

**POTENSI ANTIMIKROBA EKSTRAK SAMBILOTO
(*ANDROGRAPHIS PANICULATA* NESS.) DAN KUNYIT (*CURCUMA LONGA* LINN.) SERTA KOMBINASINYA TERHADAP BAKTERI *ESCHERICHIA COLI* IN VITRO**

Luh Putu Happy Sandha¹, Agung Wiwiek Indrayani², Ni Made Adi Tarini³

¹Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Udayana

²Bagian Farmakologi, Fakultas Kedokteran Universitas Udayana

³Bagian Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Universitas Udayana

ABSTRAK

Penggunaan tanaman tradisional sebagai obat telah banyak dikembangkan sebagai solusi pada kasus resistensi antibiotik. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktivitas antimikroba dari ekstrak sambiloto, kunyit serta kombinasinya terhadap pertumbuhan bakteri gram negatif *Escherichia coli*. Penelitian ini adalah penelitian eksperimental murni yang dilakukan secara *in-vitro*. Ekstrak sampel kunyit dan sambiloto diperoleh dari proses ekstraksi menggunakan methanol 95%. Aktivitas antimikroba dinilai dari diameter zona hambat yang terbentuk pada bakteri *E. coli* dengan metode difusi cakram. Hasil penelitian ini ditemukan bahwa kombinasi ekstrak sambiloto dan kunyit memiliki potensi antimikroba yang bermakna terhadap bakteri *E. coli* dengan zona hambat sebesar 27,33 mm ($p=0,002$) pada konsentrasi 15 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Ekstrak kunyit tunggal memiliki potensi antimikroba terhadap *E. coli* pada konsentrasi 15 $\mu\text{g}/\text{ml}$ dengan zona hambat 28,67 mm ($p=0,004$). Ekstrak sambiloto tunggal tidak memiliki potensi antimikroba untuk *E. coli*. Simpulan penelitian ini yaitu penggunaan kunyit sebagai antimikroba tunggal memiliki potensi yang lebih baik dibandingkan kombinasi ekstrak, sehingga tidak perlu dikombinasikan dengan sambiloto.

Kata Kunci: *sambiloto, kunyit, Escherichia coli, antimikroba, zona hambat*

ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF SAMBILOTO (*ANDROGRAPHIS PANICULATA* NESS) AND TURMERIC (*CURCUMA LONGA* LINN) AND ITS COMBINATION EXTRACT ON *ESCHERICHIA COLI* BACTERIA

ABSTRACT

Today the use of traditional plants have been developed as a solution of antibiotic resistency. This study aims to determine antimicrobial activity from turmeric, sambiloto extract and its combination agaisnt gram negative bacteria *Escherichia coli*. This study is an *in-vitro* experimental study. Samples of sambiloto and turmeric obtained from the extraction process using methanol 95%. The antimicrobial activity is assesed by measuring the diameter of inhibition zone towards *E. coli*. The antimicrobial activity was determined by disc diffusion method. Result of this study found the combination of sambiloto and turmeric extracts had significant antimicrobial potency for *E. coli* with inhibition zone of 27,33 mm ($p=0,002$) and in concentration of 15 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Single turmeric extract has antimicrobial potency for *E. coli* with inhibition zone of 28,67 mm ($p=0,004$) in concentration of 15 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Single sambiloto extract does not have antimicrobial potency for *E. coli*. The conclusion of this study showed the utilization of turmeric as a single antimicrobial agent have a greater potency than combine itself with sambiloto therefore it does not need to be combined.

Keywords: *sambiloto, turmeric, Escherichia coli, antimicrobial activity, inhibition zone*

PENDAHULUAN

Resistensi bakteri terhadap antibiotik telah menjadi suatu masalah yang kian meningkat dalam dunia kedokteran. Resistensi bakteri menimbulkan pengobatan yang berlangsung lama dan tidak efektif sehingga mengancam kehidupan manusia. Salah satu bakteri yang dilaporkan resisten adalah bakteri gram negatif *Escherichia coli*.^{1,2}

Pada studi resistensi antibiotik di Indonesia tahun 2005 menunjukkan 43% *E. coli* telah resisten dengan berbagai jenis antibiotik. Beberapa diantaranya adalah ampicilin (34%), kotrimoksazol (29%) dan khloramfenikol (25%).¹

Sampai saat ini, pemecahan terhadap masalah tersebut telah diusahakan, diantaranya dengan menggunakan antibiotik sesuai indikasi, mengembangkan vaksin dan dengan melakukan penelitian untuk menemukan jenis antibiotik baru yang lebih efektif.

Penggunaan tanaman herbal sebagai solusi resistensi antibiotik telah dilakukan secara global. Hal ini karena masyarakat menganut konsep kembali ke alam. Kunyit (*Curcuma longa*) merupakan salah satu tanaman herbal anggota famili Zingiberaceae yang dipercaya secara turun temurun memiliki khasiat obat.¹ Kunyit memiliki efek

antioksidan, dan memiliki aktivitas cycloooksigenase pada platelet manusia serta memiliki efek antimikroba, antiinflamasi dan antikanker.^{3,4} Selain kunyit juga dikenal tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata*). Ekstraknya dilaporkan memiliki aktivitas antihepatotoksik, antibiotik, antimalaria, disamping manfaatnya sebagai agen imunostimulan.^{5,6,7}

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi antimikroba ekstrak sambiloto tunggal, ekstrak kunyit tunggal serta kombinasinya pada bakteri *E. coli* secara *in-vitro*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni dengan model *post test only control group design* yang dilakukan secara *in-vitro*. Studi ini dilakukan untuk menentukan daya hambat kombinasi ekstrak *A. paniculata* dan *C. longa* dan kombinasi keduanya terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli*.

Pembuatan ekstrak dilakukan di Laboratorium Biopestisida Fakultas Pertanian Universitas Udayana. Pembiakan bakteri serta pengujian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana pada bulan Juni tahun 2013. Data yang diperoleh kemudian diolah menggunakan analisis statistik

ANOVA (*Analysis of Variance*) menggunakan Software SPSS 16.0.

Pembuatan Ekstrak

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan tahapan pengeringan bahan menggunakan angin, maserasi bertingkat dengan n-heksana kemudian methanol 95%, inkubasi selama 72 jam, pemisahan dan penyaringan dengan kain kasa 3 lapis serta kertas whatman No. 2, dan evaporasi filtrat dengan rotari evaporator untuk mendapatkan ekstrak kasar (*crude extract*). Konsentrasi ekstrak dibuat dengan melarutkan masing-masing ekstrak kasar serta kombinasi keduanya dengan methanol sehingga didapat konsentrasi 15 µg/ml, 25 µg/ml, 50 µg/ml, 75 µg/ml dan 100 µg/ml.

Pembiakan Bakteri

Media untuk membiakkan bakteri adalah Mueller Hinton (MH) agar dengan aquabides. Sebanyak 5 ml dari darah kambing ditambahkan pada larutan dan disterilisasi untuk mencegah terjadinya kontaminasi. Bakteri *E. coli* telah diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana dan Rumah Sakit Sanglah direjuvenasi pada media agar MH dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Selanjutnya bakteri diidentifikasi berdasarkan standar

prosedur pada laboratorium mikrobiologi untuk memastikan bakteri tersebut adalah *E. coli*. Biakan bakteri murni yang telah berumur 24 jam dilarutkan dalam saline (NaCl 0,9%) sehingga akan diperoleh suspensi yang setara dengan skala kekeruhan Mc Farland 0,5.

Pengujian

Pengujian daya hambat menggunakan metode agar difusi cakram mengikuti metode Kirby-Bauer. Swab kapas yang telah steril dicelupkan ke dalam suspensi bakteri lalu diusapkan pada lempeng agar MH secara merata ke seluruh permukaan agar. Biakan bakteri dibiarkan mengering selama 4-5 menit. Kemudian cakram diletakkan pada lempeng agar menggunakan pinset. Dalam 1 plat agar yang berdiameter 10 cm akan diletakkan sebanyak 7 cakram yang telah direndam dengan masing-masing perlakuan (ekstrak 15 µg/ml, 25 µg/ml, 50 µg/ml,

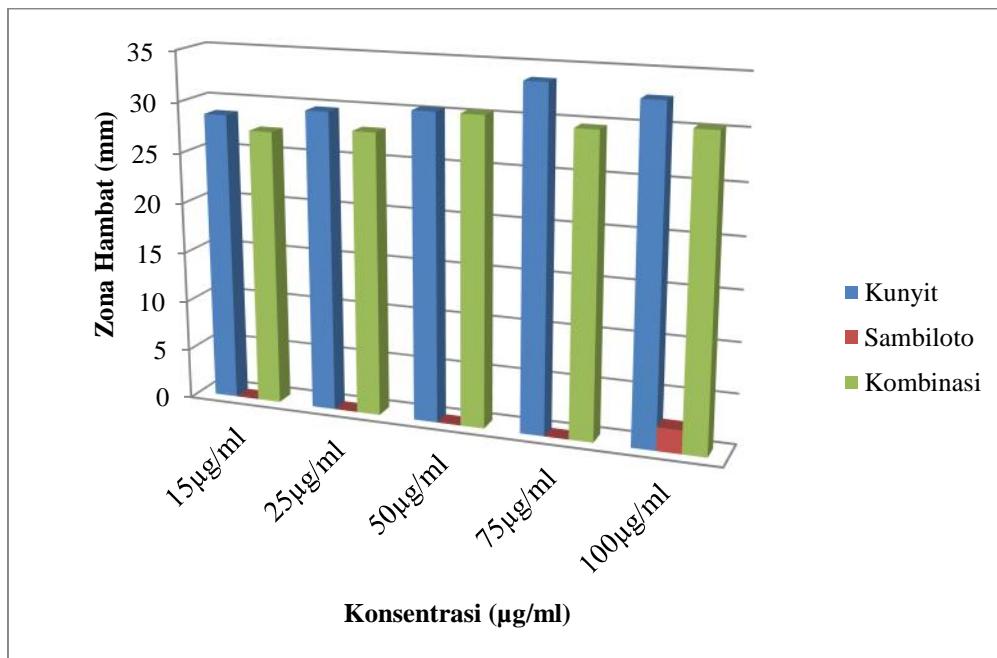
75 µg/ml, dan 100 µg/ml serta kontrol negatif air dan kontrol positif antibiotik amoksisilin clavulanid). Lempeng agar kemudian diinkubasi pada suhu 35°C selama 18-24 jam.

HASIL

Analisis perbedaan rerata menggunakan One Way ANOVA menunjukkan ada kelompok berbeda pada ekstrak sambiloto, kunyit, dan kombinasi ($p<0,05$) untuk bakteri *E. coli*. Hasil uji Levene menunjukkan varian data homogen ($p>0,05$) untuk kunyit dan kombinasi, sedangkan pada sambiloto varian data heterogen. Uji Post Hoc untuk kunyit dan kombinasi menggunakan uji Scheffe, sementara untuk sambiloto digunakan uji Thamhane. Hasil pengukuran zona hambat masing-masing ekstrak disajikan dalam Tabel 1 dan 2 serta Gambar 1.

Tabel 1. Rerata Diameter Zona Hambat Ekstrak

Bakteri	Dosis (µg/ml)	Rata-Rata Zona Hambat Ekstrak (mm)			
		Amoksisilin	Kunyit	Sambiloto	Kombinasi
<i>E.coli</i>	30	14,88			
	15	-	28,67	0	27,33
	25	-	29,67	0	28,00
	50	-	30,33	0	30,33
	75	-	33,67	0	29,67
	100	-	32,67	2,33	30,33



Gambar 1. Rerata Diameter Zona Hambat Ekstrak

Tabel 2. Beda Rerata Zona Hambat Ekstrak Dibandingkan dengan Kontrol Positif

Bakteri	Dosis ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Beda Rerata Ekstrak (mm)		
		Kunyit	Sambiloto	Kombinasi
<i>E. coli</i>	15	13,77 (0,004) *	-10,32 (0,851)	12,45 (0,002) *
	25	14,79 (0,002) *	-14,31 (0,032)*	13,12 (0,002) *
	50	15,45 (0,001) *	-14,31 (0,032)*	15,53 (0,000) *
	75	18,79 (0,000) *	-14,31 (0,032)*	14,79 (0,000) *
	100	17,79 (0,000) *	-12,55 (0,349)	15,53 (0,000) *

*Nilai p yang signifikan ($p<0,05$)

DISKUSI

Zona hambat yang terbentuk akibat ekstrak kunyit adalah paling tinggi pada seluruh konsentrasi uji dibandingkan ekstrak sambiloto tunggal maupun kombinasinya. Ekstrak sambiloto pada hampir semua konsentrasi tidak menunjukkan zona hambat

kecuali konsentrasi 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Zona hambat pada kombinasi ekstrak kunyit dan sambiloto terlihat lebih rendah dibandingkan ekstrak kunyit secara tunggal. Hal ini berarti tidak terdapat efek sinergis dalam kombinasinya walaupun tetap bermakna.

Analisis perbedaan rerata diameter zona hambat terhadap *E. coli* menunjukkan ada perbedaan bermakna ekstrak kunyit tunggal dan kombinasinya dengan sambiloto dibandingkan kontrol positif menggunakan amoksisilin (Tabel 2). Hal ini menunjukkan baik kunyit maupun kombinasinya memiliki potensi antimikroba yang lebih kuat daripada antibiotik standar pada konsentrasi 30 µg/ml atau lebih.

Potensi antimikroba pada kunyit diperkirakan disebabkan karena senyawa fenolik berupa curcuminoids yang dimilikinya. Mekanisme senyawa fenol sebagai antimikroba pada konsentrasi rendah adalah dengan merusak membran sitoplasma dan membran inti sel bakteri sehingga menyebabkan kebocoran inti sel, sedangkan pada konsentrasi tinggi senyawa fenol berkoagulasi dengan protein seluler sehingga protein tidak fungsional lagi.⁸ Aktivitas tersebut sangat efektif ketika bakteri berada dalam tahap pembelahan yaitu lapisan fosfolipid di sekeliling sel dalam kondisi yang sangat tipis sehingga fenol dapat dengan mudah merusak isi sel.⁸

Pada penelitian sebelumnya ditemukan adanya aktivitas antimikroba yang bermakna oleh ekstrak sambiloto tunggal terhadap bakteri *E. coli*. Dalam penelitian ini, potensi antimikroba sambiloto hanya ditemukan pada konsentrasi 100 µg/ml. Hal ini kemungkinan karena senyawa yang bersifat antimikroba tidak terekstrak oleh pelarut methanol atau

jenis strain bakteri *E. coli* yang digunakan pada penelitian sebelumnya berbeda.

SIMPULAN

1. Kombinasi ekstrak sambiloto dan kunyit memiliki potensi antimikroba yang bermakna untuk bakteri *E. coli* pada konsentrasi terkecil 15 µg/ml.
2. Ekstrak kunyit tunggal memiliki potensi antimikroba yang bermakna terhadap *E. coli* pada konsentrasi terkecil 15 µg/ml.
3. Ekstrak sambiloto tunggal tidak memiliki potensi antimikroba yang bermakna pada bakteri *E. coli* uji.

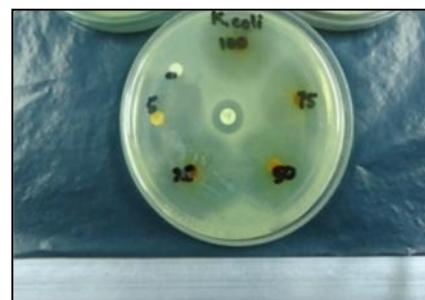
Berdasarkan sudut pandang ilmiah, disarankan agar dilakukan penelitian yang lebih lanjut untuk mencari *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) pada kunyit atau kombinasi ekstrak sambiloto dan kunyit pada bakteri *E. coli*, serta perlu dilakukan penelitian *in vivo* pada hewan coba.

Penggunaan kunyit sebagai antimikroba tunggal memiliki potensi yang lebih baik dibandingkan dengan kombinasi ekstrak, sehingga tidak perlu dikombinasikan dengan sambiloto.

DAFTAR PUSTAKA

1. Ministry of Health. Antimicrobial resistance, Antibiotic Usage adn Infection Control. 2005. 1-45

2. Kaper, J.B., Nataro, J.P., Mobley, H. Pathogenic Escherichia Coli. *Nature Reviews*. 2004;2:123-40.
3. Rajendra, C.E., Kumar, H.D., Yeshoda, S.V., Nadaf, M.A., Hanumanthraju, N. Comparative Evaluation of Antimicrobial Activities of Methanolic Extract of Curcuma Longa and Boswellia Serrata. *International Journal of Research in Pharmacy and Chemistry*. 2013;3(3):534-6.
4. Helen, M.P.A., Prinitha, Sree, J.S., Abisha M.S.M., Jacob A. Phytochemical Characterization and Antimicrobial Activity of Oil and Solvent Extracts of Curcuma Longa. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological, and Chemical Sciences*. 2012;3(3):49-55.
5. Shobana, M., Maheshwari, R., Muzammil, S.M. Antimicrobial Activity of Andrographis Paniculata Ness and Recuperative Effect on Mixing with Antibiotics. *Unique Research Journal of Chemistry*. 2013;01(01):41-6.
6. Suneetha, G., Ravi, V. Antimicrobial Activity of Andrographis Paniculata Flower Extracts. *International Journal of Research and Reviews in Pharmacy and Applied Science*. 2011;2(3):604-10.
7. Das, P., Srivastav, A.K. Phytochemical Extraction and Characterization of Leaves of Andrographis Paniculata for Its Anti-Bacterial, Anti-Oxidant, Anti-Pyretic and Anti-Diabetic Activity. *International Journal of Research and Reviews in Pharmacy and Applied Science*. 2014;3(8):15176-84.
8. Nazzaro, F., Fratianni, F., Martino, L.D., Coppola R., Veo V.D. Review: Effect of Essential Oils on Pathogenic Bacteria. *Pharmaceuticals*. 2013;6:1451-74.

LAMPIRAN**Gambar 1. Ekstrak Kunyit dan Ekstrak Sambiloto****Gambar 2. Kultur Bakteri****Gambar 3. Ekstrak Kunyit pada Bakteri *E. coli*****Gambar 4. Ekstrak Sambiloto pada Bakteri *E. coli*****Gambar 5. Kombinasi Ekstrak pada Bakteri *E. coli*****Gambar 6. Pengukuran dengan Jangka Sorong**