UJI EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN URANG ARING (Eclipta alba L.Hassk) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI Escherichia coli SECARA In vitro

Ria Meilita Berlian¹, Hendri Busman², Zulhafis Mandala³

ABSTRAK

Di Indonesia tanaman urang aring (Eclipta alba L.Hassk) merupakan salah satu tanaman obat yang sering digunakan untuk mengobati berbagai macam penyakit. Beberapa kandungan yang telah diketahui didalam daun urang aring yaitu flavonoid, kuinon dan tanin. yang berfungsi sebagai zat antibakteri, salah termasuk bakteri Escherichia coli (E.coli). Tujuan Penelitian ini adalah untuk mengetahui efektifitas, diameter zona hambat, dan rata-rata diameter zona hambat dari penggunaan ekstrak etanol daun urang aring terhadap pertumbuhan E.coli secara In vitro.

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan metode difusi agar kertas cakram yang dilakukan 10 kali perlakuan, yaitu konsentrasi 10%, 20%, 30 %, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% dan 100% dengan tiga kali pengulangan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun urang aring memiliki efektivitas dalam menghambat pertumbuhan E.coli, diameter zona hambat menunjukkan seiring dengan kenaikan konsentrasi maka hambatan semakin meningkat, dan rata-rata zona hambat terbesar ditunjukkan pada konsentrasi 100% yaitu sebesar 20 mm dengan respon hambatan pertumbuhan kuat. Analisis data dengan uji One-Way ANOVA didapatkan P.value (sig) = 0,00 yang lebih kecil dari a < 0,05. Hal ini memiliki makna bahwa ada perbedaan yang nyata dari diameter zona hambat yang terbentuk pada masing-masing konsentrasi ekstrak etanol daun urang aring dalam menghambat pertumbuhan *E.coli* secara *In vitro*.

Kata kunci: Daun urang aring, Antibakteri, Escherichia coli.

Pendahuluan Latar Belakang

Sebagaimana diketahui bahwa mikro-organisme adalah organisme yang berukuran mikroskopis sehingga tidak dapat dilihat dengan mata telanjang. Mikro-organisme dapat hidup di dalam tanah, di lingkungan akuatik, atmosfer (udara) makanan, dan karena beberapa hal mikro-organisme tersebut dapat masuk secara alami ke dalam tubuh manusia,

- 1. Fakultas Kedokteran Universitas Malahayati
- 2. Fakultas Kedokteran Universitas Malahayati
- 3. Fakultas Kedokteran Universitas Malahayati

tinggal menetap dalam tubuh manusia atau hanya bertempat tinggal sementara. Mikroorganisme ini dapat menguntungkan inangnya tetapi dalam kondisi tertentu dapat juga menimbulkan penyakit. Bakteri menyebabkan penyakit tergantung pada patogenitasnya. Dengan kriteria bakteri di kelompokkan menjadi tiga, yaitu agen penyebab penyakit, patogen oportunistik, dan non patogen [1].

Escherichia coli (E.coli) merupakan patogen oportunistik, bakteri ini banyak ditemukan didalam usus besar manusia sebagai flora normal, namun berkemampuan sebagai patogen ketika mekanisme pertahanan inang sehingga jumlah bakteri diperlemah didalam saluran pencernaan meningkat atau berada di luar usus [1,2]. dihubungkan dengan tipe penyakit usus (diare) pada manusia, diare pada bayi, traveler's diarrhea, atau diare yang akut maupun kronis.

Pengobatan utama infeksi yang disebabkan oleh adalah bakteri antibiotik. Namun pada perkembangannya, banyak bakteri yang resistensi mengalami terhadap antibiotik. Hal ini terjadi karena ternyata bakteri lama kelamaan memiliki kemampuan mengubah struktur enzim atau membran bakteri sehingga dapat bertahan terhadap antibiotik menyerangnya (resisten) [3].

Meskipun tidak diketahui secara rinci, tetapi pendekatan secara farmakolgi melalui beberapa penelitian tentang obat tradisional yang sudah banyak dilakukan, baik oleh kalangan maupun akademis, instansi swasta pemerintah menghasilkan untuk informasi dari kegunaan tumbuhan obat tersebut. diketahui secara umum kegunaan tumbuhan obat sebenarnya disebabkan oleh kandungan kimia yang dimilikinya. Namun dibalik kenyataan tersebut ada kecenderungan masyarakat moderen sekarang mulai tertarik pada obat tradisonal, alasannya karena obat

tradisional aman digunakan, juga khasiat beberapa jenis obat tradisional tidak kalah

dibandingkan dengan obat-obat modern [4].

Tanaman urang aring (*Eclipta alba* L.Hassk) adalah salah satu tanaman obat tradisional yang sering digunakan oleh masyarakat untuk mengobati berbagai macam penyakit seperti diare, sakit gigi (gusi bengkak), muntah darah, berak darah, hepatitis, perdarahan rahim, kurang gizi dan keputihan serta ubanan [5].

Telah dilakukan pemeriksaan senyawa fenolik herba urang aring L.Hassk., Compositae) (Eclipta alba dalam abu ditemukan kalium, natrium dan magnesium. Dari ekstrak etanol 95% telah diisolasi secara kromatografi kertas preparatif terdapat dua flavonoid yaitu apigenin dan apigenin-7-0glukosida serta tiga asam fenolat yaitu p-hidroksibenzoat, asam asam kumarat dan asam klorogenat [6].

Lydia (1991) telah melakukan penelitian antibakteri ekstrak etanol daun urang aring (Eclipta alba L.Hassk) menghambat aktivitas dapat dan pertumbuhan bakteri *Escherichia* dan Streptococcus aureus [7], dan hasil penapisan fitokimia simplisia uji secara kualitatif yang telah diteliti Sukandar, EY, dkk (2006) menujukkan bahwa ekstak etanol daun urang aring mengandung golongan senyawa seperti flavonoid, kuinon, tanin (galat dan katekalat), dan streroid/triterpenoid [8].

Berdasarkan uraian di atas, maka dapat dirumuskan masalah pada penelitian ini adalah apakah penggunaan ekstrak daun urang aring (*Eclipta alba* L.Hassk) dengan pelarut etanol 95% memiliki efektifitas dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* secara *In vitro*?

Metode Penelitian

Merupakan penelitian eksperimental laboratorium (*true*

experimental-post test only) dengan metode difusi agar menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), karena kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol dianggap Homogen [9]. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi, UPTD Balai Laboratorium Kesehatan Provinsi Lampung. Waktu penelitian Februari s/d Maret 2013.

Bahan

Daun urang aring segar 200 gram, etanol 95% 1 liter, aquadest steril, biakan bakteri *Escherichia coli,* media Muller Hinton Agar (MHA) steril, dan NaCl 0,9%.

Alat

Autoklaf, inkubator, rotaevaporator, timbangan, gelas ukur, erlenmeyer, tabung reaksi dan rak, mikropipet, corong, batang pengaduk, kain kasa steril, cawan petri diameter 10 cm, lidi kapas steril, jarum ose, pinset, kertas cakram diameter 6 mm, jangka sorong digital, dan kamera.

Prosedur Penelitian Sterilisasi alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian dibersihkan kemudian dikeringkan, setelah itu dibungkus dengan kertas pembungkus, dan dimasukkan dalam autoklaf dengan suhu 160 °C, 1 atm, selama 1 jam [10].

Pembuatan larutan uji

- Daun urang aring segar sebanyak 200 gr dicuci kemudian ditumbuk.
- b. Setelah itu di maserasi dengan merendam daun dalam pelarut etanol 95% 1 Liter dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur kamar selama 1 x 24 jam [11].
- c. Hasil ekstraksi disaring kemudian filtrat dari hasil penyaringan di evaporasi

- dengan menggunakan rotaevaporator, maka diperoleh larutan uji dengan konsentrasi 100%.
- d. Ekstrak pekat diencerkan dengan aquadest steril dan dimasukkan dalam tabung sesuai dengan kosentrasinya yaitu antara lain 0% (kontrol), 10%. 20%, 30 %, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, dan 100%. Pembuatan konsentrasi ekstrak etanol daun urang aring didapatkan dengan rumus [12]

Ket : V1 = Volume larutan uji

K1= Konsentrasi yang digunakan untuk pengenceran (100%)

V2= Volume aquadest (3ml)

K2= Konsentrasi yang akan dibuat

Pembuatan media

Muller Hinton Agar dehydrate Merck dilarutkan dalam 1 L aquadest, dipanaskan sampai larut sempurna. Kemudian disterilisasi diautoklaf 121°C 1 atm selama 15 menit, lalu dituang ke dalam cawan petri steril masing-masing 25 ml dan dibiarkan pada suhu kamar sampai menjadi agar.

Pembuatan bakteri uji

- a. Bakteri ditumbuhkan pada agar miring dalam tabung reaksi, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.
- b. Bakteri yang telah ditumbuhkan diambil dengan steril ose dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi NaCI 0,9% yang yang dilarutkan dengan aguadest 100 ml, kemudian disterilkan dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C tekanan 1 atm, sampai didapatkan kekeruhan yang disesuaikan dengan standar kekeruhan Mc Farland 0,5 untuk mendapatkan bakteri sebanyak 10⁸ cfu/ml.

Uji pendahuluan

Pada media MHA, diusapkan suspensi bakteri E.coli dengan menggunakan lidi kapas steril. Kertas cakram yang telah direndam selama ±15 menit didalam ekstrak etanol daun urang dengan konsentrasi 100% sebagai pendahuluan diletakkan lempeng agar dengan jarak antar kertas cakram ± 5 cm. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Prosedur dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan.

Hasil perhitungan pengulangan diperoleh dengan menggunakan rumus federer³³:

$$(n-1)(k-1) \ge 15$$

Ket : n = Banyaknya pengulangank = Banyaknya perlakuan

Diukur zona hambat (wilayah jernih) yang terbentuk di sekitar kertas cakram dapat diamati dengan membaca hasilnya. Apabila hasil positif maka akan terbentuk zona hambat (wilayah jernih) di sekitar kertas cakram. Sedangkan jika hasil negatif maka tidak akan terbentuk zona hambat (wilayah jernih) di sekitar kertas cakram [13].

Parameter penelitian

Parameter yang diamati sebagai berikut .

- Zona Hambat (wilayah jernih) yang terbentuk
- 2. Diameter zona hambat.
- 3. Rata-rata diameter zona hambat.

Hasil Dan Pembahasan

Data penelitian yang diperoleh berupa hasil pengukuran diameter zona hambatan ekstrak etanol daun urang aring terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan masa inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dengan menggunakan kertas cakram berdiameter 6 mm. Hasil lengkap dapat dilihat padat tabel 1.

Tabel 1. Zona hambat petumbuhan E.coli akibat pemberian ekstrak daun urang aring

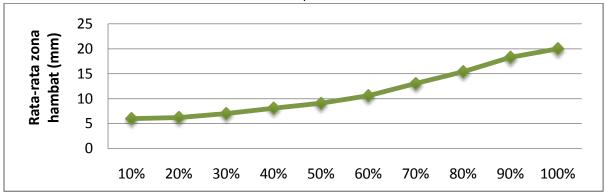
Perlakuan	Pengulang	an	Mean	
(Konsentrasi)	ı	П	111	(Rata-rata)
10%	6,00	6,03	6,01	6,0133
20%	6,27	6,24	6,25	6,2533
30%	7,05	7,00	7,01	7,0200
40%	8,12	8,10	8,13	8,1167
50%	9,09	9,10	9,08	9,0900
60%	10,60	10,63	10,61	10,6133
70%	13,00	13,10	13,05	13,0500
80%	15,41	15,45	15,43	15,4300
90%	18,32	18,30	18,31	18,3100
100%	20,00	20,02	20,05	20,0233

Setelah diamati pada tabel 1 konsentrasi perlakuan yang menyebabkan rata-rata diameter zona hambat paling baik adalah pada konsentrasi 100% yaitu sebesar 20 mm, sedangkan konsentrasi ekstrak etanol daun urang aring yang menunjukkan pengaruh nyata paling rendah terhadap rata- rata diameter zona hambat yaitu pada konsentrasi 10% yaitu sebesar 6,01 mm.

Semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol daun urang aring (*Eclipta*

alba L.Hassk) maka semakin besar zona hambatan pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* yang terbentuk pada media uji. Seperti yang terlihat pada gambar 1 dibawah ini.

Gambar 1. Rata-rata diameter zona hambat pertumbuhan E.coli.



Kemudian data dari pengukuran diameter zona hambat dalam berbagai konsentrasi tersebut diuji dengan menggunakan aplikasi IBM SPSS Statistics 20, test *One-Way ANOVA* dengan tingkat kemaknaan *P. value* (Sig) < 0,05. Hasilnya seperti yang terlihat pada tabel 2 dibawah ini.

Tabel 2. Test *One-Way ANOVA* diameter zona hambat (mm)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups Within Groups Total	697,490 ,011 697,501	9 20 29	77,499 ,001	144407,89 8	,000

Berdasarkan P.value yang tercantum pada kolom Sig. dipatkan a = 0,000 dimana 0,000 < 0,05, dengan demikian terdapat

perbedaan rata-rata antara kelompok.

Pembahasan

Setelah masa inkubasi selama 24 jam, larutan ekstrak etanol daun urang aring akan berdifusi keluar untuk menghambat pertumbuhan bakteri pada media uji yaitu MHA yang ditunjukkan dengan adanya zona hambat yang terbentuk disekeliling kertas cakram berupa wilayah jernih.

Menurut penelitian Sukandar, EY, dkk (2006) dengan penapisan fitokimia simplisia uji secara kualitatif menunjukkan bahwa ekstrak daun urang aring mengandung beberapa senyawa seperti flavonoid, kuinon, tanin (galat dan katekalat), dan streroid/triterpenoid, pada penelitian ini zat antimikroba yang berperan dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji yaitu flavonoid, tanin, dan kuinon.

Dari hasil penelitian didapatkan bahwa pada konsentrasi 10% - 50% tidak terbentuk atau terbentuk zona hambat yang kecil di sekitar kertas cakram, artinya pada konsentrasi tersebut kadar zat antimikrobial yang terkandung dalam larutan uji rendah, sehingga tidak mampu merusak membran serta dinding sel *E.coli* dan metabolisme bakteri tetap aktif.

Sedangkan mulai dari konsentrasi 60%, 70%, 80, 90% sampai 100% terlihat adanya zona hambatan yang semakin meningkat seiring peningkatan konsentrasi. Hal ini disebabkan karena zat antimikrobial dari ekstrak daun urang aring (*Eclipta alba* L.Hassk) pada konsentrasi tersebut telah mampu mengganggu pertumbuhan bakteri

E.coli, artinya zat antimikrobial dari ekstrak daun urang aring pada konsentrasi yang semakin meningkat tersebut mampu merusak membran dan dinding sel bakteri E.coli sehingga metabolisme bakteri terganggu akhirnya bakteri akan mengalami lisis yang ditandai dengan terlihat nyata zona hambat (wilayah jernih) disekitar kertas cakram. Dapat disimpulkan klasifikasi yang dilihat dari besarnya rata-rata diameter zona hambat yang terbentuk menurut Ahn dkk [14] pada tabel 3.

Tabel 3. Klasifikasi respon hambatan dari ekstrak etanol daun urang aring terhadap pertumbuhan bakteri *E.coli* Menurut Ahn.dkk.

Konsentrasi	Rata-rata diameter zona hambat	Respon hambatan pertumbuhan
10%	6,01	Tidak ada
20%	6,25	Tidak ada
30%	7,02	Tidak ada
40%	8,12	Tidak ada
50%	9,09	Tidak ada
60%	10,61	Lemah
70%	13,05	Lemah
80%	15,43	Sedang
90%	18,31	Sedang
100%	20,02	Kuat

Menurut Jumain, St. Rohani, dan Tahir Ahmad (2007),sebenarnya ekstrak etanol daun urang aring (Eclipta alba L.Hassk) pada konsentrasi 50% sudah dapat menghambat aktivitas dan pertumbuhan bakteri dengan rata-rata zona hambat 18,3 mm [15], namun pada penelitian ini pada konsentrasi 50% zona hambat yang terbentuk tidak respon hambatan memiliki pertumbuhan, yaitu sebesar 9,09 mm.

Ada beberapa faktor yang mampu mempengaruhi kemampuan suatu antimikroba dalam menghasilkan ukuran diameter zona hambat. Beberapa faktor yang mempengaruhinya antara lain konsentrasi mikroba, ketebalan agar, suhu saat inkubasi, waktu inkubasi, nilai pH dari medium dan beberapa faktor lainnya [14]. Secara keseluruhan faktor-faktor tersebut dapat dikontrol saat prosedur pengujian. Namun ada pula beberapa faktor yang tidak dapat dikontrol atau diubah seperti keragaman bibit, tempat tumbuh, iklim, kondisi waktu panen, serta proses pasca panen yang meliputi tahap pengeringan dan penyimpanan [16].

Faktor-faktor tersebut tentunya berpengaruh terhadap penelitian penulis. Karena faktor-faktor tersebut akan mempengaruhi produk daun urang aring yang digunakan dalam penelitian.

Kesimpulan

- Ekstrak etanol daun urang aring (Eclipta alba L.Hassk) memiliki efektivitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri Escherichia coli secara In vitro.
 - a. Zona hambat yang terbentuk memperlihatkan terjadinya peningkatan diameter hambatan seiring dengan kenaikan konsentrasi yang diuji, yaitu 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% dan 100%.
 - b. Rata-rata diameter zona hambat dari konsentrasi ekstrak bertingkat etanol daun urang aring (Eclipta alba L.Hassk) didapatkan perbedaan yang bermakna menghambat dalam pertumbuhan E.coli.

Daftar Pustaka

- Aguskrisno. Patogenisitas Mikroorganisme. Diunggah 7 Januari 2012. (http://aguskrisnoblog.wordpress .com/2012/01/07/patogenisitasmikroorganisme-2/) [diunduh Desember 2012]
- Jawetz E., J. L. Melnick, E. A. Adelberg, G. F. Brooks, J. S. Butel, L. N. Ornston. 1995.
 Mikrobiologi Kedokteran, edisi 20.
 University of California, San Francisco.
- 3. Syahrurachman, Agus, et. al. 1994. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi Revisi*. Binarupa Aksara. Jakarta. Hal: 163-165.
- Prapanza I, dan LA Marianto. 2003. Khasiat dan manfaat sambiloto: Raja Pahit Penakluk Penyakit. Agromedia Pustaka. Jakarta.
- 5. Arisandi, Andriani. 2006. *Khasiat Tanaman Obat*. Jakarta: Pustaka Buku Murah. Hal: 250-253.

- 6. Manurung, RM. 1986. Pemeriksaan senyawa fenolik herba urang aring (Eclipta alba (L). Hassk compositae). Skripsi Sarjana Jurusan Farmasi ITB. Bandung. (http://bahanalam.fa.itb.ac.id) [diunduh November 2012].
- 7. Lidya, B. 1991. Penapisan Aktivitas Antibakteri dan Antifungi Ekstrak Etanol Tanaman Suku Compositae, Skripsi S-1. Jurusan Farmasi ITB. Bandung.
- 8. Sukandar, EY, Suwendar, Ernita Ekawati. 2006. Aktivitas ekstrak etanol herba seledri (*Apium graveolens*) dan daun urang aring (*Eclipta prostata* (L.)L.) terhadap *Pityrosporum ovale.* Majalah Farmasi Indonesia, Sekolah Farmasi ITB. 17 (1), 7 12.
- 9. Notoatmodjo, Soekidjo. 2010. *Metode Penelitian Kesehatan*. Rineka Cipta. Jakarta.
- Waluyo, Lud. 2008. Teknik Metode Dasar dalam Mikrobiologi. UPT Penerbit Universitas Muhammadiyah. Malang.
- 11. Syamsuni H.A. 2006. *Ilmu Resep.* EGC. Jakarta.
- 12. Sukmariah, M. dan Kamiati, A. 1990. *Kimia Kedokteran* Edisi 2, Binarupa Aksara, Jakarta.
- 13. Lay, B.W. 1994. *Analisa Mikroba Di Laboratorium*. Raja Grafindo
 Persada. Jakarta.
- Greenwood. D., Finch,R., Davey.P., Wilcox.M. 2003.
 Antibiotics Sensitivity Test. In Antimicrobial and Chemoterapy.
 The revisi edition Oxford University Press. United Kingdom.
- 15. Jumain, St.Rohani, dan Tahir ahmad. 2007. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun (Eclipta Alba) Urang Arina Terhadap Bakteri Penyebab Karies Gigi. Majalah Farmasi dan Farmakologi. Makassar. Vol.11, No.3.

16. Ahmad, F.H. dan Kusumawati, L. 2001. Penetapan Parameter Standar Ekstrak Etanol Temulawak Sebagai Bahan Baku Kapsul, Jurnal Penelitian Medika Eksakta, 2(2): 144-161.