

UJI EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN BINAHONG (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) TERHADAP ISOLAT BAKTERI *Escherichia coli* JAJANAN CILOK SECARA IN VITRO DENGAN METODE DIFUSI

Fadel Abima¹, Meiskha Bahar², Aulia chairani³

¹Fakultas Kedokteran UPN Veteran Jakarta

Email : delabima27@gmail.com

²Departemen Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran UPN “Veteran” Jakarta

Email : meiskha27@gmail.com

³Departemen Farmakologi, Fakultas Kedokteran UPN “Veteran” Jakarta

ABSTRAK

Diare masih menjadi masalah besar bagi kesehatan dunia terutama pada negara berkembang. Makanan dan minuman yang terkontaminasi oleh mikroorganisme menjadi faktor resiko penyebab diare, termasuk bakteri *Escherichia coli* (*E. coli*). Salah satu upaya penanggulangan yang dapat dilakukan adalah pemanfaatan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). Penelitian ini menggunakan metode eksperimental murni. Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstrak daun binahong dengan konsentrasi 25%, 50%, dan 75% dengan metode pengujian difusi agar (*Kirby-Bauer*) menggunakan media *Mueller Hinton Agar* (MHA) dua lapis (*base layer* dan *seed layer*) untuk mengukur zona hambat di sekitar plat silinder. Jumlah populasi pada penelitian ini adalah 24 isolat *E. coli*. Jumlah ulangan tiap kelompok perlakuan dihitung menggunakan rumus Federer. Hasil penelitian diuji dengan uji *Kruskal-Wallis* dan menunjukkan bahwa terdapat perbedaan efektivitas ekstrak daun binahong terhadap isolat bakteri *E. coli* ($p < 0,05$) serta pada analisis *post hoc* menggunakan uji *Mann-Whitney* menunjukkan perbedaan yang bermakna antara setiap konsentrasi, yaitu 25%, 50%, dan 75%. ($p < 0,001$). Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna pada ekstrak daun binahong setiap konsentrasi.

Kata Kunci : Antibakteri; *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis; *Escherichia coli*; *in vitro*; Daun Binahong; Uji Efektivitas

ABSTRACT

Diarrhea is still one of the world's major health problem especially in developing country. Foods and beverages contaminated by microorganism become the risk factor of diarrhea, including *Escherichia coli* (*E. coli*). One of the curative effort that can be done is to utilise the secondary metabolite compounds contained in binahong leaf (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). This study used true experimental method. The sample was binahong leaf extract with concentration of 25%, 50, and 75% using diffusion method (*Kirby-Bauer*) on double-layered *Mueller Hinton Agar* (MHA) (*base layer* and *seed layer*) in order to measure the growth inhibition zone around the cylinder plate. The amount of population on this study was 24 isolations of *E. coli*. The repetition of each treatment group was counted by Federer formula. The result analyzed using *Kruskal-Wallis* test and showed that there was difference on binahong leaf extract effectiveness ($p < 0,05$), as well as on *post hoc* analysis using *Mann-Whitney* test showed that there was significant difference at concentration of 25%,50%, and 75%. ($p < 0,001$). This shows that there is a significant differences in the concentration of binahong leaf extract.

Keywords : Antibacteria; *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis; *Escherichia coli*; Binahong Leaf; Effectiveness Test; In Vitro

PENDAHULUAN

Diare masih menjadi masalah besar bagi kesehatan dunia terutama pada negara berkembang. Hal ini tercermin dari angka morbiditas dan mortalitas penyakit diare.¹ Menurut World Health Organization,² terdapat hampir 1,7 miliar kasus diare di dunia setiap tahunnya. Data dari Riskesdas tahun 2013 menyimpulkan bahwa insidensi diare di Indonesia mencapai 3,5%. Kejadian Luar Biasa (KLB) diare juga masih sering terjadi. Pada tahun 2010 sendiri terjadi KLB diare di 33 kecamatan dengan jumlah penderita 4.204 orang, termasuk diantaranya 73 orang meninggal dunia.³

Salah satu faktor resiko diarea adalah makanan dan minuman yang terkontaminasi oleh mikroorganisme penyebab diare. Kontaminasi yang terjadi pada bahan pangan tersebut menjadi media bagi suatu penyakit. Melalui makanan dan minuman, mikroorganisme patogen masuk ke dalam tubuh manusia untuk menginfeksi maupun mengeluarkan toksin yang menimbulkan penyakit (*food-borne diseases*).⁴ Faktor - faktor yang menyebabkan kontaminasi ini bervariasi, diantaranya adalah bahan makanan, suhu pemasakan, air untuk pengolahan makanan, dan jenis tempat pengelolaan makanan terutama pedagang kaki lima.⁵

Salah satu jenis bakteri yang sering mengkontaminasi bahan pangan adalah dari golongan Enterobacteriaceae, yaitu *Escherichia coli*. *E. coli* mempunyai beberapa antigen, yaitu antigen O (polisakarida), antigen K (kapsular), antigen H (flagella). Antigen O merupakan antigen somatik berada dibagian terluar dinding sel lipopolisakarida dan terdiri dari unit berulang polisakarida. Antibodi terhadap antigen O adalah IgM. Antigen K adalah antigen polisakarida yang terletak di kapsul.⁶

Saat ini, telah banyak laporan mengenai resisten *E. coli* terhadap antibiotik. Beberapa antibiotik yang telah dianggap resisten antara lain golongan β -laktam, fosfomisin, dan golongan

kuinolon.⁷ *Antimicrobial Resistance Global Report of Surveillance* tahun 2014 yang dilakukan oleh WHO menunjukkan resistensi *E. coli* terhadap antibiotik golongan sefalosporin generasi ke-3 dan golongan fluorokuinolon. Resistensi antibiotik yang terjadi telah mempersempit pilihan terapi.⁸ Hal ini memunculkan kebutuhan mendesak untuk membuat agen anti infeksi yang baru,

Hasil penelitian menunjukkan bahwa daun binahong mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, dan polifenol.⁹ Flavonoid telah menarik banyak perhatian karena studi secara *in vitro* dan *in vivo* menunjukkan potensinya sebagai antioksidan dan pembunuh radikal bebas. Selain itu, flavonoid juga berfungsi sebagai anti alergi, anti karsinogenik, anti hipertensi, anti artritis, dan efek anti mikroba.¹⁰ Alkaloid merupakan salah satu metabolit sekunder yang banyak ditemukan di alam dan mempunyai keaktifan fisiologis tertentu.¹¹ Senyawa saponin merupakan larutan berbuih yang diklasifikasikan berdasarkan struktur aglikon ke dalam triterpenoid dan steroid saponin.¹² Saponin terbukti mempunyai aktivitas sebagai antibakteri.¹³

METODE PENELITIAN

Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni. Peneliti akan melakukan uji makroskopik dan mikroskopik pada isolat bakteri, kemudian melakukan uji efektivitas antibakteri ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap isolat bakteri yang positif terdapat *Escherichia coli* secara *in vitro* dengan metode difusi.

Lokasi Penelitian

Penelitian dilakukan di laboratorium mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Pembangunan Nasional "Veteran" Jakarta

Sampel

Sampel pada penelitian ini adalah daun binahong yang diperoleh dari kebun tanaman obat Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik (BALITTRO), Bogor. Ekstrak daun binahong akan didapatkan melalui proses maserasi

Besar Sampel

Pada penelitian ini kelompok perlakuan berjumlah lima yaitu ekstrak daun binahong sebanyak tiga konsentrasi: 25%, 50%, dan 75% serta larutan kontrol yaitu kontrol negatif akuades steril dan kontrol positif antibiotik kloramfenikol.

Rumus Federer:

$$\begin{aligned}(n-1)(t-1) &\geq 15 \\ (n-1)(5-1) &\geq 15 \\ 4n-4 &\geq 15 \\ 4n &\geq 19 \\ n &\geq 4,75\end{aligned}$$

Bahan Penelitian

Ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis), Suspensi isolat bakteri *E. coli* yang telah dibiakkan dengan media MHA selama 24 jam.; Media Mueller Hinton Agar (MHA), Akuades steril; Antibiotik kloramfenikol suspensi dosis 125 mg/5 mL.; NaCl 0,9% steril; BaCl₂ 1,175% ; H₂SO₄ 1%.

Alat Penelitian

Rak tabung reaksi; Pengaduk, *Beaker glass* 50 mL (Pyrex), Cawan petri (Pyrex), Tabung reaksi diameter (Pyrex), Plat silinder, Jangka sorong digital (Digital Caliper), Pipet, Otoklaf (All American), Inkubator (Memmert), Mikroskop (Olympus).

Variabel Penelitian**Variabel Bebas**

Variabel bebas atau *independent variable* pada penelitian ini adalah ekstrak daun

binahong dengan konsentrasi 25%, 50%, dan 75%.

Variabel Terikat

Variabel terikat atau *dependent variable* pada penelitian ini adalah zona hambat *Escherichia coli*.

Variabel Kontrol

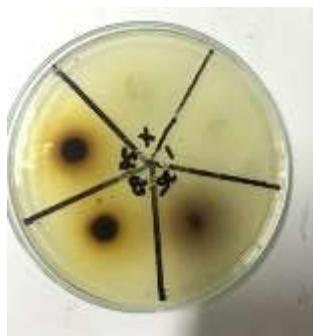
Variabel kontrol pada penelitian ini adalah akuades steril sebagai kontrol negatif dan antibiotik kloramfenikol sebagai kontrol positif.

Prosedur Penelitian

Membuat larutan ekstrak daun binahong dengan konsentrasi 25%, 50%, dan 75% serta menyiapkan larutan kontrol negatif dan kontrol positif. Setelah itu Membuat lapisan dasar MHA (Mueller Hinton Agar) dengan cara menuangkan 20 mL MHA pada masing-masing cawan petri, lalu dibiarkan memadat. Setelah memadat, dituangkan 10 mL campuran suspensi dan media perbenihan tersebut ke dalam masing-masing cawan petri. Setelah itu, pada permukaan dasar diletakkan lima plat silinder dengan jarak sedemikian rupa agar daerah pengamatan tidak saling bertumpuk. Masukkan ekstrak daun binahong konsentrasi 25%, 50%, dan 75% serta larutan kontrol negatif dan kontrol positif masing-masing sebanyak 0,5 mL ke dalam masing-masing plat silinder secara aseptik. Di bagian bawah cawan petri diberi tanda atau tulisan konsentrasi masing-masing atau larutan kontrol untuk memudahkan dalam mengidentifikasi hasil zona hambat masing-masing konsentrasi. Agar MHA dibungkus dengan *aluminium foil* sampai seluruh cawan tertutup kemudian dimasukkan ke dalam inkubator untuk diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Ukur diameter zona hambat yang terbentuk dengan menggunakan jangka sorong digital. Zona hambat diukur dari tepi ke tepi zona bening melewati plat silinder.

HASIL PENELITIAN

Dari hasil penelitian diperoleh bahwa, ekstrak binahong dapat menghambat pertumbuhan isolat bakteri *E.coli* dengan ditunjukkan adanya zona bening di sekitar plat silinder.



Gambar 1. Aktifitas daya hambat ekstrak binahong terhadap isolat bakteri *E. coli*

Tabel 1. Hasil pengukuran rata-rata diameter zona hambat isolat bakteri *E. Coli* setiap konsentrasi dengan lima kali pengulangan

Konsentrasi	Rata-rata Zona Hambat (mm)
25%	11,86
50%	13,75
75%	15,41
Kontrol (+)	16,86
Kontrol (-)	0

Tabel 1 menunjukkan bahwa ekstrak daun binahong pada konsentrasi 25%, 50% dan 75% menghasilkan zona hambat. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun binahong pada konsentrasi tersebut memiliki efektivitas dalam menghambat pertumbuhan isolat bakteri *E. coli*. Zona hambat juga terlihat pada kontrol positif sedangkan pada kontrol negatif tidak terbentuk zona hambat. Hal ini menunjukkan bahwa kontrol negatif tidak memiliki efektivitas untuk menghambat pertumbuhan isolat bakteri *E. coli*. Rata-rata diameter zona hambat isolat bakteri *E. coli* yang tertinggi adalah kontrol positif sebesar 16,86 mm, diikuti ekstrak daun binahong konsentrasi 75% sebesar 15,41 mm. Pada penelitian ini, peningkatan konsentrasi ekstrak berbanding lurus

dengan diameter zona hambat yang terbentuk.

Analisis Bivariat

Tabel 2. Uji *Kruskal-Wallis* kelompok perlakuan ekstrak daun binahong

Uji <i>Kruskal-Wallis</i>	Sig.
Ekstrak daun binahong	0.000

Tabel 2 menunjukkan hasil statistic uji *Kruskal-Wallis* yaitu ekstrak daun binahong memiliki signifikansi $p < 0,05$ yang berartiter dapat perbedaan efektivitas ekstrak daun binahong sebagai antibakteri terhadap isolat bakteri *E. coli*.

Analisis *Post Hoc*

Untuk mengetahui kelompok perlakuan yang memiliki perbedaan bermakna dilakukan analisis *post hoc*. Analisis *post hoc* untuk uji *Kruskal-Wallis* adalah uji *Mann-Whitney*.

Tabel 3. Uji analisis data *Post Hoc* diameter zona hambat isolat bakteri *E. Coli*

Konsentrasi ekstrak daun binahong	Konsentrasi ekstrak daun binahong	Sig.
	50%	0.000
	75%	0.000
25%	Kontrol (+)	0.000
	Kontrol (-)	0.000
	75%	0.000
50%	Kontrol (+)	0.000
	Kontrol (-)	0.000
75%	Kontrol (+)	0.000
	Kontrol (-)	0.000
Kontrol (+)	Kontrol (-)	0.000

Tabel 3 menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara tiap kelompok konsentrasi (25%, 50%, 75%) dan kelompok kontrol, dengan nilai signifikansi $p < 0,001$.

PEMBAHASAN

Hasil penelitian ini menunjukkan efektivitas ekstrak daun binahong dalam menghambat pertumbuhan isolat bakteri *E. coli*, dibuktikan dengan terbentuknya zona hambat di sekitar plat silinder. Analisis statistik yang digunakan untuk

menganalisis efektivitas ekstrak daun binahong sebagai antibakteri terhadap isolat bakteri *E. coli* menunjukkan signifikansi ($p < 0,05$) yang artinya terdapat perbedaan efektivitas ekstrak daun binahong sebagai antibakteri pada masing-masing konsentrasi terhadap isolat bakteri *E. coli*. Hal ini dikarenakan dengan semakin tingginya konsentrasi ekstrak, maka semakin banyak senyawa bioaktif yang terkandung di dalamnya. Senyawa bioaktif tersebut yang menyebabkan timbulnya zona hambat pada media kultur bakteri. Analisis *post hoc* yang dilakukan untuk membandingkan kelompok konsentrasi ekstrak daun binahong yang memiliki perbedaan bermakna terhadap zona hambat pada isolat bakteri *E. coli* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna pada ekstrak daun binahong setiap konsentrasi (25%, 50%, dan 75%) dan larutan kontrol (positif dan negatif) ($p < 0,001$).

Hasil uji fitokimia pada ekstrak yang digunakan pada penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak daun binahong mengandung senyawa alkaloid, saponin, tanin, fenolik, flavonoid, steroid, dan glikosida. Senyawa-senyawa bioaktif tersebut menyebabkan gangguan pada pertumbuhan *E. coli* yang merupakan bakteri Gram negatif yang dikenal memiliki struktur dinding sel yang kompleks sebagai pertahanan diri. Membran terluar sel pada *E. coli* mengandung molekul protein yang disebut porin. Ketika porin mengalami denaturasi, komponen senyawa bioaktif lain akan lebih mudah masuk ke dalam sel bakteri. Alkaloid akan merusak ikatan silang komponen penyusun peptidoglikan sehingga *E. coli* kehilangan integritas dinding sel. Aktivitas saponin dan kerusakan yang terjadi pada struktur dinding sel menyebabkan lisis osmotik dan kematian pada *E. coli*. Hasil aktivitas senyawa-senyawa inilah yang menyebabkan terbentuknya zona hambat di sekitar plat silinder yang berisikan ekstrak

daun binahong yang pada dasarnya mengandung senyawa bioaktif.

KESIMPULAN

- a. Ekstrak daun binahong memiliki efektivitas antibakteri terhadap isolat bakteri *E. Coli* pada konsentrasi 25%, 50%, dan 75% secara *in vitro*.
- b. Terdapat perbedaan efektivitas antibakteri ekstrak daun binahong terhadap isolat bakteri *E. Coli* pada konsentrasi 25%, 50%, dan 75% secara *in vitro*.
- c. Ekstrak daun binahong konsentrasi 75% adalah konsentrasi yang paling efektif sebagai antibakteri pada penelitian ini, diikuti konsentrasi 50% dan konsentrasi 25%.

DAFTAR PUSTAKA

1. Adisasmito W. Faktor risiko diare pada bayi dan balita di Indonesia; systematic review penelitian akademik bidang kesehatan masyarakat. Makara. 2007;11(1).
2. World Health Organization 2013, *Diarrhoeal disease*. 2013. Available from : <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs330/en/>. Accessed April 9, 2016.
3. Kementerian Kesehatan RI, *Situasi diare di Indonesia*, Jakarta : Kementerian Kesehatan RI; 2011.
4. Sari M. Uji bakteriologis dan resistensi antibiotik terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella sp* pada makanan gado-gado di kantin UIN Syarif Hidayatullah Jakarta. Available from <http://repository.uinjkt.ac.id/dspace/bitstream/123456789/29523/1/Mulia%20Sari-fkik.pdf>. Accessed April 9, 2015.
5. Djaja IM. Kontaminasi *Escherichia coli* pada makanan dari tiga jenis tempat pengelolaan makanan (TPM) di Jakarta Selatan 2003. Makara. 2008; 12(1)
6. Jawetz, Melnick, & Adelberg. In Brooks GF, Butel JS, Morse SA, editors. Mikrobiologi Kedokteran. Jakarta: EGC; 2008.

7. Noviana H. Pola kepekaan antibiotika *Escherichia coli* yang diisolasi dari berbagai spesimen klinis. Jakarta: Jurnal Kedokteran Trisakti. 2004; 23(4).
8. Martha D, Achmad S, Tejasari, *Escherichia coli* resisten terhadap seftriakson dan siprofloksasin : Prosiding Pendidikan Dokter Universitas Islam Bandung. Bandung; 2015
9. Rochani N. Uji aktivitas antijamur ekstrak daun binahong (*Anrederacordi folia* (Tenore) Steen) terhadap *Candida albicans* serta skrining fitokimianya; 2009. Available from <http://eprints.ums.ac.id/5267/1/K100050305.pdf>. Accessed Desember 25, 2015.
10. Araruna MKA, Santos KKA, da Costa JGM, Coutinho HDM, Boligon AA, Stefanello ST, Athayde ML, Saraiva RA, da Rocha JBT, Kerntopf MR, de Menezes IRA. Phenolic composition and in vitro activity of the Brazilian fruit tree *Caryocar coriaceum* Wittm; 2012. Eur J of Integrative Medicine. 2013; 5(2):178-183. Available from <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1876382012011250>. Accessed Maret 26, 2015.
11. Emilia I. Isolasi dan identifikasi senyawa alkaloid dari daun tumbuhan sengugu (*Clerodendron serratum* Spreng), Sainmatika. 2010; 7(2).
12. Soeksmanto A. Pengaruh ekstrak butanol buah tua mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap jaringan ginjal mencit (*Mus musculus*), Biodiversitas. 2006; 7(3).
13. Rosyidah K, Nurmuhaimina SA, Komari N, Astuti MD. Aktivitas antibakteri fraksi saponin dari kulit batang tumbuhan kasturi (*Mangifera casturi*). Journal of Chemistry. 2006. 1(2). Available from <http://ejournal.uinmalang.ac.id/index.php/Kimia/article/view/1674>. Accessed December 2, 2015.