

**TEST INHIBITION ETHANOL EXTRACT LEAVES AND TRUNK BITTER
(*Andrographis Paniculata*) ON *Salmonella thypi* BACTERIA GROWTH
USING DIFFUSION SINKS**

**UJI DAYA HAMBAT EKSTRAK ETANOL DAUN DAN BATANG SAMBILOTO
(*Andrographis paniculata*) PADA PERTUMBUHAN BAKTERI
Salmonella thypi DENGAN METODE DIFUSI SUMURAN**

Agustina Retnaningsih¹, Gusti Ayu Rai Saputri², Riska Pandala Putri¹
Email: aragustinare@gmail.com

ABSTRACT

Plant bitter (Andrographis paniculata Nees) is a plant that is commonly used by people to be used as a herbal medicine, because it is effective, efficient, safe and economical. The purpose of this study was to determine bitter bitter leaf and stem can inhibit bacterial growth thypi Salmonella causes typhoid fever, then tested the inhibition of the ethanol extract of bitter leaf and stem by using a diffusion method pitting. The sample used in this study is the plant Andrographis paniculata Nees Sambiloto kind in the form of bulbs. The test is performed three repetitions using each concentration of 20%, 40%, 60%, 80% and 100%. The results showed the absence of germ-free area or a clear zone around the hole wells which already contains stems and leaves bitter. This conclusion is the result of the ethanol extract of the leaves and stems Bitter (Andrographis paniculata Nees) had no antibacterial effect against Salmonella thypi.

Keywords: Leaf and Stem Sambiloto, Salmonella thypi, pitting method.

ABSTRAK

Tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata Nees*) merupakan tanaman yang biasa digunakan oleh masyarakat untuk dijadikan obat herbal, karena efektif, efisien, aman dan ekonomis. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui daun sambiloto dan batang sambiloto dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella thypi* penyebab demam tifoid, maka dilakukan uji daya hambat ekstrak etanol daun dan batang sambiloto dengan menggunakan metode difusi sumuran. Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah Tumbuhan Sambiloto jenis *Andrographis paniculata Nees* dalam bentuk simplisia. Uji dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan dengan menggunakan masing-masing konsentrasi sebesar 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%. Hasil penelitian memperlihatkan tidak adanya daerah bebas kuman atau zona jernih disekitar lubang sumuran yang telah mengandung batang dan daun sambiloto. Kesimpulan hasil ini ialah ekstrak etanol daun dan batang Sambiloto (*Andrographis paniculata Nees*) tidak mempunyai efek antibakteri terhadap *Salmonella thypi*.

Kata kunci: Daun dan Batang Sambiloto, Salmonella thypi, metode sumuran.

PENDAHULUAN

Penggunaan obat tradisional serta pengobatan tradisional telah lama dipraktekkan di seluruh dunia, baik di negara berkembang maupun negara maju. Menurut WHO, sekitar 65% dari penduduk negara maju dan 80% dari penduduk negara berkembang telah menggunakan obat herbal sebagai obat

tradisional. Dukungan WHO terhadap konsep *back to nature* dibuktikan dengan adanya rekomendasi untuk menggunakan obat tradisional termasuk herbal dalam pemeliharaan kesehatan masyarakat, dan mencegah penyakit terutama untuk penyakit kronis, penyakit degeneratif dan kanker ^[1].

1) Prodi DIII Analis Farmasi dan Makanan Universitas Malahayati
2) Prodi Farmasi Universitas Malahayati

Indonesia merupakan potensi pasar obat herbal dan fitofarmaka karna saat ini memiliki lebih kurang 30.000 spesies tumbuhan dan 940 diantaranya termasuk tumbuhan berkhasiat. Sampai saat ini ada 180 spesies yang telah dimanfaatkan oleh industri jamu tradisional^[1].

Salah satu upaya meningkatkan pemanfaatan bahan alam Indonesia yang terjamin mutu, khasiat dan keamanannya sehingga dapat dipertanggungjawabkan secara ilmiah dan dapat digunakan untuk meningkatkan kesehatan masyarakat, saat ini badan POM bekerja sama dengan beberapa perguruan tinggi sedang meneliti 9 tanaman obat unggulan nasional sampai ketahap uji klinis, salah satu diantaranya adalah sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees)^[1].

Tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) merupakan tanaman yang biasa digunakan oleh masyarakat untuk dijadikan obat herbal, karena efektif, efisien, aman dan ekonomis. Kandungan bahan aktif di dalam daun, batang, bunga dan akar tanaman sambiloto adalah *diterpenoide lactones* (*andrographolide*), *flavonoid*, saponin, alkaloid dan tanin. Dari berbagai penelitian, kandungan yang dipercaya dapat melawan penyakit adalah *Andrographolide*. *Andrographolide* adalah lakton diterpenoid yang diisolasi dan bersifat anti mikroba dengan cara merusak membran sel sehingga berakibat terjadinya kebocoran sel yang ditandai dengan keluarnya makro molekul. Manfaat dari tanaman sambiloto digunakan untuk mencegah pementukan radang (inflamasi), memperlancar air seni (Diuretika), penurun panas (antipiretik), obat sakit perut, penghilang rasa nyeri (analgesik), kencing manis, batuk (antihistamin), gigitan serangga, hipertensi, hepatitis, radang usus buntu, diare (antibakteri) dan terkena racun. Selain itu daun sambiloto juga dipercaya bisa digunakan sebagai obat penyakit tifus^[2,3].

Demam tifoid atau tifus adalah penyakit infeksi akut usus halus yang disebabkan oleh bakteri *Salmonella thypi*. Bakteri tersebut dapat hidup dalam tubuh manusia yang menyerang

saluran pencernaan. Demam tifoid termasuk penyakit menular. Penularan *Salmonella thypi* sebagian besar melalui makanan atau minuman yang tercemar oleh kuman yang berasal dari penderita atau pembawa kuman dan biasanya keluar bersama-sama dengan tinja^[4].

Pada penelitian Sawitti (2013) tentang daya hambat daun sambiloto terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* pada konsentrasi 100% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E-coli* sebesar 10,063 mm^[15].

Pada penelitian Wati (2015) tentang uji daya hambat rebusan batang sambiloto terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* dan *Escherichia coli* yaitu pada konsentrasi 100% dapat menghambat bakteri *shigella dysenteriae* sebesar 8,58 mm tetapi tidak dapat menghambat bakteri *Escherichia coli*^[5].

Penyakit ini menimbulkan gejala demam yang berlangsung lama, perasaan lemah, sakit kepala, nafsu maka berkurang, gangguan saluran cerna serta gangguan kesadaran yang disebabkan bakteri *Salmonella thypi* yang berkembang biak di dalam sel-sel darah putih di berbagai organ tubuh^[4].

Pada penelitian ini, penulis ingin mengetahui apakah daun dan batang tumbuhan sambiloto dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella thypi*. Untuk membuktikan adanya efek antibakteri dari tanaman sambiloto terhadap bakteri tersebut, maka perlu dilakukan uji antibakteri. Metode untuk uji antibakteri dibagi menjadi dua, yaitu metode difusi dan metode dilusi. Metode difusi dibagi menjadi metode disk, sumuran dan parit. Untuk metode dilusi dibagi menjadi *broth dilution* dan *agar dilution*. Hal yang membedakan antara dua macam metode tersebut adalah berdasarkan media yang digunakan. Biasanya untuk metode difusi menggunakan medium padat sedangkan untuk metode dilusi menggunakan medium cair^[6].

Kontrol positif yang digunakan pada penelitian ini adalah antibiotik Kloramfenikol disk. Disamping karena harga obat yang relatif murah, juga karena efektivitasnya terhadap bakteri *Salmonella thypi* penyebab demam tifoid^[7]

Metode yang digunakan penulis yaitu metode sumuran yaitu dengan cara membuat lubang pada media agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Jumlah dan letak lubang disesuaikan dengan tujuan penelitian, kemudian lubang dimasukkan ekstrak yang akan diuji. Setelah dilakukan inkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada atau tidaknya daerah hambatan di sekeliling lubang^[7].

Kelebihan untuk metode ini adalah lebih mudah dalam mengukur luas zona hambatan (zona jernih) yang terbentuk karena isolat beraktifitas tidak hanya dipermukaan atas media agar padat tetapi juga sampai ke bagian bawah^[5].

METODOLOGI PENELITIAN

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah Tumbuhan Sambiloto jenis *Andrographis paniculata* Nees dalam bentuk simplisia. Uji dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan dengan menggunakan masing-masing konsentrasi sebesar 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%.

Prosedur Penelitian

1. Preparasi Sampel Daun dan Batang Sambiloto

Daun dan batang sambiloto dicuci bersih dan ditiriskan. Kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan di udara dan terkena cahaya matahari secara langsung. Kemudian dicacah lalu dipisahkan daun dan batangnya

2. Ekstraksi Daun dan Batang Tanaman Sambiloto

Sebanyak 50 gram daun dan 50 gram batang tumbuhan sambiloto dimaserasi masing-masing dengan 150 ml pelarut etanol selama tiga hari dengan pergantian pelarut setiap harinya. Ekstrak yang diperoleh dari daun dan batang tersebut disaring dan dipisahkan dengan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 50°C. Larutan uji kemudian dibuat pengenceran serial dengan aquadest steril yaitu konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, 100% perlakuan sampel diulang dua kali (duplo).

3. Pengenceran Sampel

Untuk konsentrasi 20% dipipet larutan dengan konsentrasi 100% sebanyak 2ml kemudian ditambah aquadest steril sampai 10ml, ditutup dengan kapas. Untuk konsentrasi 40% dipipet larutan dengan konsentrasi 100% sebanyak 4ml kemudian ditambah aquadest steril sampai 10ml, ditutup dengan kapas. Untuk konsentrasi 60% dipipet larutan dengan konsentrasi 100% sebanyak 6ml kemudian ditambah aquadest steril sampai 10ml, ditutup dengan kapas. Untuk konsentrasi 80% dipipet larutan dengan konsentrasi 100% sebanyak 8ml kemudian ditambah aquadest steril sampai 10ml, ditutup dengan kapas. Untuk konsentrasi 100% dipipet larutan dengan konsentrasi 100% sebanyak 10ml kemudian ditambah aquadest steril sampai 10ml, ditutup dengan kapas.

4. Identifikasi dengan organoleptis

Pengujian ini meliputi pengujian morfologi yaitu: Warna dari simplisia sambiloto: berwarna hijau tua (bawah daun hijau muda). Bau dari simplisia sambiloto: Tidak berbau. Rasa dari simplisia sambiloto: Sangat pahit

5. Pembuatan Suspensi Bakteri

Bakteri diencerkan dengan mencampur ose suspensi bakteri *Salmonella thypi* ke dalam tabung reaksi yang telah berisi 9ml larutan NaCL 0,9% dan telah distandarisasi sesuai konsentrasi 0,5Mc Farland.

6. Cara Kerja Uji Daya Hambat pada Daun Sambiloto^[6].

Oleskan suspensi bakteri pada media *Muller Hinton Agar* (MHA) dengan kapas dan lidi steril. Buat lubang pada MHA yang telah diinokulasi bakteri. Masukkan stok konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% ekstrak daun menggunakan mikropipet ke dalam setiap lubang dimedia MHA. Diinkubasi ke dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24jam. Diamati zona bening yang terdapat pada sekitar lubang

sumuran. Dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali.

7. Cara Kerja Uji Daya Hambat pada Batang Sambiloto.

Oleskan suspensi bakteri pada media *Muller Hinton Agar* (MHA) dengan kapas dan lidi steril. Buat lubang pada MHA yang telah diinokulasi bakteri. Masukkan stok konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% ekstrak batang sambiloto menggunakan mikropipet ke dalam setiap lubang di media MHA. Diinkubasi ke dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24jam. Diamati zona bening yang terdapat pada sekitar lubang sumuran. Dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali.

8. Cara Analisa Data

Setelah dilakukan pengujian maka selanjutnya dilakukan:

Pengamatan ada atau tidaknya zona hambat (wilayah jernih) yang terbentuk di sekitar sumuran. Pengukuran diameter zona hambatan (wilayah jernih) untuk hasil yang positif terhadap zona hambatan (wilayah jernih) disekitar sumuran. Perhitungan rata-rata zona hambatan (wilayah jernih) untuk setiap perlakuan terhadap sampel yang diteliti

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAAN
Hasil

Berdasarkan penelitian uji daya hambat yang dilakukan pada ekstrak etanol dari daun dan batang sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% yang dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan terhadap bakteri *Salmonella thypi*, di dapatkan hasil berikut:

Tabel 1

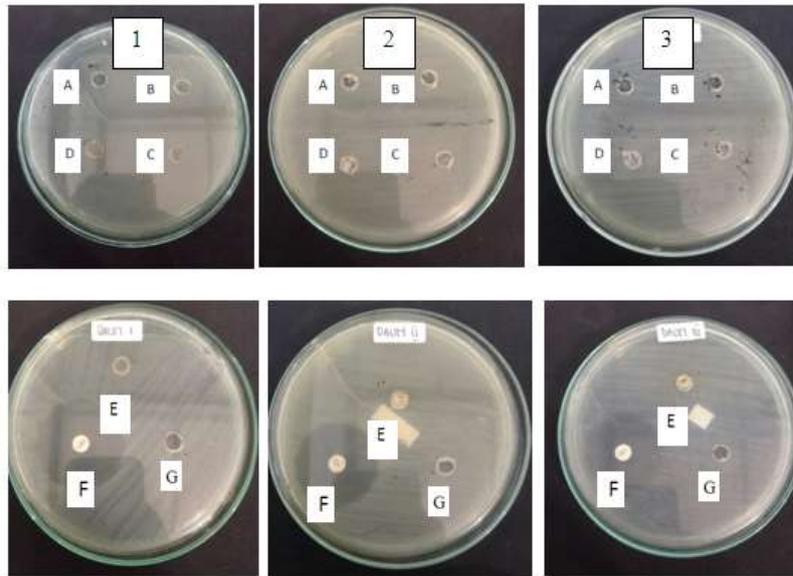
Hasil Pengamatan Diameter Zona Hambatan Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees), Kontrol Positif dan Kontrol Negatif Terhadap Bakteri *Salmonella Thypi*

Daun Sambiloto	Pengulangan Zona Hambatan (mm)		
	I	II	III
20%	0	0	0
40%	0	0	0
60%	0	0	0
80%	0	0	0
100%	0	0	0
Kontrol +	33 mm	30 mm	29 mm
Kontrol -	0	0	0

Hasil pengujian dapat dilihat pada Tabel 1. ekstrak etanol daun sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) terhadap bakteri *Salmonella thypi* menunjukkan bahwa konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% tidak terbentuk zona bening dan tidak memiliki daya hambat.

Kontrol positif yang digunakan yaitu antibiotik kloramfenikol yang terdapat zona bening dengan rata-rata sebesar 30,6 mm dan sebagai kontrol negatif digunakan aquadest steril tidak terbentuk zona hambatan

Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Dan Batang Sambiloto (*Andrographis paniculata*) Pada Pertumbuhan Bakteri *Salmonella thypi* Dengan Metode Difusi Sumuran



Gambar 1.

Hasil Pengujian Ekstrak Etanol Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees), Kontrol positif dan Negatif Terhadap Bakteri *Salmonella thypi*

- | | |
|---------------------------------------|-------------------------------------|
| Keterangan : I : Pengulangan Pertama | II : Pengulangan Kedua |
| III: Pengulangan Ketiga | |
| A : Ekstrak Konsetrasi 20% | B : Ekstrak Konsetrasi 40% |
| C : Ekstrak Konsetrasi 60% | D : Ekstrak Konsetrasi 80% |
| E : Ekstrak Konsetrasi 100% | F : Kontrol Positif (Kloramfenikol) |
| G : Kontrol Negatif (Aquadest steril) | |

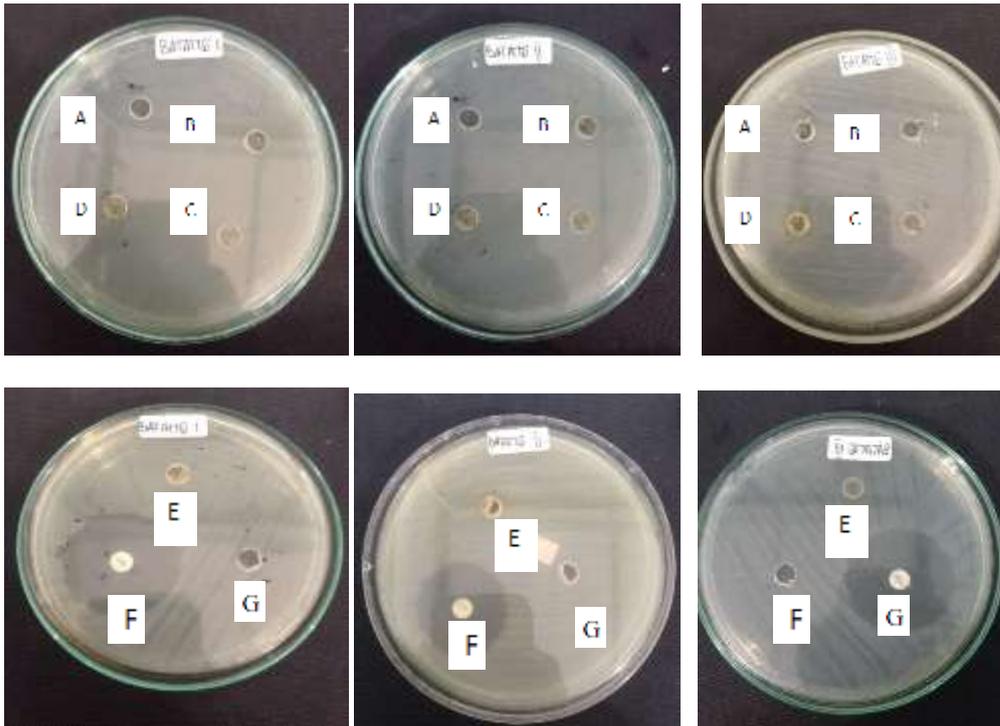
Tabel 2

Hasil Pengamatan Diameter Zona Hambatan Batang Sambiloto(*Andrographis paniculata* nees) , Kontrol Positif dan Kontrol Negatif Terhadap Bakteri *Salmonella Thypi*.

Batang Sambiloto	Pengulangan		
	I	II	III
20%	0	0	0
40%	0	0	0
60%	0	0	0
80%	0	0	0
100%	0	0	0
Kontrol +	33 mm	29 mm	30 mm
Kontrol -	0	0	0

Hasil pengujian dapat dilihat pada Tabel 2. ekstrak etanol batang sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) terhadap bakteri *Salmonella thypi* menunjukkan bahwa konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% tidak terbentuk zona bening dan tidak memiliki daya hambat.

Kontrol positif yang digunakan yaitu antibiotik kloramfenikol yang terdapat zona bening dengan rata-rata sebesar 30,6 mm dan sebagai kontrol negatif digunakan aquadest steril tidak terbentuk zona hambatan.



Gambar 2.
Hasil Pengujian Ekstrak Etanol Batang Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees),
Kontrol positif dan Negatif Terhadap Bakteri *Salmonella thypi*

PEMBAHASAN

Andrographolide adalah lakton diterpenoid yang diisolasi dengan cara merusak membran sel sehingga mikroba akan lisis atau terhambat pertumbuhannya. Selain *andrographolide*, sambiloto juga mengandung flavonoid, saponin, alkaloid.

Senyawa flavonoid merupakan salah satu senyawa kimia yang terkandung dalam sambiloto yang bersifat bakterisid. Mekanisme kerjanya dengan mendenaturasi protein sel dan merusak membran sitoplasma. Senyawa flavonoid dapat merusak membran sitoplasma yang dapat menyebabkan bocornya metabolit penting dan menginaktifkan sistem enzim bakteri. Kerusakan ini memungkinkan nukleotida dan asam amino merembes keluar dan mencegah masuknya bahan-bahan aktif ke dalam sel, keadaan ini dapat menyebabkan kematian bakteri [8].

Sedangkan senyawa saponin dapat merusak membran sitoplasma. Rusaknya membran sitoplasma dapat mengakibatkan sifat permeabilitas membran sel berkurang sehingga transport zat ke dalam sel dan keluar sel

menjadi tidak terkontrol. Zat yang berada di dalam sel seperti ion organik enzim, asam amino dan nutrisi dapat keluar dari sel. Apabila enzim-enzim keluar dari sel bersama dengan zat-zat seperti air dan nutrisi dapat menyebabkan metabolisme terhambat sehingga terjadi penurunan ATP yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan sel, selanjutnya pertumbuhan sel bakteri menjadi terhambat dan menyebabkan kematian sel [8].

Alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Mekanisme yang diduga adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh, terganggunya sintesis peptidoglikan sehingga pembentukan sel tidak sempurna karna tidak mengandung peptidoglikan dan dinding selnya hanya meliputi dinding selnya hanya meliputi membran sel [9].

Sementara menurut Ajizah [16] tanin diduga dapat mengkerutkan dinding sel sehingga mengganggu permeabilitas sel.

Pengamatan efektifitas suatu antimikroba selama ini biasanya dapat dilakukan dengan 2 metode, yaitu metode disk difusi dan metode serial dilusi. Pengamatan efektifitas antimikroba pada metode disk difusi dilakukan dengan melihat zona hambat (wilayah jernih) secara kasat mata, sedangkan pada pengamatan efektifitas antimikroba pada metode serial dilusi dilakukan dengan prosedur perhitungan koloni bakteri menggunakan alat *colony counter* atau *bacteria counter*. Metode serial dilusi memungkinkan diketahuinya jumlah koloni bakteri meskipun dengan metode disk difusi secara kasat mata tidak terlihat zona hambat (wilayah bening) terhadap populasi bakteri^[10].

Pada penelitian ini penulis menggunakan metode difusi sumuran karena metode ini pengukuran zona hambat yang terbentuk lebih mudah karena isolat beraktivitas tidak hanya di permukaan tetapi juga sampai ke bawah^[5]. Prinsipnya adalah membuat lubang pada permukaan agar *Muler Hinton Agar* (MHA). komposisi dari media *Muller Hinton Agar* yaitu *Beef extract* dan *Casein Hydrolysate* sebagai komponen untuk pertumbuhan bakteri, Pati sebagai sumber energi, dan agar sebagai bahan pematat dalam media. Media MHA padat yang telah diinokulasi dengan bakteri *Salmonella thypi* kemudian ekstrak sambiloto diteteskan pada lubang sumuran yang telah dibuat dengan jarak tertentu. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, diinkubasi pada suhu 37°C karena pada suhu tersebut bakteri dapat tumbuh dengan optimal. Penghambatan pertumbuhan mikroorganisme dikatakan positif jika terlihat adanya zona hambat (wilayah jernih) disekitar lubang sumuran^[6].

Proses pengekstrakan yang digunakan penulis adalah metode maserasi karena sebagian besar kandungan senyawa kimia di dalam tumbuhan sambiloto memiliki sifat yang tidak tahan terhadap pemanasan. Maserasi merupakan proses pengekstrakan simplisia yang diberi pelarut dengan beberapa kali pegadukan pada suhu kamar^[11].

Sebelum melakukan pengujian antibakteri pada ekstrak etanol daun dan batang sambiloto. Etanol digunakan

karena etanol merupakan pelarut yang dapat melarutkan senyawa polar dan non polar. Dilakukan proses maserasi selama tiga hari menggunakan pelarut etanol 96% yang setiap 24 jam diganti pelarutnya dan kemudian ditampung dalam wadah yang sudah disediakan. Setelah proses maserasi selesai, ekstrak yang sudah terkumpul menjadi satu selanjutnya dilakukan proses evaporasi dengan suhu 50°C yaitu suhu maksimal pemanasan untuk simplisia sambiloto, sehingga dihasilkan ekstrak etanol yang pekat dan dilanjutkan untuk dilakukan pengujian selanjutnya dengan tiga kali pengulangan, dibagi menjadi lima konsentrasi yaitu 20%, 40%, 60%, 80% dan 100%

Pada penelitian ini kontrol negatif yang digunakan adalah Aquadest steril. Sedangkan kontrol positif yang digunakan adalah antibiotik Kloramfenikol, karena kloramfenikol merupakan antibiotik yang bersifat spektrum luas yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif maupun Gram negatif. Mekanisme kerja antibiotik kloramfenikol yaitu dengan daya kerja menghambat sintesis protein, melekat pada subunit 50S dari ribosom. Obat ini mengganggu pengikatan asam amino baru pada rantai peptide yang sedang dibenak, sebagian besar karna kloramfenikol menghambat peptidil transferase^[12].

Pembuatan suspensi bakteri dilakukan dengan cara mengsuspendikan biakan bakteri *Salmonella thypi* dalam NaCl 0,9% karna larutan tersebut adalah larutan fisiologis yang ada diseluruh tubuh manusia. Kemudian kekeruhannya dibandingkan dengan standar Mc Farland 0,5. Penggunaan Mac farland adalah untuk menggantikan perhitungan bakteri satu-persatu dan untuk memperkirakan kepadatan sel yang akan digunakan pada prosedur pengujian antimikroba. Bakteri ditanam pada media *Muller Hinton Agar* (MHA) dengan cara mengoleskan suspensi bakteri menggunakan kapas dan lidi steril pada permukaan media padat, lalu biarkan beberapa menit agar suspensi meresap ke dalam media. Buat lubang pada media yang telah diinokulasi bakteri menggunakan *stainless steel* dengan ukuran 50mm, masukkan stok

konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% menggunakan mikropipet kedalam setiap lubang dimedia sedangkan kontrol positif dalam bentuk disk cakram ditempelkan pada permukaan media yang tidak dibuat lubang. Setelah itu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam karena pada suhu dan waktu tersebut dapat mengoptimalkan pertumbuhan bakteri *Salmonella thypi*.

Selain itu penulis membuat suspensi dengan cara mengencerkan bakteri dengan mencampur ose suspensi bakteri *Salmonella thypi* ke dalam tabung reaksi yang telah berisi larutan NaCl 0,9% dan distandarisasi dengan Mc farland 0,5 yang kemudian suspensi ini digunakan untuk melakukan uji daya hambat pada batang dan daun sambiloto sampai percobaan ketiga. Hal ini diduga menjadi penyebab tidak terbentuknya koloni disekitar sumuran yang diisi ekstrak daun dan batang sambiloto dengan berbagai variasi konsentrasi, mengingat fase pertumbuhan bakteri yang optimal adalah 2x24 jam [13].

Variabel lain yang mungkin berkontribusi terhadap ketidak-sesuaian hasil penelitian ini dengan penelitian terdahulu adalah perbedaan dalam proses pengeringan dan penyimpanan daun dan batang sambiloto, pada pengujian ini peneliti mengambil sampel daun dan batang yang sudah dalam keadaan kering yang disimpan dalam wadah besar (Karung) diduga simplisia sambiloto yang dibeli sudah terlalu lama disimpan oleh penjual mengingat masyarakat tidak terlalu banyak yang membeli simplisia tersebut, ini juga memungkinkan konsentrasi zat aktif yang berkhasiat sebagai antibakteri dalam sambiloto tidak optimal dan pada proses pengeringan peneliti tidak mengetahui secara langsung proses pengeringan yang dilakukan oleh penjual, diduga proses pengeringan menggunakan suhu tinggi. Selain itu konsentrasi optimal *Andrographolide* adalah pada saat tanaman sambiloto akan berbunga (umur 2-3 bulan) [14].

Tidak terlihatnya zona hambat (wilayah jernih) belum tentu membuktikan tidak adanya efek antimikroba dari ekstrak daun dan batang sambiloto. Bantuan pengujian efektifitas antimikroba ekstrak daun dan

batang sambiloto dengan metode serial dilusi mungkin dapat menjelaskan permasalahan ini, karna pada metode tersebut dapat diketahui ada tidaknya koloni bakteri meskipun secara kasat mata dengan metode difusi tidak terlihat zona hambat (wilayah jernih) terhadap populasi bakteri [10].

Kemudian jika dibandingkan dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Wati LS [5], hasil yang didapat berbeda dengan penulis, karena pemilihan bakteri. Bakteri yang digunakan oleh penulis menggunakan bakteri *Salmonella thypi* yang termasuk kedalam golongan bakteri gram negatif. Sedangkan penelitian yang dilakukan Wati adalah menggunakan bakteri *Shigella dysentriae* yang termasuk golongan bakteri gram positif dan *Escherichia coli* yang termasuk golongan bakteri gram negatif, hasil yang diperoleh pada bakteri *Shigella dysentriae* dengan konsentrasi 100% adalah 8,58 mm dan tidak dapat menghambat untuk bakteri *Escherichia coli*.

Bakteri gram positif memiliki dinding sel yang tersusun dari lapisan peptidoglikan (molekul yang terdiri dari asam amino dan gula) yang lebih tebal, sedangkan bakteri gram negatif memiliki dinding sel yang tersusun dari peptidoglikan yang tipis. Dalam hal ini peptidoglikan merupakan komponen utama dinding sel bakteri yang bersifat kaku dan bertanggung jawab untuk menjaga integritas sel serta menentukan bentuknya. Sehingga zat aktif yang diperoleh tidak bekerja dengan baik.

Kandungan bahan kimia antimikroba dalam ekstrak simplisia batang dan daun sambiloto dapat dipengaruhi beberapa hal antara lain lokasi tanaman, pemilihan bagian tanaman sambiloto (akar, batang, daun, bunga, buah) memiliki kandungan atau konsentrasi antimikroba yang tidak sama. Terdapat beberapa hal yang mungkin berkontribusi terhadap tidak dijumpainya sama sekali zona hambat oleh ekstrak etanol dari batang dan daun sambiloto, terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella thypi* pada *Muller Hinton Agar*, salah satunya dapat disebabkan oleh kandungan bahan kimia antimikroba dalam batang dan daun

sambiloto yang digunakan pada penelitian ini. Peneliti tidak melakukan *chross check* ulang bahwa daun dan batang sambiloto dari laboratorium pengekstrak setelah melalui proses maserasi dan evaporasi apakah masih mengandung senyawa yang bersifat antimikroba seperti yang diketahui selama ini. Diduga zat aktif yang tertarik dari hasil proses maserasi dan evaporasi ekstrak batang dan daun sambiloto hanya sedikit.

Kemungkinan utama adalah simplisia batang dan daun sambiloto yang diteliti tidak memiliki efek antibakteri terhadap *Salmonella thypi*. Sampel yang digunakan pada pengujian ini merupakan simplisia sambiloto yang siap pakai. Metode penyiapan batang dan daun sambiloto meliputi usia daun (daun dan batang muda/pucuk, daun dan batang setengah tua, atau daun dan batang yang sudah tua), teknik/proses pengeringan simplisia batang dan daun sambiloto (pengeringan menggunakan sinar matahari/ultraviolet, cara diangin-anginkan atau dengan menggunakan oven), serta derajat kekeringan batang dan daun sambiloto dapat berpengaruh terhadap kualitas dan kuantitas kandungan bahan kimia antimikroba yang terdapat di dalam batang dan daun sambiloto [10,15].

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan tentang uji daya hambat ekstrak etanol daun dan batang sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) pada pertumbuhan bakteri *Salmonella thypi* dengan metode difusi sumuran menyimpulkan bahwa ekstrak etanol daun dan batang sambiloto tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella thypi*.

SARAN

Setelah dilakukan penelitian tentang uji daya hambat ekstrak daun dan batang sambiloto (*Andrographis Paniculata*) pada pertumbuhan bakteri *Salmonella thypi* dengan metode difusi sumuran, maka disarankan bila akan dilakukan penelitian selanjutnya:

1. Untuk melakukan uji perbandingan dengan menggunakan bakteri lain.

2. Untuk lebih memperhatikan proses persiapan sampel sampai akan dilakukan pengujian.

DAFTAR PUSTAKA

1. Widyawati T, 2007, *Aspek Farmakologi Sambiloto (Andrographis Paniculata Nees)*, Universitas Sumatra Utara.
2. Lukistyowati. I, 2012, *Studi Efektifitas Sambiloto (Andrographis paniculata Nees) Untuk Mencegah Penyakit Edwardsielilosis Pada Ikan Patin (Pangius Hypopihalmus)*, Universitas Riau
3. Putri CM, 2011, *Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Sambiloto (Andrographis paniculata Nees) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Patogen*, Program Studi Pendidikan Biologi Fakultas Keguruan Dan Ilmu Pendidikan, Universitas Jember.
4. Puspodewi D, Darmawati S & Maharani M.T, 2015, *Daya Hambat Daun Asam Jawa (Tamarindus Indica) Terhadap Pertumbuhan Salmonella Thypi Penyebab Demam Tifoid*, Universitas Muhammadiyah, Semarang.
5. Wati L.S, 2015, *Uji Daya Hambat Air Rebusan Batang Sambiloto Terhadap Bakteri Shigella Dysenteriae Dan Eschericia Coli Dengan Metode Sumuran*, Univeritas Malahayati, Lampung.
6. Prayoga E, 2013, *Perbandingan Efek Ekstrak Daun Sirih Hijau (Piper Betle L) dengan Metode Difusi Disk dan Sumuran Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus Aureus*, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta.
7. Kusumayati, Agustini N.W.S, 2006, *Uji Aktifitas Senyawa Antibakteri dari Mikroalga (Porphyridium cruentum)*. Biodiversitas.
8. Wibowo, S. 2012. *Daya Hambat Biji Buah Mahoni (Swietenia mahagoni) terhadap Pertumbuhan Bakteri Salmonella thypi*. Skripsi. Unimus press, Semarang.s
9. Retnowati Y, Bialang N & Posangi NW, 2011. *Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus Pada Media Yang Diekspos Dengan Infus Daun Sambiloto (Andrographis*

- paniculata*). Jurusan Biologi Dan Pendidikan Kimia FMIPA Universitas Negeri Gorontalo.
10. Cendranta WO, 2012. *Daya Hambat Ekstrak Daun Sambiloto (Andrographis Paniculata) Terhadap Populasi Bakteri Pada Ulser Reccurent Aphthous Stomatitis*, Jurnal PDGI, 61 (1):20-3.
 11. Ditjen POM. 2000. *Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat*. Departemen kesehatan RI. Jakarta.
 12. Marhamah, 2010, *Evaluasi Penggunaan Antibiotik Pada Pasien Demam Tifoid Dewasa Di Instalasi Rawat Inap Rumah Sakit Umum Daerah Pambalah Batung Kabupaten Hulu Sungai Utara Kalimantan Selatan Tahun 2009*, Fakultas Farmasi Universitas Surakarta, Surakarta.
 13. Sari E.N, 2015, *Uji Daya Hambat Daun Sukun (Artocarpus Altilis Folium) Terhadap Jamur Candida Albicans dan Bakteri Baciussubtilis Dengan Metode Difusi*, Universitas Malahayati, Lampung.
 14. Adriyan, Netti, Masri. 2014. *Efek antibakteri dari rebusan daun sambiloto (andrographis paniculata nees) dan produk herbal sambiloto terhadap staphylococcus aureus*. Jurnal FK Universitas Andalas Padang
 15. Sawitti MY, Mahatmi H, Besung INK. 2013. *Daya Hambat Perasan Daun Sambiloto Terhadap Pertumbuhan Bakteri Escherichia coli*, Indonesia Medicus Veterinus. 2013:142-50.
 16. Ajizah, Aulia; thihana; mirhanuddin. 2007. *Potensi ekstrak kayu ulin (eusideroxylon zwageri) dalam menghambat pertumbuhan bakteri staphylococcus aureus secara invitro*. Skripsi (Diakses, 5 januari 2010).