

UJI AKTIVITAS EKSTRAK ETANOL DAUN SAMBILOTO (*Andrographis paniculata* Nees) SEBAGAI ANTI BAKTERI *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615

Prisillia Brigitta¹, Ni Nengah Dwi Fatmawati², Ni Nyoman Sri Budayanti²

¹Program Studi Sarjana Kedokteran dan Profesi Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Udayana, Denpasar, Bali

²Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana, Denpasar, Bali
e-mail: sisi.brigitta@gmail.com

ABSTRAK

Infeksi ialah masalah kesehatan global dan penyebab utama kematian, terutama di Indonesia. Salah satu penyebab infeksi yang sering ditemukan di Indonesia dan negara-negara berkembang lainnya adalah *Streptococcus pyogenes*. Untuk mengatasi penyakit infeksi dan menghindari resistensi obat-obatan kimiawi, dapat dilakukan dengan cara mengembangkan antibiotik baru dari sumber alam terutama tanaman. Daun sambiloto sering dijumpai di Indonesia dan dipakai oleh masyarakat sebagai tanaman obat untuk mengobati infeksi saluran kemih, pelega tenggorokan, dan lainnya. Pada daun sambiloto terdapat kandungan antibakteri seperti *andrographolide*, tanin, flavonoid, alkaloid, steroid, saponin, fenol, terpenoid, dan glikosida. Metode ekstraksi yang digunakan pada daun sambiloto adalah maserasi dengan pelarut etanol 96%, kemudian diencerkan dengan pelarut etanol 96% menjadi konsentrasi 20%, 60% dan 80%, kemudian uji aktivitas antibakteri menggunakan metode cakram difusi. Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa secara signifikan ekstrak etanol daun sambiloto dapat menghambat pertumbuhan *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 ($p=0.000$). Hasil uji daya hambat berupa rerata diameter zona hambat yaitu 7 mm pada konsentrasi 20%, 8.8 mm pada konsentrasi 60%, dan 9.2 mm pada konsentrasi 80%. Dapat disimpulkan bahwa pada keseluruhan konsentrasi yang diujikan dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 dengan diameter zona hambat paling besar pada ekstrak daun sambiloto konsentrasi 80%.

Kata kunci: Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees), antibakteri, *Streptococcus pyogenes*

Infectious disease is a global health problem and the main cause of death, especially in Indonesia. One of the causes of infectious disease that commonly found in Indonesia and other developing countries is *Streptococcus pyogenes*. In order to overcome infectious disease and prevent resistance of chemical medicine, developing new antibiotic from natural source especially plants can be a choice. Sambiloto leaf is commonly found in Indonesia and used locally to cure urinary tract infection, sore throat, and others. Sambiloto leaf contains antibacterial component such as andrographolide, tannin, flavonoid, alkaloid, steroid, saponin, phenol, terpenoid, and glycoside. Extraction method that used on the study was maceration in ethanol 96%, diluted in ethanol 96% into 20%, 60%, 80% concentration, and bacterial activity test by paper disc diffusion method. The result of this study showed that sambiloto leaves' ethanol extract significantly inhibited the growth of *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 ($p=0.000$). The average inhibitory diameter result of *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 of every concentration are 7 mm on 20%, 8.8 mm on 60%, and 9.2 mm on 80%. It can be concluded that all concentration examined can inhibit the growth of *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, with the highest inhibitory diameter is sambiloto leaf extract on 80% concentration.

Keywords: Sambiloto leaves (*Andrographis paniculata* Nees), antibacterial, *Streptococcus pyogenes*

PENDAHULUAN

Streptococcus pyogenes merupakan *Streptococci* tipe A yang tergolong dalam bakteri gram positif. Bakteri ini tidak mampu melakukan pergerakan atau motilitas dan tidak menghasilkan spora. Bentuknya seperti rantai dan sel-senyanya berdiameter 0,6 – 1,0 mikrometer. *Streptococcus pyogenes* termasuk organisme yang fakultatif, yaitu organisme yang *catalase-negative aero tolerant anaerobe*, dan perlu media yang kaya akan darah untuk dapat bertumbuh^[1]. Bakteri ini dapat menyebabkan penyakit ringan hingga kronis, bahkan mengakibatkan jutaan kematian pada manusia terutama pada kulit dan saluran pernapasan. Salah satu penyebab kematian akibat infeksi bakteri *Streptococcus pyogenes* adalah *Rheumatic Heart Disease* (RHD). Infeksi *S. pyogenes* dapat menyerang pasien dari berbagai usia, dari anak-anak sampai lansia.

Umumnya bakteri *Streptococci* tipe A memiliki kapsul yang terdiri atas asam hialuronik dan membentuk zona beta hemolisis besar yang merupakan gangguan lengkap eritrosit dan pelepasan hemoglobin saat dikultur pada *plate* agar darah^[1]. Kapsul tersebut dapat menghambat akses fagosit dan deposisi C3b pada dinding sel bakteri. Untuk itu diperlukan bantuan dari obat baik kimiawi maupun herbal yang dapat memecahkan kapsul bakteri ini sehingga sel fagosit dapat melawan bakteri. Beberapa obat yang dipakai selama ini sebagai antibakteri *Streptococcus pyogenes* adalah *Penicillin*, *Amoxicillin* dan Eritromisin. Akan tetapi bahan-bahan kimiawi memiliki berbagai efek samping dan menyebabkan resistensi pada bakteri. Untuk itu, obat-obatan non antibiotik mulai dikembangkan untuk mengatasi efek samping dan multiresisten obat, terutama yang bersumber dari alam seperti tanaman^[2].

Andrographis paniculata Nees merupakan tanaman obat tradisional dari Ayurveda. Tumbuhan ini disebut juga sambiloto dan dapat bertumbuh dalam jumlah banyak di Asia^[3]. Daun sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) adalah salah satu pilihan antibiotik alternatif karena banyak ditemukan di masyarakat sebagai antibakteri, seperti untuk menyembuhkan berbagai infeksi saluran kemih, Tuberkulosis (TB) paru, TB otak, dan lainnya. Infus daun sambiloto dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *E. coli*. Sambiloto juga banyak ditemukan di Indonesia dan sejak dulu dipercaya masyarakat sebagai obat untuk meredakan batuk dan

menyaringkan suara. Secara farmakologis, daun sambiloto mampu berperan sebagai anti radang, analgesik, anti inflamasi, anti bakteri, anti malaria, dan berbagai manfaat lainnya. Berdasarkan hal tersebut penelitian ini dilakukan untuk menguji daya hambat ekstrak etanol daun sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.

BAHAN DAN METODE

Rancangan penelitian ini adalah *true experimental post test only*. Pembuatan ekstrak daun sambiloto dilakukan dengan metode maserasi dilanjutkan dengan evaporasi. Sedangkan uji aktivitas antibakteri ekstrak daun sambiloto terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 dilakukan dengan metode cakram difusi. Hasil perlakuan dinilai berdasarkan diameter zona hambat yang dihasilkan. Kelompok kontrol meliputi kontrol negatif etanol 96% dan kontrol positif *Amoxicillin* 25µg. Kelompok eksperimen meliputi konsentrasi ekstrak etanol daun sambiloto yang ingin diuji yaitu konsentrasi 20%, 60%, dan 80%.

Bakteri yang digunakan adalah spesimen bakteri *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 yang didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana. Sampel ekstrak daun sambiloto diambil dari Pantai Pondok Pemuda, Jimbaran, Bali. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana, Denpasar. Proses ekstraksi dan uji fitokimia dilakukan di Laboratorium Farmakokognisi FMIPA Universitas Udayana, Jimbaran. Sementara uji determinasi tumbuhan dilakukan di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Eka Raya Bedugul.

Serbuk daun *Andrographis paniculata* Nees ditimbang sebanyak 600 gram kemudian diayak menggunakan ayakan 60 mesh dan didapatkan 300 gram serbuk halus daun sambiloto kemudian dilakukan ekstraksi dengan etanol 96%. Serbuk daun sambiloto dimasukkan ke dalam bejana maserasi kemudian diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan 1,5 liter etanol 96% selama 3 hari (disertai pengadukan setiap harinya). Setelah 3 hari, filtrat kemudian dipisahkan, residu dimaserasi kembali menggunakan 1,5 liter etanol 96% selama 3 hari (disertai pengadukan setiap harinya). Selanjutnya ekstrak cair yang diperoleh dievaporasi

menggunakan *rotary evaporator* untuk mendapatkan ekstrak etanol daun sambiloto.

Uji daya hambat diawali dengan mengencerkan ekstrak etanol daun sambiloto kental dengan etanol 96% menjadi konsentrasi 20%, 60%, dan 80%. Kemudian *paper disk* dengan diameter 5 mm direndam pada ekstrak daun sambiloto 20%, 60%, 80%, dan kontrol negatif etanol 96%, kemudian dibiarkan selama 1 jam. Disk tersebut lalu ditempelkan diatas media *Muller Hinton Blood Agar* yang sudah ditanam suspensi bakteri *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 bersama dengan disk kontrol positif antibiotik *Amoxicillin* 25µg menggunakan pinset steril, lalu diinkubasi dengan inkubator dengan suhu 37°C selama 17-24 jam. Setelah waktu inkubasi selesai, zona bening yang terbentuk disekitar *disk* dilihat dan diukur dengan jangka sorong (dalam satuan mm), lalu dicatat.

Diameter zona hambat dibandingkan dengan pengelompokan Davis dan Stout dan *Greenwood*^{4,5}. Analisis data menggunakan uji *Kruskal-Wallis* dan *Mann Whitney* ($p < 0,05$). Penelitian ini sudah memiliki izin oleh Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Udayana dengan nomor surat B-121/IPH.7/AP/II/2019.

HASIL

Hasil uji determinasi tumbuhan menunjukkan bahwa daun sambiloto yang digunakan memiliki spesies *Andrographis paniculata* Nees. Analisis fitokimia yang dilakukan terhadap daun sambiloto didapatkan bahwa kandungan berupa senyawa saponin, fenol, terpenoid, alkaloid, flavonoid, dan tanin (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil uji fitokimia ekstrak etanol daun sambiloto

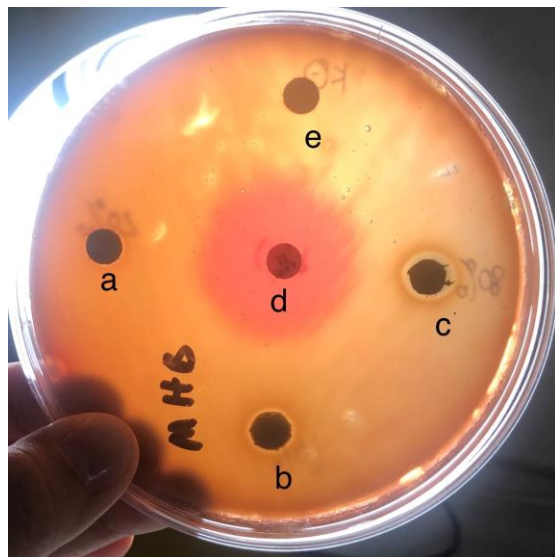
Senyawa Metabolit Sekunder	Hasil
Saponin	+
Fenol	+
Steroid	+
Terpenoid	+
Glikosida	+
Alkaloid	+
Flavonoid	+
Tanin	+

Konsentrasi ekstrak etanol daun sambiloto 20%, 60%, dan 80% dapat memberikan rentang zona hambat pertumbuhan *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 7-9,2 mm (Gambar 1). Akan tetapi apabila dibandingkan dengan klasifikasi Davis dan Stout, ketiga kelompok perlakuan memiliki kemampuan daya hambat sedang, sementara apabila dibandingkan dengan klasifikasi

Greenwood seluruh kelompok konsentrasi tidak memiliki daya hambat. Hasil dari uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan bahwa daya hambat yang dihasilkan oleh seluruh kelompok memiliki perbedaan daya hambat yang signifikan ($p=0,000$), kemudian pada uji *Mann Whitney* menunjukkan bahwa kelompok ekstrak etanol daun sambiloto konsentrasi 60% dan 80% tidak memiliki perbedaan daya hambat yang signifikan ($p=0,343$) (Tabel 2).

Tabel 2. Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) terhadap *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615

Jenis Perlakuan	Mean ± SD (mm)	Nilai p
P1: konsentrasi 20%	7	0,000
P2: konsentrasi 60%	8.8 ± 0,837	
P3: konsentrasi 80%	9.2 ± 0,447	
K1: Etanol 96%	0	
K2: <i>Amoxicillin</i> 25µg	22.8 ± 1,924	



Gambar 1. Hasil Zona Hambat (*Clear zone*) Ekstrak Etanol Daun Sambiloto terhadap *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 konsentrasi 20% (a), 60% (b), 80% (c), Kontrol Positif (d), dan Kontrol Negatif (e) pada Media *Mueller Hinton Blood Agar*

PEMBAHASAN

Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa semua konsentrasi ekstrak etanol daun sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) mampu memberikan daya hambat terhadap pertumbuhan *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615. Diameter zona hambat yang terbentuk oleh ekstrak etanol daun sambiloto pada konsentrasi 20%, 60%, dan 80% masing-masing

adalah 7 mm, 8,8 mm, dan 9,2 mm. Hasil tersebut sesuai dengan penelitian-penelitian terhadap ekstrak etanol daun sambiloto sebagai antibakteri sebelumnya, seperti pada penelitian yang dilakukan oleh Sawitti, dkk pada bakteri *Eschericia coli* ATCC 2922 dengan hasil diameter daya hambat konsentrasi ekstrak etanol daun sambiloto 25%, 50%, 75%, dan 100% [6].

Dalam penelitian ini juga dapat dilihat bahwa ekstrak daun sambiloto menghasilkan diameter zona hambat yang kecil terhadap pertumbuhan *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615. Hal ini bergantung pada kualitas ekstrak daun yang memiliki dua faktor antara lain faktor biologi dan kimia. Faktor biologi meliputi spesies tanaman itu sendiri, lokasi tanaman asal, waktu panen, penyimpanan bahan baku, umur, serta bagian tanaman yang digunakan dalam penelitian, sementara faktor kimia yang terdiri atas faktor eksternal dan internal. Faktor eksternal meliputi ukuran, penyaring, kandungan logam berat dan pestisida, serta metode ekstraksi yang digunakan dan faktor internal meliputi jenis, komposisi, dan kandungan senyawa aktif. Senyawa aktif tersebut, berdasarkan uji fitokimia yang telah dilakukan, terdiri atas saponin, fenol, steroid, terpenoid, glikosida, alkaloid, flavonoid, tannin, dan *andrographolide* [7].

Saponin mampu merusak membrane sitoplasma bakteri yang mengakibatkan berkurangnya permeabilitas membrane sel menyebabkan transportasi zat ke dalam dan keluar sel tidak terkontrol sehingga ion organik seperti enzim, asam amino, dan nutrisi dapat keluar dari sel dan menyebabkan metabolisme bakteri terhambat dan ATP menurun. Hal tersebut dapat menyebabkan terhambatnya pertumbuhan sel bakteri dan terjadi kematian sel [8].

Flavonoid memiliki nilai hambat pertumbuhan bakteri dengan menggunakan kemampuannya merusak permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom, dan lisosom. Tannin memiliki kemampuan untuk merusak membrane sel bakteri. Alkaloid dapat mengganggu susunan peptidoglikan pada dinding sel bakteri yang menyebabkan dinding sel tidak terbentuk secara sempurna yang berujung kepada kematian sel. Alkaloid juga merupakan interkelator DNA dan menghambat enzim topoisomerase sel bakteri.

Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi daun sambiloto pada penelitian ini adalah etanol 96% yang sering dipakai sebagai pelarut ekstraksi senyawa aktif karena mudah menembus membran sel sehingga baik digunakan untuk mengekstrak senyawa antibakteri seperti tannin, fenol, dan flavonoid [9]. Etanol juga memiliki polaritas 5,2

sehingga senyawa polar dan nonpolar yang terkandung pada daun sambiloto mampu tertarik ke dalam pelarut seperti alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, steroid, dan terpenoid [10]. Dalam penelitian ini, etanol 96% juga terbukti tidak memberikan efek antibakteri karena sudah digunakan sebagai kontrol negatif dengan hasil diameter zona hambat 0 mm.

SIMPULAN

Berdasarkan data yang diperoleh ekstrak etanol daun sambiloto (*Andrographis peniculata* Nees) memiliki potensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615. Konsentrasi ekstrak 20% menghasilkan Konsentrasi Hambat Minumal (KHM), sedangkan ekstrak konsentrasi 80% menghasilkan zona hambat terbesar. Ada perbedaan antar konsentrasi ekstrak terhadap daya hambat pertumbuhan *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615. Ekstrak etanol daun sambiloto dengan konsentrasi 60% dan 80% tidak memiliki perbedaan yang signifikan.

SARAN

Pada penelitian ini hanya dilakukan proses ekstraksi menggunakan pelarut etanol 96%. Untuk itu diharapkan pada penelitian berikutnya untuk menggunakan pelarut lain. Selain itu perlu juga dilakukan penelitian uji daya hambat ekstrak daun sambiloto pada mikroorganisme lainnya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti ingin berterima kasih kepada Tuhan Yang Maha Esa, orang tua, dr. Ni Nengah Dwi Fatmawati, S.Ked., Sp.MK, PhD dan dr. Ni Nyoman Sri Budayanti, Sp. MK(K) selaku dosen pembimbing, dr. Agus Eka Darwinata, S. Ked, PhD selaku dosen penguji, serta seluruh pihak yang terlibat dalam pelaksanaan penelitian ini atas dukungan dan bimbingan sehingga penelitian ini dapat terselesaikan dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

1. Todar K. *Streptococcus pyogenes* and streptococcal disease [Internet]. *Textbookofbacteriology.net*. 2008 [cited 11 December 2019]. Available from: <http://textbookofbacteriology.net/streptococcus.html>
2. Mandal S e. 14-Deoxyandrographolide alleviates ethanol-induced hepatosteatosis through stimulation of AMP-activated protein kinase activity in rats. - PubMed - NCBI

- [Internet]. Ncbi.nlm.nih.gov. 2013 [cited 11 December 2019]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24507479>
3. Efstratiou A, Lamagni T. *Streptococcus pyogenes* : Basic Biology to Clinical Manifestations - PubMed - NCBI [Internet]. Ncbi.nlm.nih.gov. 2016 [cited 11 December 2019]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26866208>
 4. Davis W, Stout T. Disc plate methods of microbiological antibiotic assay. *Microbiology*. 1971;22:659-665.
 5. Greenwood D. *Antibiotics Susceptibility (Sensitivity) Test Antimicrobial and Chemotherapy*. USA:Mc Graw Hill Company. 1995;.
 6. Sawitti, Yendhi M, Mahatmi H, Besung I. Daya hambat perasan daun sambiloto terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. *Indonesia Medicus Veterinus*. 2013;2(2):142-50.
 7. Mishra S, Sangwan N, Sangwan R. *Andrographis paniculata* (kalmegh): a review. *Pharmacognosy Reviews*. 2007;1:283-97.
 8. Suhartati R. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) Terhadap Bakteri *Streptococcus pyogenes*. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada: Jurnal Ilmu-ilmu Keperawatan, Analisis Kesehatan dan Farmasi*. 2007;17(2):513.
 9. Septiani S, Dewi EN, Wijayanti I. AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK LAMUN (*Cymodocea rotundata*) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli* (Antibacterial Activities of Seagrass Extracts (*Cymodocea rotundata*) Against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*). *Saintek Perikanan : Indonesian Journal of Fisheries Science and Technology* [Online]. 2017 Dec;13(1):1-6. <https://doi.org/10.14710/ijfst.13.1.1-6>.
 10. Anas Y, Puspitasari N, Nuria M. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada: Jurnal Ilmu-ilmu Keperawatan, Analisis Kesehatan dan Farmasi*. Aktivitas Stimulansia Ekstrak Etanol Bunga Dan Daun Cengkeh (*Syzygium aromaticum* (L) Merr & Perry) Pada Mencit Jantan Galur Swiss Beserta Identifikasi Golongan Senyawa Aktifnya. 2013;10(1):13-22