

DAYA HAMBAT FRAKSINASI EKSTRAK SEMBUNG DELAN (*Sphaeranthus indicus L.*) TERHADAP BAKTERI *Eschericia coli* DAN *Staphylococcus aureus*

IDA BAGUS CEDE DARMA YASA
Fakultas MIPA Jurusan Biologi Universitas Udayana

INTISARI

Penelitian yang berjudul "Aktivitas Daya Hambat Fraksinasi Ekstrak Sembung Delan (*Sphaeranthus indicus L.*) terhadap Bakteri *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus* bertujuan untuk mendapatkan fraksi aktif yang berfungsi sebagai agen bakterisida. Metode absorbent dish untuk menentukan daya hambat fraksinasi ekstrak daun Sembung Delan terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa, ekstrak kasar *S. indicus L.* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus* pada media Muller- Hinton. Hal ini ditunjukkan dengan terbentuknya zone hambatan disekitar disc yang diberikan ekstrak tumbuhan dengan konsentrasi 10.000 ppm, 20.000 ppm, 30.000 ppm, 40.000 ppm dan 50.000 ppm masing-masing dengan diameter sebesar 10 mm, 11 mm, 12 mm, 13 mm dan 16 mm terhadap bakteri *S. aureus* dan masing-masing dengan diameter sebesar 12 mm, 13 mm, 15 mm, 17 mm dan 19 mm terhadap bakteri *E. coli*. Dari 17 fraksi yang diperoleh melalui fraksinasi, fraksi yang menunjukkan hasil positif menghambat kedua bakteri uji adalah fraksi VHI (dilarutkan dengan etil asetat: hexan) dengan nilai Rf : 0,9 ; 0,8 ; 0,7 ; 0,68 ; dan 0,62, fraksi IX (dilarutkan dengan etil asetat: hexan) dengan nilai Rf : 0,98 ; 0,94 dan 0,82, fraksi XV (dilarutkan dengan etil asetat 100%) dengan nilai Rf: 0,03; 0,23; 0,35 dan fraksi XVI (dilarutkan dengan etil asetat 100%) dengan nilai Rf: 0,03; 0,14; 0,17; 0,21, yang efektif menghambat pertumbuhan bakteri uji.

Kata kunci: Fraksinasi, Sembung Delan, Eschericia coli dan Staphylococcus aureus.

ABSTRACT

A research entitled "Inhibitid activity of plant fractination extract of Sembung Delan (*Sphaeranthus indicus L.*) to *Eschericia coli* and *Staphylococcus aureus* bacterial was carried aut to find the active of plant extract that responsible for bactericidal agent. This research used absorbance disc method to determine inhibitid fractionation extrate of Sembung Delan to growth of *Eschericia coli* and *Staphylococcus aureus* bacterial.

Results of this study showed that the crude extract of Sembung Delan inhibited the growth of *Eschericia coli* and *Staphylococcus aureus* on Muller- Hinton medium, indicated by the formation of inhibition zone around the disc loaded with plant extract at concentration of 10,000 ppm, 20,000 ppm, 30,000 ppm, 40,000 ppm, and 50,000 ppm, with diamtre of 10mm, 11mm, 12mm, 13mm and 16 mm respectively to *S. aureus*, for *E. coli* crude extract at concentration of 10,000 ppm, 20,000 ppm, 30,000 ppm, 40,000 ppm, and 50,000 ppm using diametre each of 12 mm, 13 mm, 15 mm, 17 mm and 19 mm respectively . From 17 fractions obtained from fractionation, fraction No. Vm (eluted with ethyl acetate:hexan) with Rf value of 0,9 ; 0,8 ; 0,7 ; 0,68 ; and 0,62, fraction No. DC (eluted with etihil acetate : hexan) with Rf value of : 0,98, ; 0,94 ; and 0,82, fraction No. XV (eluted with ethyl acetate 100%) Rf value of : 0.03; 0.23; 0.35 and fraction No. XVI (eluted with ethyl acetate 100%) with Rf value of: 0.03; 0.14; 0.17; 0.21, effectivity inhibited the growth of test bacterial.

Key word: Fractination, Sembung Delan, Eschericia coli and Staphylococcus aureus.

PENDAHULUAN

Pengetahuan tentang obat tradisional yang banyak digunakan oleh nenek moyang pada jaman dahulu, saat ini sedang banyak digali. Hal ini tidak terlepas dari banyaknya kendala yang ditimbulkan oleh penggunaan obat sintesis, seperti harganya yang mahal dan terjadinya resistensi bila penggunaannya kurang tepat, dapat menimbulkan efek samping yang tidak dikehendaki.

Masyarakat kini lebih cenderung untuk menggunakan obat dari bahan alami dan melakukan pengobatan secara tradisional seperti yang dilakukan pada jaman dahulu. Bali sebagai daerah tropis, yang banyak memiliki berbagai macam tumbuhan, sejak dulu banyak memanfaatkan tumbuhan sebagai obat. Resep obat-obatan tradisional ini umumnya tertuang dalam bentuk tulisan. Di Bali naskah semacam ini dituangkan dalam usaha seperti *Usada Tuwa, Usada Tuju, Usada Putih, Usada*

Sen, dan Usada Cewil. Kitab-kitab inipun masih berbahasa Bali Kuno, hanya sebagian aksaranya yang telah dilatinkan (Susantio, 2006). Begitu pula banyak tumbuh-tumbuhan yang secara turun temurun telah banyak dimanfaatkan sebagai obat belum diungkapkan dalam kajian ilmiah. Untuk itu perlu dilakukan pembuktian secara mendalam mengenai kemampuan tumbuhan-tumbuhan tersebut dalam mengatasi penyakit khususnya mikroorganisme penyebab infeksi.

Tumbuhan Sembung Delan (*Spaeranthus indicus L*) merupakan salah satu tumbuhan gulma yang hidup pada areal persawahan dataran rendah. Tumbuhan ini termasuk dalam famili *compositae* dengan ciri-ciri: herba bercabang-cabang, tingginya 0,2- 0,9 m, batang berpenampang bulat, daun tersebar memanjang hingga membulat dengan permukaan penuh dengan rambut kelenjar, karangan bunga bentuk bulat memanjang dan pada saat mekar berwarna ungu dengan aroma kuat (Steenis, 1987). Robinson (1995) menyatakan Sembung Delan mengandung senyawa ester asetilat, hidrokarbon asetilina dan alkohol. Darmayasa (2002) melaporkan ekstrak kasar daun Sembung Delan secara *In-vitro* telah dibuktikan mempunyai kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas solanacearum* penyebab penyakit layu pada tanaman tomat. Lebih lanjut juga dilaporkan bahwa ekstrak kasar daun tumbuhan tersebut juga memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan *Phytophthora infestans* penyebab layu pada tanaman kentang (Darmayasa, 2006)

Ada beberapa bakteri yang dapat menyebabkan infeksi pada manusia, diantaranya adalah bakteri *E. coli* dan *S. aureus* yang dapat menyebabkan penyakit diare. Secara alami kedua bakteri ini merupakan bakteri flora normal dalam tubuh, tetapi bila populasinya melebihi dan keberadaannya diluar habitat aslinya, kedua bakteri tersebut dapat menimbulkan penyakit (Jawetz, *at al.* 1982). Berdasarkan hal ini maka perlu dilakukan penelitian tentang kemampuan daun Sembung Delan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli* secara *In-Vitro*.

MATERI DAN METODE

Metode Ekstraksi

Daun Sembung Delan yang telah dikering anginkan, diblender sampai menjadi bentuk tepung, kemudian ditimbang sebanyak 200 g, lalu dimaserasi tiga kali dengan 2 L metanol. Maserasi pertama dilakukan selama 72 jam pada suhu kamar dan maserasi berikutnya selama 24 jam. Filtrat yang diperoleh melalui penyaringan. Lccrac otaa I ipoi ito p ida sufau 40°C untuk memisahkan solven dan ekstrak.

Bioasai Ekstrak Kasar Sembung Delan terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Bakteri *Staphylococcus aureus* dan bakteri *Escherichia coli* yang digunakan sebagai mikroba uji diperoleh dari

stok kultur Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Universitas Udayana. Pembuatan masing-masing suspensi bakteri dilakukan dengan menyiapkan tabung reaksi yang telah berisi media Nutrient Broth steril kemudian diinokulasikan dengan 1 loop biakan bakteri uji, dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Jumlah sel per ml biakan dalam tabung reaksi dapat diketahui dengan menggunakan metode "Platting" dengan seri pengenceran (Tortora *at al.* 2001).

Potensi daya hambat ekstrak kasar Sembung Delan dilakukan dengan menggunakan metode "Absorbance Disc" (Hewitt and Vincent 1989). Kegiatan ini dilaksanakan dengan menyiapkan cawan Petri steril yang diisi 1 ml suspensi bakteri uji, lalu dituangkan sebanyak 10 ml media Muller - Hinton dalam kondisi cair (suhu 40°C - 45°C), kemudian digoyang-goyang secara simultan yang bertujuan agar pertumbuhan bakteri terjadi secara merata. "Absorbance disc" yang telah didedahkan 20 ul ekstrak kasar dengan masing-masing konsentrasi 0 ppm, 1000 ppm, 2000 ppm, 5000 ppm, 10.000 ppm, 20.000 ppm, 30.000 ppm, 40.000 ppm, dan 50.000 ppm. diletakkan tepat di tengah cawan Petri selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 - 48 jam. Aktivitas daya hambatnya ditentukan berdasarkan diameter zone hambatan yang terbentuk di sekitar absorbance disc. Besar kecilnya diameter zone hambatan menunjukkan tinggi rendahnya kemampuan ekstrak tanaman dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

Metode Fraksinasi

Ekstrak kasar yang telah menunjukkan hasil positif kemudian difraksinasi menggunakan Kolom Kromatografi dan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Sebanyak 11,47 g ekstrak kasar dilarutkan dalam 60 ml metanol : acetone (1 :1) ditambahkan 10 gr silica gel (Wako gel c - 300, particle size 40 - 75µm), lalu dievaporasi. Ekstrak kasar yang telah berbentuk kristal dimasukkan ke dalam kolom yang panjangnya mencapai 60 cm dengan diameter 3 cm, dimana kolom tersebut sebelumnya diisi 90 g silica gel dalam 300 ml n - hexane. Untuk mendapatkan fraksi dari ekstrak kasar, selanjutnya kolom dilewati eluent dengan tingkat kepolaran yang berbeda.

Setiap eluent yang melewati kolom, ditampung sebanyak 50 ml. Tampung I dianggap sebagai fraksi satu dan hasil tumpukan berikutnya sebagai fraksi kedua dan seterusnya. Berat masing-masing fraksi diperoleh setelah hasil tumpukan I dan seterusnya dievaporasi. Selanjutnya masing-masing fraksi dilarutkan dalam 2 ml metanol acetone lalu di KLT dengan plate KLT berukuran 10 cm x 10 cm (Keisel Gel 60 F245). Fraksi yang menunjukkan tanda pemisahan senyawa yang sama pada plate KLT, kemudian digabung menjadi satu fraksi.

Masing-masing fraksi yang diperoleh diuji efektivitasnya dengan menggunakan metode yang sama dengan penentuan potensi aktivitas antibakteri ekstrak kasar yaitu dengan metode "Absorbance Disc".

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak daun Sembung Delan ternyata mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* maupun bakteri *E. coli* secara *in-vitro*, yang ditunjukkan dengan terbentuknya zone hambatan di sekitar absorbansi disc. Pada Table 1 terlihat zone hambatan mulai terbentuk pada perlakuan dengan konsentrasi ekstrak 10.000 ppm, diameter ini cenderung mengalami penambahan seiring dengan peningkatan konsentrasi yang didedahkan. Diameter zone hambatan paling besar pada konsentrasi yang sama diperoleh pada uji bakteri *E. coli* yaitu sebesar 19 mm sedangkan paling kecil didapat pada pengujian bakteri *S. aureus*. Adanya perbedaan struktur dan sifat bakteri uji mungkin merupakan faktor penentu terjadinya perbedaan diameter zone hambatan pada kedua bakteri uji. Pada konsentrasi 1000 ppm sampai 5000 ppm belum membentuk zone hambatan.

Hal serupa juga terjadi pada kontrol. Tidak terbentuknya zone hambatan pada konsentrasi tersebut mungkin disebabkan oleh kecilnya konsentrasi sehingga belum mampu menyebabkan terjadinya perubahan sistem fisiologis sel bakteri uji, dengan demikian bakteri tersebut mampu untuk tumbuh. Menurut Mustika dan Racmat (1993) konsentrasi suatu bahan yang berfungsi sebagai antimikroba merupakan salah satu faktor penentu besar kecil kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan mikroba yang diuji. Terbentuknya zone hambatan di sekitar absorbansi disc menunjukkan bahwa di dalam ekstrak daun Sembung Delan terdapat senyawa yang bersifat sebagai antibakteri terhadap *S. aureus* dan *E. coli*.

Sesuai dengan penelitian sebelumnya tumbuhan ini juga mempunyai kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas solanacearum* dan jamur *Phytophthora infestans* yang merupakan patogen pada tanaman (Darmayasa, 20-02 dan 2006) Menurut Soebandrio (1995) bahan aktif yang bersifat sebagai antibakteri dapat mengganggu proses fisiologis dan menghalangi terbentuknya komponen sel bakteri seperti: sintesis dinding sel, membran sitoplasma, sintesis protein dan sintesis asam nukleat. Kneblock *et.al.* (1989) menyatakan bahan aktif yang memiliki sifat daya larut lebih tinggi di dalam air, akan lebih mudah menembus lapisan fosfolipid membran sel sehingga lebih cepat mengganggu fungsi fisiologis bakteri dan pada akhirnya sel akan mengalami kematian. Pada penelitian ini belum dapat dipastikan mekanisme terjadinya penghambatan pertumbuhan bakteri uji oleh bahan aktif yang terkandung dalam sembung delan.

Berdasarkan hasil fraksinasi ekstrak daun Sembung Delan dengan menggunakan metode kolom kromatografi dan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) diperoleh 17 fraksi. Fraksi VDI, IX, XV dan fraksi XVI merupakan fraksi yang efektif menghambat, baik pertumbuhan bakteri *S. aureus* maupun terhadap bakteri *E. coli*. Jika dilihat dari diameter zone hambatan yang terbentuk dari hasil pengujian kedua bakteri tersebut, pengujian terhadap

Tabel 1. Rata-rata diameter zone hambatan (mm) yang dihasilkan oleh perlakuan ekstrak Sembung Delan terhadap *S. aureus* dan *E. coli* pada media Muller - Hinton. Agar

Konsentrasi Ekstrak Sembung Delan (ppm)	Rata-rata Diameter Zone Hambatan (mm)	
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
0	0	0
1000	0	0
2000	0	0
5000	0	0
10000	10	12
20000	11	13
30000	12	15
40000	13	17
50000	16	19

Tabel 2. Rata-rata diameter zone hambatan (mm) ekstrak hasil fraksinasi terhadap *S. Aureus* dan *E. coli* pada media Muller-Hinton Agar.

Fraksi Ekstrak Sembung Delan	Rata-rata Diameter Zone Hambatan (mm)	
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
I	0	0
II	0	0
III	0	0
IV	0	0
V	0	0
VI	0	0
VII	0	0
VIII	18	14
IX	16	10
X	0	0
XI	0	0
XII	0	0
XIII	0	0
XIV	0	0
XV	10	7
XVI	10	7
XVII	0	0

bakteri *S. aureus* terbentuk diameternya lebih besar daripada terhadap *E. coli*. Perbandingan diameter zone hambatan hasil fraksinasi terhadap kedua bakteri uji disajikan selengkapnya pada tabel 2. Hasil pemisahan dengan KLT dengan pengembang hexan : etil asetat terlihat fraksi aktif (yang memiliki daya hambat terhadap bakteri uji) yaitu fraksi VTn (dilarutkan dengan etil asetat : hexan) membentuk 5 spot dengan nilai Rf masing-masing 0,9; 0,8; 0,7; 0,68 dan 0,62., fraksi IX (dilarutkan dengan etil asetat:hexan) membentuk 3 spot dengan nilai Rf : 0,98; 0,94 dan 0,82, fraksi XV (etil asetat 100%) membentuk 3 spot dengan nilai Rf berturut-rurut sebesar 0,03; 0,23 dan 0,35, dan fraksi XVI (etil asetat 100%) membentuk 4 spot dengan masing-masing nilai Rf sebesar 0,03; 0,14; 0,17, dan 0,21. Sifat bakterisida hasil fraksinasi yang menunjukkan hasil positif menjadi hilang setelah dilakukan pemisahan lebih lanjut, hal ini berarti bahwa kandungan bahan aktif ekstrak daun Sembung Delan bersifat sinergis artinya daya bakterisidanya akan ada bila senyawa tersebut berada bersama-sama.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan tersebut dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut:

1. Ekstrak kasar daun Sembung Delan yang diuji secara *in vitro* pada media Muller- Hinton (MH) mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus* . pada konsentrasi 10.000 ppm, 20.000 ppm, 30.000 ppm, 40.000 ppm dan 50.000 ppm.
2. Di peroleh 17 fraksi dari ekstrak kasar Sembung Delan, diantaranya yang aktif menghambat pertumbuhan bakteri uji adalah fraksi Vm, DC, XV dan XVI dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. pada media Muller- Hinton (MH).

DAFTAR PUSTAKA

- Darmayasa, I.E.G. 2002. Aktivitas Bakterisida Ekstrak Sembung Delan (*Sphaeranthus indicus* L.) Terhadap *Pseudomonas solanacearum* EF. Smith. Penyebab Penyakit Layu pada Tanaman Tomat. Program Studi Bioteknologi Pertanian Program Pasca Sarjana Universitas Udayana.
- Darmayasa, I.E.G. 2006. Aktivitas fungisida Ekstrak Sembung Delan (*Sphaeranthus indicus* L.) Terhadap *Phytophthora infestans* Penyebab Penyakit Hawar Daun Pada Tanaman Kentang. Jurusan Biologi F MIPA Universitas Udayana.
- Hewitt, W. and S. Vincent. 1989. Microbiological Assay. Academic Press, INC. San Diego New York.
- Jawetz, E., J.L. Melnick and E.A. Adelberg. 1982. Medical Microbiology. 15 th edition. LANGE. Medical Publications. Los Altos, California.
- Knobloch, K., A. Pauli, B. Iberl, H. Weigland dan N. Weis. 1989. Antibacterial and Antifungal Properties of Essential Oil Components. J. Essential Oil Res.
- Mustika, I. dan A.S. Rachmat. 1993. Efikasi Beberapa Macam Produk Cengkeh dan Tanaman Lain terhadap Nematoda Lada. Proceeding Seminar Hasil Penelitian Dalam Rangka Pemanfaatan Pestisida. Bogor.
- Nordland, D.A., L.J. Richard and W. L. Joe. 1981. Smiochemicals Their Role in Pest Control. A Wiley-Interscience Publication New York p.
- Robinson, T. 1995. Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi Edisi Ke enam. Penerjemah: C. Herison. Penerbit ITB. Bandung
- Soebandrio, WK. A.. 1995. Kemoterapi Antimikroba. Aswk/Antibiotik/FMIPA. Universitas Indonesia, hal.
- Steenis, V.C.G.G.J.. 1987. Flora . Penerjemah Moeso Surjowinoto, dkk. PT. Pradnya Paramita. Jakarta
- Susantio, D. 2006. Obat Tradisional Paling Awal. Available at: <http://www.Sinarharapan.Co.id/ipetek/ke-sehatan>.
- Tortora, G.J., Berdell R.F. and Christine L. C. 2001. Microbiology. Benjamin Cummings. United States of America.