
EFEKTIFITAS EKSTRAK ETANOL BIJI BESERTA ARIL BUAH DELIMA (*Punica granatum L.*) MENGHAMBAT PERTUMBUHAN BAKTERI *Staphylococcus epidermidis* SECARA *IN VITRO*

Ida Bagus Budha Dharma Kusuma¹, Ida Bagus Ngurah², Bagus Komang Satriyasa³

¹Program Studi Sarjana Kedokteran Dan Profesi Dokter, Fakultas Kedokteran
Universitas Udayana

²Departemen Farmakologi Dan Terapi, Fakultas Kedokteran Universitas Udayana

Email: budhaksm10@gmail.com

ABSTRAK

Infeksi nosokomial telah mengalami peningkatan seiring waktu dan bakteri *Staphylococcus epidermidis* merupakan salah satu bakteri yang sering menyebabkan infeksi nosokomial tersebut. Tanaman delima dipercaya memiliki aktivitas antimikroba dan di Bali tanaman ini merupakan tanaman hias di pekarangan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas ekstrak etanol biji beserta aril buah delima (*Punica granatum L.*) menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis* secara *in vitro*. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni dengan rancangan *post test only control group design*. Sampel dibagi menjadi 2 kelompok yakni kontrol dan perlakuan yang dibagi atas empat kelompok berdasarkan konsentrasi. Sampel bakteri *Staphylococcus epidermidis* didapat dari Lab. Mikrobiologi FK UNUD. Penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol biji beserta aril buah delima memiliki potensi sebagai penghambat pertumbuhan bakteri *S. epidermidis* dengan konsentrasi hambat minimum adalah konsentrasi 25% dan zona hambat terbesar dihasilkan pada konsentrasi ekstrak 100%.

Kata Kunci: Antimikroba, Zona Hambat, *Staphylococcus epidermidis*, buah delima

ABSTRACT

Nosocomial infections have increased over time and the bacterium *Staphylococcus epidermidis* is one of the bacteria that causes these nosocomial infections. Pomegranate plants are believed to have antimicrobial activity and in Bali usually as an ornamental plant in the yard. Purpose of this study was to determine the ethanol extract of seeds with aryl of pomegranate fruit (*Punica granatum L.*) Influence the growth of *Staphylococcus epidermidis* bacteria *in vitro*. This research was a true experiment with a post-test only control group design. There were 2 groups of sample in this study, namely the control group and the treatment group divided into four groups based on concentration. *Staphylococcus epidermidis* bacterial samples were obtained from the Microbiology Laboratory, Faculty of Medicine, Udayana University. The results showed that the extract of seeds with aryl of pomegranate fruit had the potential to inhibit growth of *Staphylococcus epidermidis* bacteria with minimum inhibitory concentration of 25% and the largest inhibition zone was produced at 100% extract concentration.

Keywords: Antimicrobial, Inhibit Zone, *Staphylococcus epidermidis*, pomegranate

PENDAHULUAN

Infeksi nosokomial adalah infeksi yang didapat atau ditularkan dari rumah sakit ke pasien. Infeksi ini mengalami peningkatan baik di benua Asia khususnya di Indonesia. Infeksi nosokomial ini telah menjadi perhatian khusus, dikarenakan infeksi ini akan mempengaruhi kualitas hidup pasien di rumah sakit. Peningkatan tersebut terjadi akibat peningkatan penggunaan implant kateter dan alat prostetik lainnya dalam program pengobatan maupun rehabilitasi di rumah sakit.¹ Penggunaan kateter intravena merupakan penyebab infeksi utama ketiga yang di dapat di rumah sakit dan memiliki tingkat kematian sekitar 12%-25%.²

Infeksi nosokomial terjadi akibat kurangnya penanganan yang dilakukan terhadap alat-alat rumah sakit yang telah digunakan sehingga berbagai mikroorganisme akan hidup disana. Adapun salah satu mikroorganisme penyebab terjadinya infeksi nosokomial pada manusia yaitu bakteri *Staphylococcus epidermidis*.³ Bakteri ini disebut sebagai patogen oportunistik. Pengobatan bakteri ini saat ini memiliki kelemahan yang dikeluhkan masyarakat yaitu harga obat yang tidak terjangkau dan penggunaan *vancomycin* terus menerus juga akan berdampak pada terjadinya resistensi obat terhadap bakteri.^{3,4}

Buah delima (*Punica granatum L.*) merupakan genus punica yang sering dijumpai di alam Indonesia Khususnya Bali. Buah ini memiliki potensi yang tinggi untuk digunakan sebagai tanaman obat. Kandungan yang terdapat di dalam buah ini berupa komponen dari senyawa *polymeric phenolic*.⁵ Senyawa *Pholyphenol* yang ditemukan adalah jenis tannins yang memiliki potensi tinggi sebagai antibakteri, dan beberapa senyawa yang memiliki aktivitas antibakter berupa *flavonols*, dan *catechin*.⁶

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan eksperimental murni dengan *post-test only control group design*. Terdapat dua jenis sampel dalam penelitian ini yakni kontrol dan perlakuan. Terdapat dua kelompok kontrol yaitu kontrol positif menggunakan antibiotik *vancomycin* dan kontrol negatif dengan akudes. Sedangkan kelompok

perlakuan dibagi atas empat kelompok berdasarkan konsentrasi penggunaan ekstrak biji beserta aril buah delima pada masing-masing isolate dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *S. epidermidis* ATCC 12228 yang didapat dari Lab. Mikrobiologi FK UNUD. Jumlah pengulangan yang dilakukan pada penelitian ini yakni sebanyak empat kali. Sehingga besar sampel yang digunakan yakni 24 sampel. Penelitian ini dilakukan di laboratorium Mikrobiologi-Divisi Bakteriologi dan Virologi Unit Laboratorium Biomedik Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Udayana, dan Laboratorium Farmakologi dan Terapi-Divisi Pengembangan Obat dan Hewan Coba, Denpasar pada bulan Maret sampai November 2018.

Variabel yang diteliti adalah variabel terikat yaitu diameter zona hambatan bakteri *Staphylococcus epidermidis* pada media agar dan variabel bebas yaitu ekstrak etanol biji beserta aril buah delima dengan empat konsentrasi. Penelitian ini dilakukan dalam kondisi aerob pada suhu 37°C dan waktu inkubasi yakni 24 jam. Ekstrak etanol biji beserta aril buah delima dibuat menggunakan cara maserasi dalam etanol 96% dan diencerkan menggunakan akuades menjadi konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%. Media agar yang digunakan dalam penelitian ini adalah media *Mueller-Hinton* (MH). Pembuatan suspensi bakteri dilakukan dengan jarum inokulasi pada NaCl 0,9% lalu suspensi tersebut disetarakan dengan standar 0,5 McFarland (McF) dengan konsentrasi 10⁸ CFU/ml bakteri. Pengujian aktivitas antibakteri dalam penelitian ini dilakukan dengan metode *disc diffusion* (Kirby-Bauer). Pengamatan data dikerjakan 24 jam setelah masa inkubasi dan mencatat lebar daerah yang terlihat bening yang terdapat pada media agar MH. Analisis statistik menggunakan program SPSS dengan teknik deskriptif kuantitatif. Uji statistik yang dipilih untuk menganalisis data pada penelitian ini adalah Uji normalitas dengan uji *Shapiro Wilks*, Uji Homogenitas dengan uji *Levenne test*, dan uji non paramterik dengan uji *Kruskal wallis* dan uji *Mann Whitney*. Ijin penelitian ini telah didapatkan dari KEMENRISTEK FK UNUD Unit Laboratorium Biomedik Terpadu. Nomor 414/UN14.2.2.VII.6/LT/2018 tertanggal 27 september 2018.

HASIL

Tabel 1 menunjukkan bahwa zona hambat yang paling besar terlihat pada jenis perlakuan dengan konsentrasi ekstrak 100% yaitu dengan rerata 11 milimeter (mm).

Tabel 1. Hasil Pengukuran daerah Hambat Ekstrak Etanol Biji Beserta Aril Buah Delima terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus epidermidis*

Jenis Perlakuan	Diameter Zona Hambat (mm)				Rerata (mm)
	I	II	III	IV	
Ekstrak 25%	6	7	8	7	7
Ekstrak 50%	7	8	8	7	8
Ekstrak 75%	9	10	10	9	10
Ekstrak 100%	10	11	11	10	11
Kontrol (+)	21	22	21	22	22
Kontrol (-)	0	0	0	0	0

Pada uji normalitas dengan *Shapiro Wilk* didapatkan bahwa sampel berasal dari populasi berdistribusi tidak normal dengan nilai signifikansi 0,024 (p<0,05).

Pada uji homogenitas dengan statistik *Levenne Test* didapatkan bahwa variasi tiap kelompok tidak homogen dengan nilai signifikansi 0,038 (p<0,05).

Tabel 2 menunjukkan bahwa hasil uji *Kruskal Wallis* memperoleh nilai signifikansi sebesar 0,001 (p<0,05).

Tabel 2. Hasil Uji Perbedaan Perumbuhan Bakteri *Staphylococcus epidermidis*

Perlakuan	n	Rerata (mm)	P Value
Ekstrak 25%	4	8	0,001
Ekstrak 50%	4	9	
Ekstrak 75%	4	15	
Ekstrak 100%	4	18	
Kontrol (+)	4	23	
Kontrol (-)	4	3	

Tabel 3 menunjukkan pada hasil uji *Mann Whitney*, perbandingan antar empat kelompok konsentrasi dan dua kelompok kontrol yang digunakan dalam penelitian ini.

Tabel 3. Hasil Analisis Perbedaan Antar Konsentrasi Ekstrak

	Ekstrak 25%	Ekstrak 50%	Ekstrak 75%	Ekstrak 100%	Kontrol (+)	Kontrol (-)
Ekstrak 25%		0,343	0,019*	0,019*	0,019*	0,013*
Ekstrak 50%			0,018*	0,018*	0,018*	0,013*
Ekstrak 75%				0,061	0,018*	0,013*
Ekstrak 100%					0,018*	0,013*
Kontrol (+)						0,013*
Kontrol (-)						0,013*

Catatan : * = nilai p<0,05 (signifikan)

PEMBAHASAN

Hasil pengukuran zona hambat ekstrak etanol biji beserta aril buah delima terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis* menunjukkan semakin besar konsentrasi ekstrak maka zona hambat yang dihasilkan juga semakin besar. Pernyataan ini didukung dengan penelitian yang dilakukan oleh Kholifa yang menguji aktivitas antibakteri buah delima terhadap bakteri *Streptococcus mutans*, didapatkan bahwa diameter zona daya hambat terlihat pada perlakuan dengan ekstrak 10% dengan rerata sebesar 1,59 mm, dan terbesar pada perlakuan dengan ekstrak 80% dengan rerata sebesar 3,23mm.⁷ Jika dibandingkan dengan hasil penelitian ini, hasil penelitian ini memiliki rerata diameter daya hambat yang terbentuk lebih besar artinya lebih efektif daya hambat yang dihasilkan. Hal ini dikarenakan adanya perbedaan dalam ekstraksi buah delima dimana pada penelitian yang dilakukan Kholifa, beliau hanya menggunakan bagian biji dari buah delima saja sedangkan pada penelitian ini menggunakan bagian biji beserta aril dari buah delima.⁷

Penelitian ini juga sejalan dengan uji aktivitas antibakteri biji buah delima yang dilakukan oleh Jawetz dkk.⁸ Dalam penelitiannya dilakukan 3 jenis ekstraksi dengan maserasi. Pada penelitiannya didapatkan hasil rerata diameter zona hambat terbesar terlihat pada metode maserasi dengan etanol. Akan tetapi rerata diameter yang didapatkan lebih kecil dari penelitian ini. Hal tersebut dikarenakan metode maserasi yang digunakan pada penelitian ini adalah dengan menyaring hasil pelarutan dengan etanol dan diulang sebanyak tiga kali agar terjadinya proses keseimbangan konsentrasi antara larutan diluar dan didalam sel.

Terjadinya perbedaan hasil zona hambat pada penelitian ini dengan penelitian sebelumnya dapat dikarenakan adanya perbedaan ekstraksi bagian buah delima yang digunakan. Perbedaan ekstraksi bagian buah ini berpengaruh pada kandungan senyawa *hydrolysable tannins* yang terdapat pada biji beserta aril buah delima. Nikfallah dalam penelitiannya yang melakukan uji aktivitas antibakteri buah delima.⁹ Pada penelitian tersebut didapatkan hasil bahwa terdapat peningkatan zona hambat pada ekstrak kulit beserta aril buah delima dibandingkan dengan ekstrak kulit buah delima terhadap bakteri uji.⁵

Uji statistik dengan uji *Kruskal Wallis* didapatkan nilai signifikansi sebesar 0,001 ($p < 0,05$). Hasil tersebut menunjukkan ekstrak etanol biji beserta aril buah delima dalam berbagai konsentrasi berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis*.

Pada hasil uji statistik dengan uji *Mann Whitney* didapatkan perbedaan signifikan antar tiap kelompok konsentrasi dan kontrol. Akan tetapi terdapat hasil dengan perbedaan yang tidak bermakna yaitu antara konsentrasi 25% dengan 50%, dan 75% dengan 100%.

SIMPULAN

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol beserta aril buah delima memiliki potensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis* dengan konsentrasi minimum adalah konsentrasi 25% dengan rerata diameter zona hambat sebesar 7 mm. Zona hambat terbesar dihasilkan pada konsentrasi ekstrak 100% dengan rerata zona hambat sebesar 11 mm. Terdapat perbedaan bermakna lebih kecil antara konsentrasi ekstrak 25%, 50%, 75%, dan 100% terhadap kontrol positif dengan antibiotik *vancomycin* dan perbedaan yang bermakna lebih besar antara konsentrasi ekstrak terhadap kontrol negatif dengan akuades.

DAFTAR PUSTAKA

1. Parameswaran, R., Sherchan, J. B., Varma D, M., dkk. Intravascular Catheter-related Infection in an Indian Tertiary care Hospital. *J Inf Dev Ctries*. 2011; 5(6): 452 – 458.
2. Gahlot, R., Nigam, Chaitanya, dkk. Catheter-Related Bloodstream Inf. 2014; 4(2): 162 – 167. Tersedia di : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4093967/>.
3. Ryan, K. J., Ray, C. George. *Sherris Medical Microbiology*. Edisi ke-4. US : The McGraw-Hill Companies. 2004.
4. Mendes, R. E., Deshpande, L., Costello, A. J., dkk. Molecular Epidemiology of *S. epidermidis* Clinical Isolates from United States Hospitals. *Antimicro Agents and Chem*. 2012; Vol 56 No. 9: 4656 – 4661.
5. Cowan, M. M., *Plant Product as Antimicrobial Agents*. American Society for Microbiologi. 1999; Vol 12, No. 4: 565 – 572.
6. Howell, A. B., D'Souza, D. H. *The Pomegranate: Effect on Bacteria and Viruses That Influence Human Health*. 2013; Vol. 2013 : 1 – 11.
7. Kholifa, Mahmud. Pengaruh Ekstrak Etanol Biji Delima (*Punica granatum L.*) Terhadap Hambatan Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans*. Yogyakarta. 2017; 5: 712 – 717.
8. Jawetz, E., Melnick, J. L., Adelberg, E. A. *Medical Microbiology*. 26th ed. United States : The McGraw-Hill Companies. 2013.
9. Nikfallah, Fatemeh; Venugopa, Adith; Tejani, Harsh; Laksmikantha, Hemanth T. Evaluation of the Antibacterial Activity in Pomegranate Peels and Arils by using Ethanolic Extract against *S. Mutans* and *L. Acidophilus*. USA. 2014; 14(2): 1 – 5.