 N, direfluks selama 2 jam, didinginkan dan disaring. Diambil 20 ml filtrat ditambahkan 25 ml air suling dan 25 ml timbal (II) asetat 0,4 M, dikocok, didiamkan selama 5 menit lalu disaring. Filtrat disari dengan 20 ml campuran isopropanol dan kloroform (2:3), dilakukan berulang sebanyak 3 kali. Sari air dikumpulkan dan diuapkan pada temperature tidak lebih dari 50°C. Sisanya dilarutkan dalam 2 ml metanol. Larutan sisa digunakan untuk percobaan berikut: 0,1 ml larutan percobaan dimasukkan dalam tabung reaksi dan diuapkan di atas penangan air. Pada sisa ditambahkan 2 ml air dan 5 tetes pereaksi Molish. Secara perlahan-lahan ditambahkan 2 ml asam sulfat pekat melalui dinding tabung, terbentuknya cincin kadar sari larut dalam etanol dihitung terhadap badan yang telah dikeringkan

6. Pemeriksaan alkaloid

Ekstrak buah kesemek diambil sebanyak 0,5 g ke dalam tabung reaksi, lalu didalamnya tambahkan 1 ml asam klorida 2 N dan 9 ml air suling, dipanaskan diatas *waterbath* selama 2 menit, didinginkan lalu disaring. Didalam 3 tabung reaksi akan dimasukkan filtrat yang diperoleh dipakai untuk uji alkaloida akan dimasukkan ke dalam 3 tabung reaksi, lalu dalamnya dimasukkan 0,5 ml filtrat

Pada masing-masing pereaksi:

1. Tabung 1, ditambahkan 2 tetes pereaksi Meyer,
2. Tabung 2, ditambahkan 2 tetes pereaksi Boucharlat,
3. Tabung 3, ditambahkan 2 tetes pereaksi Dragendorff.

Alkaloida positif jika terdapat endapan atau kekeruhan pada minimum dua dari tiga percobaan diatas.

c. Uji Aktivitas Antibakteri

1. Pembuatan Larutan Uji Ekstrak Buah Kesemek dengan Berbagai Konsentrasi

Ambil 1 g ekstrak buah kesemek dengan ditimbang menggunakan timbangan analitik, kemudian tambahkan DMSO (dimetil sulfoksida) lalu diaduk hingga homogen. Konsentrasi ekstrak buah kesemek yang diperoleh adalah 10%; 20%; 30%; 40%; 50%; 60%; 70%; 80%; 90%; 100%. (Harahap, 2012)

2. Pengujian Aktivitas Antibakteri Ekstrak Buah Kesemek Terhadap *Pseudomonas aeruginosa*

Masukan 1 ml inokulum ke dalam cawan petri steril kemudian tambahkan 15 ml media NA (Nutrient Agar) yang telah dicairkan. Kemudian homogenkan cawan petri diatas permukaan meja agar media dan suspensi bakteri homogen dan tunggu sampai memadat. Pada permukaan yang memadat letakan pencadangan kertas yang telah terlebih dahulu direndam didalam larutan uji ekstrak buah kesemek, yang menggunakan DMSO sebagai kontrol, lalu tutup cawan petri dan bungkus lalu didiamkan selama 10-15 menit. Kemudian inkubasikan dalam inkubator pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Cara pengukuran uji aktivitas antibakteri pada ekstrak buah kesemek dilakukan dengan mengukur diameter zona hambat di sekitar kertas pencadangan menggunakan jangka sorong digital, Lakukan pengulangan percobaan selama 3 kali.

3. ANALISA DAN PEMBAHASAN

3.1 Hasil Fitokimia Ekstrak Buah Kesemek

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terdapat didalam buah. Hasil skrining fitokimia terhadap ekstrak buah kesemek (*Diospyros kaki*) menunjukkan bahwa ekstrak buah kesemek (*Diospyros Kaki*) mengandung senyawa metabolit yang didata dalam tabel 1 berikut.

Tabel 1. Hasil skrining fitokimia untuk ekstrak buah kesemek (*Diospyros kaki*)

No	Parameter	Ekstrak buah kesemek
1	Saponin	+
2	Tanin	+
3	Flavinoid	+
4	Steroid/Triterpenoida	+
5	Glikosida	+
6	Alkaloid	-

Keterangan : (+) = Mengandung senyawa kimia
(-) = Tidak mengandung senyawa kimia

Hasil uji skrining fitokimia pada ekstrak buah kesemek (*Diospyros kaki*) menunjukkan bahwa terdapat senyawa saponin, tanin, flavinoid, steroid/triterpenoida, dan glikosida. Metabolit yang berfungsi sebagai antibakteri antara lain senyawa saponin, tanin, flavinoid, steroid, glikosida. Semua senyawa tersebut memiliki polisakarida yang dapat menembus sel dinding bakteri sehingga dapat merusak sel dalam bakteri. [10]

3.2 Hasil Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Buah Kesemek (*Diospyros kaki*) terhadap *Pseudomonas aeruginosa*

Penelitian ini dilakukan dengan metode *disc diffusion* pada beberapa konsentrasi. *Blank disc* direndamkan kedalam ekstrak selama 10-15 menit lalu diletakkan pada media *Nutrient agar* yang telah terinokulasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, kemudian diinkubasikan dalam inkubator pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Selanjutnya, diameter zona hambat diukur menggunakan jangka sorong digital. Hasil pengukuran diameter zona hambat dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 2. Hasil pengukuran diameter zona hambat yang terbentuk pada uji antibakteri

No	Konsentrasi ekstrak buah kesemek (ml/mg)	Diameter zona hambat (mm)			Rata-Rata Diameter Zona Hambat (mm)
		I	II	III	
1	1000	8,8	8,9	8,5	8,7
2	900	7,7	8,2	7,8	7,9
3	800	7,1	7,1	7,0	7,1
4	700	6,4	6,3	6,4	6,3
5	600	-	-	-	-
6	500	-	-	-	-
7	400	-	-	-	-
8	300	-	-	-	-
9	200	-	-	-	-
10	100	-	-	-	-

Keterangan: - : Tidak terdapat daerah hambatan pertumbuhan bakteri

Berdasarkan tabel 2 diatas diperoleh hasil nilai hambat minimum (KHM) pada konsentrasi ekstrak buah kesemek dengan hambatan minimum pada konsentrasi 700 mg/ml dengan rata-rata diameter 6,3 mm dan hambatan terbesar pada konsentrasi 1000 mg/ml dengan rata-rata diameter hambat 8,7 mm yang dinilai dengan mengukur zona bening penghambatan pertumbuhan bakteri di sekitar kertas pencadangan. Gambar hasil uji efektivitas zona hambat dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Hasil uji efektivitas zona hambat bakteri

Hasilnya dapat diklasifikasikan menurut skala zona hambat tabel 3 dibawah ini:

Tabel 3. Klasifikasi Zona Hambat Berdasarkan Greenwood. (Greenwood,1995)

Rata-Rata Diameter Zona Hambat	Respon Hambatan Pertumbuhan
>20 mm	Kuat
16-20 mm	Sedang
11-15 mm	Lemah
<10 mm	Tidak ada/ Sangat lemah

Hasil pengukuran daya hambat pada konsentrasi ekstrak buah kesemek 700;800;900;1000 mg/ml menunjukkan adanya terjadi hambatan yang sangat lemah, sehingga tidak efektif sebagai antibakteri. Dari penelitian ini menunjukkan hasil efektivitas antibakteri ekstrak buah kesemek (*Diospyros Kaki*) terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. Terbentuknya zona hambat *Pseudomonas aeruginosa* pada masing masing konsentrasi ekstrak buah kesemek terjadi karena adanya kandungan zat-zat aktif dalam ekstrak buah kesemek seperti flavinoid, saponin, tanin, dan steroid/ triterpenoid.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Buah Kesemek (*Diospyros Kaki*) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, dapat disimpulkan bahwa ekstrak buah kesemek (*Diospyros kaki*) dengan pelarut etanol tidak dapat memberikan efek hambatan pertumbuhan bakteri *Pseudomonas* dan termasuk dalam golongan tidak ada hambatan pertumbuhan bakteri. Disarankan untuk peneliti selanjutnya untuk meneliti uji antioksidan ekstrak buah kesemek (*Diospyros kaki*) agar diketahui efektifitas senyawa antioksidan.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih penulis ucapkan kepada Rektor Universitas Prima Indonesia, Dr Chrismis Novalinda Ginting, M.Kes, dan Dekan Fakultas Kedokteran dr Linda Chiuman, M.K.M. Ucapan terima kasih juga kepada pembimbing utama dr. Yolanda Eliza Putri Lubis, M.K.M. atas ide dan motivasi dalam penelitian ini, kepada ketua dan anggota lab Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Sumatera Utara, yang ikut membantu dalam pelaksanaan penelitian.

REFERENCES

- [1] Jawetz, Melnick. et.al. (2012). Mikrobiologi Kedokteran, Alih Bahasa Aryandhito Widhi Nugroho et.al., editor edisi Bahasa Indonesia Adisti Adityaputri Edisi 25, EGC, Jakarta.
- [2] Biswal, I, Balvinder, S.A., Dimple, K & Neetushree. 2014. Incidence of multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burn patients and environment of teaching institution. *J. Of Clinical And Diagnostic Research*, 8, 5, 26-29
- [3] Rukmono P, Zuraida R. 2013 . Uji Kepekaan Antibiotik Terhadap *Pseudomonas Aeruginosa* Penyebab Sepsis Neonatus. 14(5): 332-333
- [4] Badan Pusat Statistik (BPS 2013) Perkebunan Indonesia diakses pada tanggal 4 November 2018
- [5] Ridwan, H, dan Iskandar. 2005. Kajian Sistem Usahatani Buah Kesemek (*Diosphyros kaki L.f*) dan Permasalahannya Di Kabupaten Garut – Jawa Barat. *Jurnal Pengkajian dan Pengembangan Teknologi Pertanian* Vol. 8, No.1.
- [6] Farnsworth, N.R. 1996. Biological and Phytochemical Screening of Plants. *Journal of Pharmaceutical Science*. 55(3) : 263
- [7] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Materi Medika Indonesia*. Edisi IV. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hal 323-325.
- [8] Harborne, J.B. 1987 *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Penerbit ITB. Bandung.
- [9] Harahap, H. I. 2012. Daya Hambat Ekstrak Etanol Bunga Rosella (*Hibiscus sabdarifa L.*) terhadap Pertumbuhan Jamur *Candida albicans* secara In Vitro. Skripsi. Banda Aceh: Universitas Syiah Kuala
- [10] Bordbar, S., Anwar, F., dan Saari, N. 2011. High Value Compounds and Bioactive From Sea Cucumber for Functional Foods-A Review. *Journal Marine Drugs*. 1660-3379 (9): 1772, 1779, 1790.