

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL BUNGA KAMBOJA PUTIH (*Plumeria alba*) TERHADAP *Streptococcus pyogenes*

Kadek Herdana Vildan Mardaningrat¹, IGM Aman², I Made Jawi², Agung Wiwiek Indrayani²

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

². Departemen Farmakologi dan Terapi, Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana, Denpasar, Bali
e-mail: herdana.vildan@gmail.com

ABSTRAK

Streptococcus pyogenes merupakan bakteri gram positif berbentuk kokus yang sering menyebabkan infeksi pada saluran pernapasan manusia. Pertumbuhan *Streptococcus pyogenes* dapat dihambat oleh senyawa fitokimia yang berasal dari bahan alam seperti bunga kamboja putih (*Plumeria alba*). Ekstrak etanol bunga kamboja putih telah diketahui memiliki berbagai jenis senyawa fitokimia yang dapat berperan sebagai agen antibakteri. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menganalisis daya hambat ekstrak bunga kamboja putih pada konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes*. Penelitian *in vitro* ini menggunakan metode *true experimental post-test only control group*. Sampel penelitian dibagi menjadi enam kelompok, yaitu dua kelompok kontrol terdiri dari kontrol positif yang diberikan klindamisin dan kontrol negatif yang diberikan aquades, serta empat kelompok perlakuan yaitu konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%. Metode difusi agar (*Kirby-bauer*) digunakan sebagai uji antibakteri. Data hasil penelitian dianalisis menggunakan *software* SPSS. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak bunga kamboja putih pada konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% mempunyai daya hambat terhadap *Streptococcus pyogenes* dengan diameter zona hambat sebesar 7,2 mm, 8,8 mm, 9,4 mm, dan 9,6 mm. Kontrol positif yang digunakan adalah klindamisin dengan diameter 38,8 mm. Analisis *Kruskal-Wallis* menunjukkan hasil 0,000 yang menandakan adanya perbedaan rata-rata luas zona hambat antar kelompok yang signifikan. Dengan demikian, ekstrak etanol bunga kamboja putih pada konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% berpotensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes*.

Kata kunci: Uji daya hambat, ekstrak., *Plumeria alba.*, *Streptococcus pyogenes*

ABSTRACT

Streptococcus pyogenes is a gram-positive cocci bacterium which often causes respiratory infections in human. The growth of *Streptococcus pyogenes* can be inhibited by phytochemical compounds derived from natural ingredients such as *kamboja putih* flower (*Plumeria alba*). *Kamboja putih* flower extract is known to have various types of phytochemical compounds that can function as antibacterial agents. This study aims to analyse the inhibition effect of *kamboja putih* flower extracts at concentrations of 25%, 50%, 75%, and 100% against *Streptococcus pyogenes*. This *in vitro* study used true experimental post-test only control group design. The sample of this study divided into six groups: Two control groups were positive control was given clindamycin and negative control was given aquadest, and four treatment groups at concentrations of 25%, 50%, 75%, and 100%. The agar diffusion method (*Kirby-bauer*) was used in antibacterial test. The research data were analyzed using SPSS software. The results showed that *kamboja putih* flower extracts at concentrations of 25%, 50%, 75% and 100% had inhibitory effect against *Streptococcus pyogenes* consecutively 7.2 mm, 8.8 mm, 9.4 mm, and 9.6 mm. The positive controls clindamycin was consecutively 38.8 mm. *Kruskal-Wallis* analysis showed a result of 0.000, which means that there was a significant difference in the mean of the inhibition zone between each groups. The ethanol extract of *kamboja putih* flower (*Plumeria alba*) at concentrations of 25%, 50%, 75% and 100% were potential to inhibit the growth of *Streptococcus pyogenes* bacteria.

Keywords: Antibacterial activity., extract, *Plumeria alba.*, *Streptococcus pyogenes*

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi masih menjadi salah satu penyakit terbanyak pada negara tropis seperti Indonesia. Terdapat beberapa mikroorganisme yang dapat menimbulkan penyakit infeksi seperti bakteri, jamur, virus, dan parasit. *Streptococcus pyogenes* merupakan salah satu bakteri yang dapat menyebabkan infeksi terutama pada saluran pernapasan manusia.¹ *Streptococcus pyogenes* merupakan bakteri gram positif berbentuk kokus yang tergolong ke dalam *Streptococcus β-hemolytic group A*.² Bakteri ini merupakan flora normal yang terdapat di hidung dan tenggorokan. Menurunnya sistem imun tubuh dan adanya ketidakseimbangan flora normal dapat menimbulkan suatu infeksi yang disebabkan oleh bakteri ini. Penyakit yang paling sering disebabkan oleh *Streptococcus pyogenes* adalah tonsilitis dan faringitis.³

Antibiotik menjadi pilihan pertama dalam pengobatan penyakit infeksi. Namun, penggunaan antibiotik yang salah dan tanpa resep dokter menyebabkan peningkatan resistensi bakteri terhadap antibiotik. Diketahui bahwa *Streptococcus pyogenes* telah mengalami resistensi terhadap beberapa antibiotik golongan makrolid dan tetrasiklin.⁴ Melihat adanya resistensi bakteri terhadap antibiotik, maka diperlukan penemuan tanaman obat yang memiliki efek antibakteri dalam menghambat *Streptococcus pyogenes* dan aman untuk dikonsumsi.

Salah satu tanaman yang memiliki potensi dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus pyogenes* adalah bunga kamboja putih (*Plumeria alba*). Tanaman ini telah banyak digunakan dalam pengobatan tradisional.⁵ Senyawa aktif yang terkandung di dalam bunga kamboja putih seperti flavonoid, minyak atsiri, saponin, fenol, dan tanin diketahui mempunyai sifat antibakteri.^{5,6}

Tujuan dilaksanakannya penelitian ini adalah untuk mengetahui daya hambat ekstrak etanol bunga kamboja putih terhadap pertumbuhan *Streptococcus pyogenes* dan pengaruh perbedaan konsentrasi ekstrak etanol bunga kamboja putih terhadap luas zona hambat secara *in vitro*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol bunga kamboja putih (*Plumeria alba*) terhadap pertumbuhan *Streptococcus pyogenes* dengan uji difusi agar secara *in vitro* dan menggunakan *true experimental post-test only control group design*. Bunga kamboja putih yang digunakan dalam penelitian ini didapatkan dari Singaraja, Bali dan dipilih bunga yang masih utuh, segar, serta tidak busuk.

Alat yang digunakan meliputi *oven*, timbangan analitik, blender, gelas kimia, batang pengaduk, maserator, kertas filter, *rotary evaporator*, rak dan tabung reaksi, *steam baths*, spiritus, ose, *sticky cotton sterile*, penjepit, cawan petri, tabung Erlenmeyer, mikropipet, *blue tips*, *yellow tips*, autoklaf, inkubator, dan jangka sorong. Adapun bahan yang digunakan meliputi bunga kamboja putih (*Plumeria alba*), *aquades*, etanol 70%, kultur murni bakteri *Streptococcus*

pyogenes, *Triptic Soy Broth media* (TSB), *Mueller-Hinton Blood Agar* (MHBA), NaCl 0,9%, larutan *McFarland* 0,5, *antibiotic discs* klindamisin 5 µg, dan *paper discs*.

Sampel dalam penelitian dibagi ke dalam kelompok kontrol (K) dan kelompok perlakuan (P). Kelompok kontrol terdiri dari kontrol positif (K+) menggunakan antibiotik klindamisin dan kontrol negatif (K-) menggunakan aquades. Kelompok perlakuan dibagi menjadi empat berdasarkan perbedaan konsentrasi ekstrak etanol bunga kamboja putih yang digunakan, yaitu konsentrasi 25% (P1), 50% (P2), 75% (P3), dan 100% (P4). Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmakologi dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana pada bulan Juli hingga September 2021.

Pembuatan Ekstrak Etanol Bunga Kamboja Putih (*Plumeria alba*)

Metode maserasi digunakan dalam pembuatan ekstrak etanol bunga kamboja putih. Sebanyak 750 gram bunga kamboja putih dibersihkan dari kotoran dengan cara dicuci menggunakan air mengalir. Setelah itu, bunga yang sudah bersih dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Setelah kering, bunga kamboja putih dihancurkan menggunakan blender hingga didapatkan sebanyak 125 gram simplisia bunga. Kemudian, simplisia bunga kamboja putih direndam ke dalam etanol 70% dengan perbandingan simplisia : etanol 70% = 1:7, dan dimaserasi selama 24 jam. Campuran simplisia dan etanol kemudian disaring menggunakan kertas saring untuk mendapatkan filtrat pertama dan residu dimaserasi kembali selama 24 jam. Selanjutnya, filtrat kedua disaring dan dicampurkan dengan filtrat pertama, lalu diletakkan pada *rotary evaporator* pada suhu 40°C untuk mendapatkan ekstrak pekat dengan konsentrasi 100% sebanyak 19 gram. Selanjutnya, ekstrak dibuat menjadi empat konsentrasi yang berbeda, yaitu 25%, 50%, 75%, dan 100% dengan menggunakan pelarut aquades. Konsentrasi 25% didapat dengan melarutkan ekstrak dan aquades dengan perbandingan 1:3. Konsentrasi 50% diperoleh dengan mencampurkan ekstrak dan aquades dengan perbandingan 1:1. Konsentrasi 75% didapat dengan melarutkan ekstrak dan aquades dengan perbandingan 3:1.

Uji Daya Hambat Difusi Agar

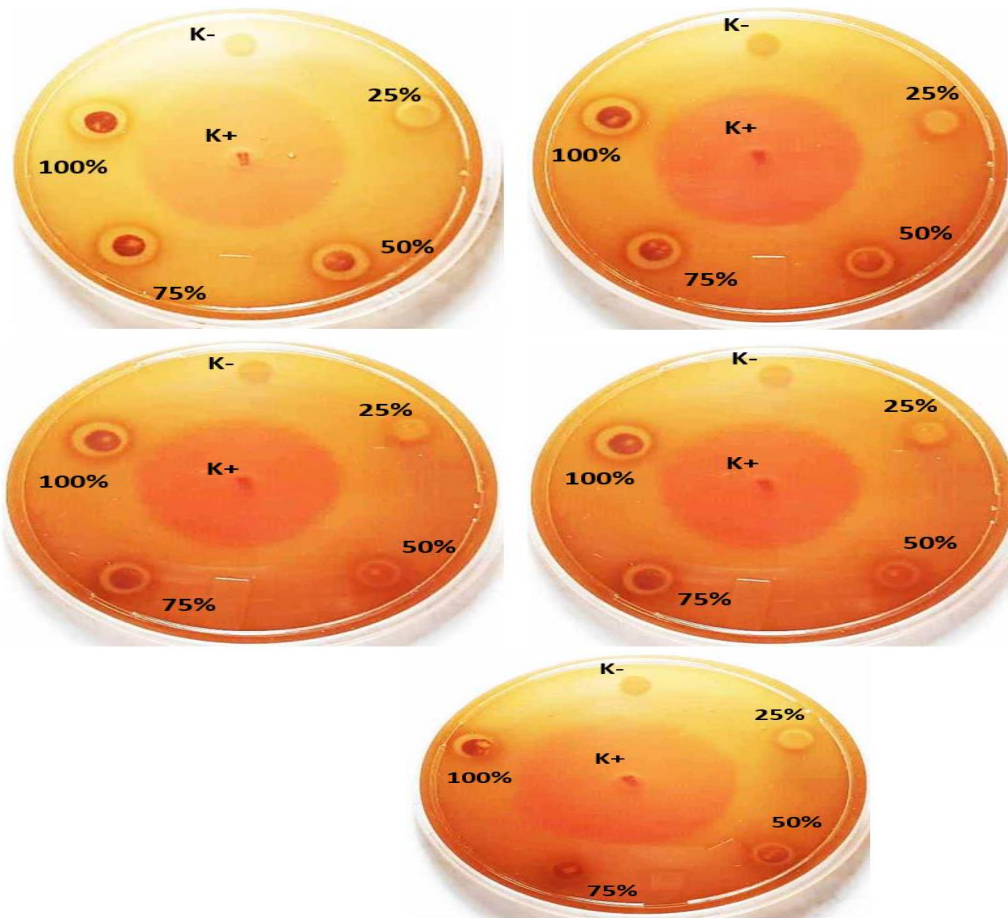
Metode difusi agar *Kirby-Bauer* digunakan dalam melakukan uji daya hambat bakteri. Metode ini menggunakan cawan petri yang berisi media agar dan diberikan tanda sesuai kelompok perlakuan dan kontrol dengan 5 kali pengulangan. Selanjutnya, *paper discs* diletakkan pada cawan petri kosong dan ditambahkan bahan uji berupa ekstrak etanol bunga kamboja putih dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%, lalu didiamkan selama kurang lebih 2 jam. Suspensi bakteri *Streptococcus*

pyogenes digoreskan pada permukaan cawan petri yang berisi media secara halus dan merata. Kemudian, *paper discs* yang telah berisi bahan uji diletakkan di atas cawan petri sesuai dengan tanda yang telah diberikan. Berikutnya, cawan petri dimasukkan ke dalam inkubator selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Selanjutnya, dilakukan pengukuran diameter zona hambat pertumbuhan bakteri yang ditandai dengan area bening di sekitar *paper disc*. Pengukuran zona hambat dilakukan dengan mengukur zona terluar dari area

bening di sekitar *paper disc* menggunakan jangka sorong. Data yang diperoleh dicatat dalam satuan milimeter (mm).

Data hasil penelitian selanjutnya diolah menggunakan SPSS dan disajikan dalam bentuk tabel disertai dengan penjelasan deskriptif berupa teks. Penelitian ini telah mendapatkan keterangan kelaikan etik (*Ethical Clearance*) dari Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Udayana dengan nomor 2615/UN14.2.2.VII.14/LT/2021.

Hasil pengukuran diameter zona hambat bakteri *Streptococcus pyogenes* dapat dilihat pada **Gambar 1**.



Gambar 1. Hasil uji antibakteri dengan metode *disk diffusion*

Tabel 1. Diameter zona hambat ekstrak etanol bunga kamboja putih terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes*

Jenis perlakuan	Diameter zona hambat (mm)					Rata-rata ± Simpang baku (mm)
	I	II	III	IV	V	
K+ : Kontrol positif	39	37	41	36	41	38,8 ± 2,28*
K- : Kontrol negatif	0	0	0	0	0	0
P1 : Ekstrak konsentrasi 25%	8	7	7	7	7	7,2 ± 0,44*
P2 : Ekstrak konsentrasi 50%	10	9	9	8	8	8,8 ± 0,83*
P3 : Ekstrak konsentrasi 75%	11	10	10	9	7	9,4 ± 1,51*
P4 : Ekstrak konsentrasi 100%	10	10	9	10	9	9,6 ± 0,54*

Catatan: * = <0,05 (signifikan)

Berdasarkan hasil uji normalitas menggunakan uji *Shapiro-wilk*, ditemukan nilai $p < 0,05$ pada kelompok P1 dan P4 yang menandakan data tidak terdistribusi normal sehingga dilanjutkan dengan uji non-parametrik *Kruskal-Wallis*. Pada uji ini, didapatkan nilai $p = 0,000$ ($p < 0,05$) yang menunjukkan adanya

perbedaan rata-rata luas zona hambat antar konsentrasi pada ekstrak etanol bunga kamboja putih yang signifikan. Selanjutnya dilakukan uji *Post-Hoc* menggunakan uji *Mann-whitney* dan didapatkan hasil sesuai **Tabel 2**.

Tabel 2. Hasil uji *post-hoc Mann-whitney*

Konsentrasi	Ekstrak 100%	Ekstrak 75%	Ekstrak 50%	Ekstrak 25%	Kontrol negatif	Kontrol positif
Ekstrak 100%		0,910	0,118	0,006*	0,005*	0,008*
Ekstrak 75%			0,334	0,034*	0,005*	0,009*
Ekstrak 50%				0,012*	0,005*	0,008*
Ekstrak 25%					0,004*	0,007*
Kontrol negatif						0,005*
Kontrol positif						

Catatan: * = <0,05 (signifikan)

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, diketahui bahwa ekstrak etanol bunga kamboja putih (*Plumeria alba*) memiliki daya hambat bakteristatik terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes* pada keempat jenis konsentrasi, yaitu 25%, 50%, 75%, dan 100%. Zona hambat pada seluruh konsentrasi ekstrak bunga kamboja putih tergolong ke dalam zona hambat sedang. Penentuan ini menyesuaikan dengan Departemen Kesehatan yang menyatakan bahwa zona hambat sebesar 6-10 mm tergolong ke dalam zona hambat sedang.⁸

Kontrol positif yang digunakan adalah klindamisin yang merupakan golongan antibiotik spektrum sempit karena hanya bekerja pada bakteri gram positif. Antibiotik ini bersifat bakteristatik dan bakterisid. Kinerjanya dipengaruhi oleh organisme penyebab, konsentrasi obat, serta area infeksi organisme tersebut.⁹

Rata-rata diameter zona hambat ekstrak etanol bunga kamboja putih 100% merupakan yang terluas dibandingkan dengan konsentrasi lainnya. Dapat diamati bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak etanol bunga kamboja putih yang digunakan menyebabkan peningkatan zona hambat yang dihasilkan. Hal ini sejalan dengan teori yang ada, yaitu kecepatan difusi zat antibakteri dipengaruhi oleh konsentrasi ekstrak. Semakin besar konsentrasi ekstrak, maka semakin cepat terjadinya difusi zat antibakteri sehingga daya hambat terhadap bakteri semakin besar yang ditunjukkan dari semakin luasnya diameter zona hambat yang terbentuk.¹⁰

Selain konsentrasi ekstrak, senyawa fitokimia yang terkandung di dalam ekstrak juga mempengaruhi aktivitas antibakteri. Ekstrak etanol bunga kamboja putih memiliki kandungan senyawa fitokimia berupa flavonoid, minyak atsiri, saponin, fenol, dan tanin. Tiap senyawa memiliki mekanisme kerja masing-masing sebagai agen antibakteri. Flavonoid mampu berikatan dengan protein ekstraseluler membentuk suatu senyawa kompleks yang dapat merusak keutuhan membran sel bakteri. Mekanisme kerja dari flavonoid adalah dengan cara mendenaturasi protein di dalam sel dan membran sel sehingga mampu menyebabkan kerusakan pada membran sel bakteri.⁶

Minyak atsiri dan saponin memiliki mekanisme kerja yang serupa. Minyak atsiri berperan dalam meningkatkan permeabilitas ion yang mengakibatkan kebocoran dari senyawa vital penyusun bakteri. Akibatnya, terjadi kerusakan pada sistem enzim bakteri dan mengganggu metabolisme bakteri.⁶ Saponin bekerja dengan menurunkan tegangan permukaan sel dan meningkatkan permeabilitas membran sel. Hal ini memungkinkan masuknya zat antibakteri melalui dinding sel bakteri sehingga terjadinya hemolisis sel bakteri.⁹

Senyawa fenol bekerja dengan menginaktifkan enzim esensial pada bakteri gram positif, serta mendenaturasi asam amino dan enzim. Mekanisme tersebut menyebabkan

terjadinya kerusakan ikatan hidrofobik membran sel seperti ikatan protein dan fosfolipid. Akibatnya, akan terjadi kebocoran nutrisi pada sel yang berdampak terjadinya penghambatan metabolisme bakteri tersebut.¹¹

Mekanisme kerja dari senyawa tanin ialah berikatan dengan ion H⁺ dalam pembentukan protein di dinding bakteri. Hal ini menyebabkan pH dari bakteri tersebut menjadi asam dan menyebabkan protein terdenaturasi yang mengakibatkan penghambatan perkembangan bakteri. Tanin juga membuat bakteri tidak dapat bereplikasi dengan cara menghambat *reverse transcriptase enzyme* dan DNA *topoisomerase*.¹²

1. SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan dari penelitian ini adalah ekstrak etanol bunga kamboja putih (*Plumeria alba*) memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes*. Terdapat perbedaan nilai rata-rata zona hambat berdasarkan metode *disk diffusion* pada konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% masing-masing sebesar 7,2 mm, 8,8 mm, 9,4 mm, dan 9,6 mm, dengan konsentrasi optimum yaitu konsentrasi 100%.

Adapun saran-saran yang dapat diberikan ialah sebagai berikut.

1. Perlu dilakukan uji kadar senyawa fitokimia yang terkandung di dalam bunga kamboja putih (*Plumeria alba*) secara kuantitatif.
2. Perlu dilakukan uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol bunga kamboja putih terhadap bakteri lain.
3. Perlu dilakukan uji mengenai efek antibakteri senyawa fitokimia spesifik pada ekstrak bunga kamboja putih terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Brooks, G.F., Carrol, K.C., Butel, J.N., Morse, S.A., Mietzner, T.A. Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology. McGraw-Hill. 2013; 211-213.
2. Spellerberg, B., Brandt, C. Laboratory Diagnosis of *Streptococcus pyogenes* (group A streptococci). In: Ferretti JJ, Stevens DL, Fischetti VA, editors. *Streptococcus pyogenes: Basic Biology to Clinical Manifestations* [Internet]. Oklahoma City (OK): University of Oklahoma Health Sciences Center; 2016-. PMID: 26866238
3. Pardede, S. O. Struktur Sel Streptokokus dan Patogenesis Glomerulonefritis Akut Pascastreptokokus. Sari Pediatri. 2009;11(1): 56-65
4. Lu, B., Li, D., Zhu, F., Cui, Y., Fang, Y., Wang, D. High Prevalence of Macrolide-resistance and Molecular Characterization of *Streptococcus pyogenes* Isolates Circulating in China from 2009 to 2016. *Frontiers in Microbiology*. 2017;8:1-10

5. Issura. Aktivitas Antimikrobia Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak n-Heksana Bunga Kamboja Putih. ETD Unsyiah. 2013 [Cited on 22 April 2019]. Available at: http://etd.unsyiah.ac.id/index.php?p=show_detail&id=3487
6. Jiwantowo, F., Purwanta, M., dan Setiawan, Y. Uji Efektivitas Ekstrak Bunga Kamboja (*Plumeria alba*) Sebagai Antibakteri *Streptococcus pyogenes*. Jurnal Kedokteran Syah Kuala. 2017;17(3):147-151
7. Wadianur, F., Hidayati, L., dan Corvianindya, Y. 2018. Efektivitas Ekstrak Bunga Kamboja Putih (*Plumeria alba*) Sebagai Denture Cleanser Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans* Pada Bahan Basis Gigi Tiruan Nilon Termoplastik. e-Jurnal Pustaka Kesehatan. 6(1):161-166
8. Departemen Kesehatan RI. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Kemenkes No: 55/MENKES/SK/1/2000. Cetakan Pertama. Depkes RI. Jakarta; 2000.
9. Mulyani, Y., Hidayat, D., Fatimah, Y. Ekstrak Daun Katuk (*Sauropus androgynus (L) Merr*) Sebagai Antibakteri Terhadap *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*. Jurnal Farmasi Lampung. 2017;6(2):46-54
10. Elya, B., Soemiati, A., Farida. Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Manggis Hutan (*Garcinia rigida MIQ*). Majalah Ilmu Kefarmasian. 2009;6(1):9-17
11. Hidayah, N. 2016. Uji Aktivitas Ekstrak Metanol Klika Anak Dara (*Oblongus burm f.*) Terhadap Bakteri Penyebab Jerawat [S1]. Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Alauddin.
12. Marselia, S., Wibowo, M., Arreneuz, S. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Soma (*Ploiarium alternifolium Melch*) Terhadap *Propionibacterium acnes*. Jurnal Kimia Khatulistiwa. 2015;4(4):72-82