

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK METANOL BATANG TERMAS (*POIKILOSPERMUM SUAVEOLENS* (BLUME) MERR.) TERHADAP *BACILLUS SUBTILIS*

Anastia Rahmatan Nisa¹ dan Sri Mulyaningsih²

^{1,2}. Program studi Farmasi. Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan
e-mail: anastia27rahma@gmail.com

ABSTRAK

Penyakit infeksi akibat bakteri patogen, seperti bakteri *Bacillus subtilis* yang memiliki kemampuan pembentukan biofilm yang mengakibatkan resistensi antibiotik. Pengembangan alternatif pengobatan perlu dilakukan, salah satunya dengan bahan alam. Tanaman Termas (*Poikilospermum suaveolens* (Blume) Merr.) berpotensi sebagai agen antibakteri dengan kandungan golongan senyawa flavonoid dan fenol. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk membuktikan potensi antibakteri dari ekstrak batang Termas terhadap bakteri *Bacillus subtilis*. Penelitian ini dilakukan secara *post test only control group*. Batang Termas yang telah dideterminasi di B2P2TOOT, Tawangmangu, dikeringkan, disortasi dan diekstraksi. Proses ekstraksi batang Termas menggunakan metode soxhletasi suhu 40°C sampai pelarut berwarna bening. Identifikasi senyawa dilakukan secara spektrofotometri. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode mikrodilusi untuk menentukan nilai kadar hambat minimum (KHM) dan metode gores untuk menentukan nilai kadar bunuh minimum (KBM). Hasil penelitian menunjukkan nilai rendem ekstrak batang Termas masing-masing 9,325% (ekstrak maserasi) dan 17,665% (ekstrak soxhletasi). Identifikasi kandungan senyawa secara spektrofotometri menunjukkan nilai kadar flavonoid total masing-masing sebesar 1,032 mgQE/g (0,0944%) dan 42,397 mgQE/g (4,239%) dan kadar fenol total dengan nilai masing-masing 9,873 mgGAE/g (0,981%) dan 88,390 mgGAE/g (8,839%). Aktivitas antibakteri ekstrak batang Termas ditunjukkan melalui nilai KHM dan KBM masing-masing sebesar 40 mg/mL dan 40 mg/mL pada ekstrak soxhletasi serta 80 mg/mL dan 80 mg/mL pada ekstrak maserasi.

Kata kunci : Batang Termas (*Poikilospermum suaveolens* (Blume) Merr.), KHM, KBM, *Bacillus subtilis*

ABSTRACT

Infectious diseases by pathogenic bacteria as *Bacillus subtilis* which have the ability of biofilms induced resistance of antibiotic. The development of alternative treatment needs to be supposed of them with natural ingredients. Termas (*Poikilospermum suaveolens* (Blume) Merr.) has potential as an antibacterial agent containing flavonoid and phenolic compounds. The purpose of this study was to prove the antibacterial potential of Termas stem extract against *Bacillus subtilis*. The research design used was a post test only control group. The stem of Termas which have been determined at B2P2TOOT, Tawangmangu, were dried, sorted and extracted. The Termas stem extraction process used the soxhletation method at 40°C until the solvent was clear. Identification of compounds was carried out by spectrophotometry. The antibacterial activity test was carried out using the microdilution method to determine the minimum inhibitory concentration (MIC) and the scratch method to determine the minimum bactericidal concentration (MBC). The results showed the yield value of stem of Termas extract was 9.325% (maceration extract) and 17.665% (soxhletation extract). Identification of compound content by spectrophotometry showed that the total flavonoid content was 1.032 mgQE/g (0.0944%) and 42.397 mgQE/g (4.239%) and the total phenol content was 9.873 mgGAE/g (0.981%) respectively. and 88,390 mgGAE/g (8.839%). The antibacterial activity of the Termas stem extract was indicated by the MIC and MBC values of 40 mg/mL and 40 mg/mL respectively in the soxhletation extract and 80 mg/mL and 80 mg/mL in the maceration extract, respectively.

Keywords : The stem of Termas (*Poikilospermum suaveolens* (Blume) Merr.), MIC, MBC, *Bacillus subtilis*

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi masih menjadi permasalahan kesehatan terbesar di dunia, khususnya di Indonesia. The Global Health Observatory menyatakan bahwa penyakit infeksi menjadi salah satu dari 10 penyebab kematian di dunia (1). *Bacillus subtilis*

termasuk bakteri yang dapat hidup pada lingkungan aerobik dan anaerobik dan menjadi penyebab utama makanan menjadi lebih cepat busuk dan beracun. Selain itu *Bacillus* dapat mengganggu sistem imun sehingga dapat menyebabkan gastroenteritis akut dan meningitis serta jumlahnya yang banyak di dalam usus mampu

menyebabkan diare (2). *B. subtilis* juga dapat bertahan hidup di kondisi ekstrim, endospora ini resisten terhadap panas, radiasi, garam, dehidrasi dan desinfektan (3).

Hingga saat ini, pemberian antibiotik menjadi solusi utama dalam pengobatan penyakit infeksi akibat bakteri. Namun, tingginya penggunaan dan persebaran antibiotik yang tidak rasional mengakibatkan terjadinya resistensi antibiotik. Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk menekan kejadian infeksi dan tingginya resistensi antibiotik adalah dengan mengembangkan alternatif pengobatan yang berpotensi sebagai antibakteri, yaitu penggunaan dan pemanfaatan bahan alam sebagai antibakteri.

Pemanfaatan bahan alam sebagai alternatif pengobatan seperti antibakteri telah ada selama berabad-abad dan berkembang dengan adanya berbagai inovasi penelitian sehingga menghasilkan aktivitas biologis yang beragam dan serupa bahkan dapat melebihi efektivitas obat kimia (4,5). Sistem pengobatan berbasis bahan alam ini terus memainkan peran penting dalam perawatan kesehatan, dan diperkirakan oleh *world health organization* (WHO) bahwa sekitar 80% populasi dunia bergantung pada obat berbasis alam untuk kesehatan preventif dan kuratif (6). Famili Urticaceae terkenal sebagai agen antibakteri berdasarkan kandungan fitokimianya. Salah satunya adalah tanaman Termas (*Poikilospermum suaveolens*). Secara empiris Termas dimanfaatkan secara tradisional dengan direbus bagian daun dan batang, air hasil rebusan dipercaya berkhasiat sebagai obat tradisional untuk mengobati berbagai macam penyakit akibat infeksi bakteri (7,8,9). Kemampuan antibakteri Termas dilaporkan disebabkan oleh senyawa antibakteri seperti, senyawa golongan flavonoid dan fenol (10,5).

Sedikitnya literasi serta masih kurang terintegrasinya penelitian terkait potensi antibakteri batang Termas ini, menjadi tujuan dilakukannya penelitian ini, yaitu untuk membuktikan aktivitas antibakteri dari ekstrak metanol batang Termas terhadap *Bacillus subtilis*.

BAHAN DAN METODE

Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah batang Termas (*Poikilospermum suaveolens*), isolate *Bacillus subtilis* FNCC 0059, standar kuersetin p.a (Sigma), standar asam galat p.a (Sigma), metanol teknis, metanol p.a (Merck), etanol absolut p.a (Merck); FeCl_3 (Merck), Kertas selongsong, Isolat bakteri *Bacillus subtilis*, *Mueller Hinton Agar* (Himedia), *Mueller Hinton Broth* (Himedia), *Nutrient Agar* (Himedia), DMSO 10%, *Vancomycin*, Larutan Mc Farland 0,5 dan Aquadest.

Prosedur Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Terpadu Universitas Ahmad Dahlan yang dilakukan secara eksperimental menggunakan desain *post test only control group*. Sampel penelitian dibuat menjadi kelompok kontrol (K) dan kelompok perlakuan (P). Kelompok kontrol terdiri dari kontrol positif (K+) dan kontrol negatif (K-). Kelompok perlakuan (P) dibuat larutan stok ekstrak uji yang kemudian dilakukan pengenceran bertingkat pada *microplate* 96 well.

Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan di Balai Besar Penelitian Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TOOT) Tanggungmangu, Karanganyar, Jawa Tengah.

Pengumpulan Sampel Tanaman

Batang Termas diperoleh dari daerah Nglegi, Kecamatan Pathuk, Gunung Kidul. Batang yang diambil berupa batang Termas tua, dipotong dari ujung pucuk batang hingga pangkal batang sebelum akar dengan menghilangkan bagian daun dan ranting.

Preparasi Sampel

Batang Termas yang telah dikumpulkan, dicuci, dirajang, disortasi dan dikeringkan menggunakan oven pada suhu 40°C selama 2 hingga terkstur dari batang kering mudah dipatahkan. Batang Termas kering dibuat serbuk dan diayak dengan ayakan 40/60 mesh.

Ekstraksi Sampel

Proses ekstraksi dilakukan dengan metode yang berbeda, yaitu metode maserasi dan metode soxhletasi dengan pelarut metanol. Proses maserasi dilakukan selama 1x24 jam dengan pengadukan dan dilakukan remaserasi. Pada proses soxhletasi dilakukan pada suhu 40°C hingga pelarut berwarna bening. Sebanyak 200 gram serbuk simplisia batang Termas digunakan pada masing-masing proses ekstraksi. Ekstrak cair yang didapat dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 40°C sampai didapatkan ekstrak kental.

Uji Penetapan Kadar Flavonoid Total

Pembuatan larutan uji ekstrak

Larutan uji ekstrak dibuat sebanyak 25 mg ekstrak ditambahkan etanol p.a dalam labu ukur 25 mL sampai tanda batas. Dihomogenkan dengan *magnetic stirrer* selama 30 menit, disaring dan dimasukkan dalam labu ukur 25 mL, ditambahkan etanol p.a hingga tanda batas (11).

Pembuatan larutan standar kuersetin

Standar kuersetin ditimbang 10 mg dalam labu ukur 25 mL dan ditambahkan etanol p.a sampai tanda batas (11).

Penentuan operating time

Larutan OT dibuat dengan konsentrasi 100 $\mu\text{g/mL}$. Larutan standar kuersetin diambil 1 mL dan ditambahkan etanol p.a 10 mL dan diambil sebanyak 0,5 mL dalam labu ukur 5 mL. Ditambahkan 1,5 mL etanol p.a; 0,1 mL AlCl_3 10%; 0,1 mL natrium asetat 1M dan aquadest hingga tanda batas. Dibaca secara spektrofotometri pada panjang gelombang 415 nm selama 60 menit (11).

Penentuan panjang gelombang maksimum

Larutan dibuat dengan konsentrasi 100 $\mu\text{g/mL}$. Larutan standar kuersetin diambil 1 mL dan ditambahkan etanol p.a 10 mL dan diambil sebanyak 0,5 mL dalam labu ukur 5 mL. Ditambahkan 1,5 mL etanol p.a; 0,1 mL AlCl_3 10%; 0,1 mL natrium asetat 1M dan aquadest hingga tanda batas. Diinkubasi sesuai OT dan dibaca secara spektrofotometri pada panjang gelombang 350 nm – 500 nm (11).

Pembuatan kurva baku

Larutan kurva baku dibuat seri konsentrasi 20, 50, 75, 100 dan 125 $\mu\text{g/mL}$. Larutan standar kuersetin diambil 1 mL dan ditambahkan etanol p.a 10 mL dan diambil sebanyak 0,5 mL dalam labu ukur 5 mL. Ditambahkan 1,5 mL etanol p.a; 0,1 mL AlCl_3 10%; 0,1 mL natrium asetat 1M dan aquadest hingga tanda

batas. Diinkubasi sesuai OT dan dibaca secara spektrofotometri pada panjang gelombang maksimum (11).

Penetapan kadar flavonoid total secara spektrofotometri

Masing-masing larutan uji dan seri konsentrasi larutan kurva baku diambil 0,5 mL dalam labu ukur 5 mL dan ditambahkan masing-masing etanol p.a 10 mL dan diambil sebanyak 0,5 mL dalam labu ukur 5 mL. Ditambahkan 1,5 mL etanol p.a; 0,1 mL $AlCl_3$ 10%; 0,1 mL natrium asetat 1M dan aquadest hingga tanda batas. Diinkubasi sesuai OT dan dibaca secara spektrofotometri pada panjang gelombang maksimum. Perhitungan nilai absorbansi larutan ekstrak uji dimasukkan dalam persamaan regresi larutan standar kuersetin, sehingga diperoleh kadar flavonoid total dalam milligram quercetin ekuivalen per gram (mg QE/g) (11).

Uji Penetapan Kadar Fenol Total

Pembuatan larutan uji ekstrak

Larutan uji ekstrak dibuat sebanyak 25 mg ekstrak ditambahkan metanol p.a dalam labu ukur 25 mL sampai tanda batas. Dihomogenkan dengan *magnetic stirrer* selama 30 menit, disaring dan dimasukkan dalam labu ukur 25 mL, ditambahkan etanol p.a hingga tanda batas (11).

Pembuatan larutan standar asam galat

Standar asam galat ditimbang 10 mg dalam labu ukur 25 mL dan ditambahkan metanol p.a sampai tanda batas (11).

Penentuan *operating time*

Larutan OT dibuat dengan konsentrasi 100 μ g/mL. Larutan standar asam galat diambil 1 mL dan ditambahkan metanol p.a 10 mL dan diambil sebanyak 0,5 mL dalam labu ukur 10 mL. Ditambahkan 5 mL reagen *Folin-Ciocalteu LP* (7,5% dalam air) didiamkan 8 menit dan ditambahkan NaOH 1% hingga tanda batas. Dibaca secara spektrofotometri pada panjang gelombang 730 nm selama 90 menit (11).

Penentuan panjang gelombang maksimum

Larutan dibuat dengan konsentrasi 100 μ g/mL. Larutan standar asam galat diambil 1 mL dan ditambahkan metanol p.a 10 mL dan diambil sebanyak 0,5 mL dalam labu ukur 10 mL. Ditambahkan 5 mL reagen *Folin-Ciocalteu LP* (7,5% dalam air) didiamkan 8 menit dan ditambahkan NaOH 1% hingga tanda batas. Diinkubasi sesuai OT dan dibaca secara spektrofotometri pada panjang gelombang 500 nm – 800 nm (11).

Pembuatan kurva baku

Larutan kurva baku dibuat seri konsentrasi 30, 40, 50, 60 dan 70 μ g/mL. Larutan standar asam galat diambil 1 mL dan ditambahkan metanol p.a 10 mL dan diambil sebanyak 0,5 mL dalam labu ukur 10 mL. Ditambahkan 5 mL reagen *Folin-Ciocalteu LP* (7,5% dalam air) didiamkan 8 menit dan ditambahkan NaOH 1% hingga tanda batas. Diinkubasi sesuai OT dan dibaca secara spektrofotometri pada panjang gelombang maksimum (11).

Penetapan kadar flavonoid total secara spektrofotometri

Masing-masing larutan uji dan seri konsentrasi larutan kurva baku diambil 0,5 mL dalam labu ukur 5 mL dan ditambahkan masing-masing metanol p.a 10 mL dan diambil sebanyak 0,5 mL dalam labu ukur 10 mL. Ditambahkan 5 mL reagen *Folin-Ciocalteu LP* (7,5% dalam air) didiamkan 8 menit dan ditambahkan NaOH 1% hingga tanda batas. Diinkubasi sesuai OT dan dibaca secara spektrofotometri pada panjang

gelombang maksimum. Perhitungan nilai absorbansi larutan ekstrak uji dimasukkan dalam persamaan regresi larutan standar asam galat, sehingga diperoleh kadar flavonoid total dalam milligram asam galat ekuivalen per gram (mg GAE/g) (11).

Uji Aktivitas Antibakteri

Pada penelitian ini, uji aktivitas antibakteri dilakukan secara *in vitro* menggunakan metode mikrodilusi. Bakteri yang digunakan adalah *Bacillus subtilis* FNCC 0059. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dalam 3 tahapan, yaitu preparasi bakteri uji, preparasi sampel uji dan penentuan konsentrasi hambat minimum (KHM) dan kadar bunuh minimum (KBM).

Preparasi bakteri uji

Preparasi bakteri uji diawali dengan membuat subkultur bakteri uji, dimana bakteri ditumbuhkan pada media *nutrient agar* (NA) pada suhu 37°C selama 24 jam. Kemudian dibuat suspensi bakteri dengan mengambil ± 1 ose biakan bakteri uji dan dilarutkan dalam larutan saline (NaCl 0,9%) secara aseptik. Tingkat kekeruhan pada suspensi yang dibuat dibandingkan dengan standar 0,5 Mc Farland secara visual yang setara $1-2 \times 10^8$ CFU/mL Suspensi bakteri. diambil sebanyak 100 μ L dan ditambahkan media dilusi (*Mueller hinton broth*) sampai 10 mL, sehingga diperoleh suspensi mikroba dengan jumlah koloni $1-2 \times 10^6$ CFU/mL (12).

Preparasi sampel uji

Larutan uji ekstrak maserasi dan soxhletasi dibuat dalam stok 160 mg/mL dalam DMSO 10%. Larutan stok dimasukkan dalam *well 1* dan 2 *microplate* yang sebelumnya telah diisi dengan media *Mueller hinton broth* sebanyak 100 μ L. Pengenceran bertingkat dilakukan dengan mengambil sebanyak 100 μ L pada *well 2 microplate* dimasukkan dalam *well 3* dilakukan pengenceran bertingkat hingga dihasilkan konsentrasi 160 mg/mL; 80 mg/mL; 40 mg/mL; 20 mg/mL; 10 mg/mL; 5 mg/mL; 2,5 mg/mL; 1,25 mg/mL; 0,625 mg/mL; 0,312 mg/mL dan 0,156 mg/mL. Larutan uji dimasukkan pada *microplate* baris A, B dan C sebagai pengulangan. Kontrol positif menggunakan *vancomycin* 1 μ g/mL yang dimasukkan pada *microplate* baris D pada *well 1* dan 2, pengenceran bertingkat juga dilakukan dari *well 2* hingga *well 11*. Kontrol negatif menggunakan DMSO 10% yang dimasukkan pada *microplate* baris E pada *well 1* dan 2, pengenceran bertingkat juga dilakukan dari *well 2* hingga *well 11*. Kontrol media berupa *Mueller hinton broth* yang dimasukkan pada *microplate well 12* (12,13).

Penentuan konsentrasi hambat minimum (KHM) dan kadar bunuh minimum (KBM)

Konsentrasi hambat minimum adalah jumlah konsentrasi terkecil sampel uji yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Penentuan KHM dan KBM pada penelitian ini merujuk pada Mulyaningsih et al., (2011) yang dimodifikasi. Pada *microplate* yang sebelumnya telah berisi media *Mueller hinton broth* dan larutan uji, kontrol positif serta kontrol negatif ditambahkan sebanyak 100 μ L suspensi bakteri dari *well 1* sampai *well 12* pada baris A – E. *Microplate* diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Tingkat kekeruhan pada setiap *well* diamati. Kekeruhan menandakan adanya pertumbuhan bakteri. Viabilitas bakteri dipastikan dengan uji *microtetrazolium* (MTT) yang dibuat dengan konsentrasi 1 mg/mL. sebanyak 20 μ g/mL larutan MTT ditambahkan dalam setiap *well* pada *microplate*, diinkubasi 10-60

menit pada suhu 37°C. Viabilitas bakteri ditandai dengan perubahan warna ungu pada *well* yang menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri.

Kadar bunuh minimum adalah kadar atau konsentrasi terkecil dari sampel uji yang dapat membunuh bakteri. Setelah ditentukannya nilai KHM, dilanjutkan dengan penentuan nilai KBM. Larutan KHM pada *microplate* diambil dengan ose atau *cotton* steril dan digoreskan pada media Mueller hinton agar. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Nilai KBM ditentukan dengan ada tidaknya pertumbuhan bakteri pada media agar (12,13).

Analisis data

Kadar flavonoid yang diperoleh, dinyatakan dalam kesetaraan milligram asam galat ekuivalen per gram (mg GAE/g). Sedangkan kadar fenol yang diperoleh, dinyatakan dalam kesetaraan milligram asam galat ekuivalen per gram (mg GAE/g). Analisis data sebelumnya dilakukan memasukkan dalam persamaan regresi larutan standard an adata absorbansi ($y=bx + a$) dan dilanjutkan dengan perhitungan kadar (%) dari senyawa flavonoid dan fenol.

Analisa data dari uji aktivitas antibakteri dinyatakan dengan nilai konsentrasi hambah minimum (KHM) dan nilai kadar bunuh minimum (KBM).

HASIL

Determinasi Tanaman

Hasil determinasi menunjukkan bahwa batang tanaman Termas yang digunakan dalam penelitian unu adalah benar dan sesuai dengan yang dimaksud, yaitu spesies *Poikilospermum suaveolens* (Blume) Merr.

Ekstraksi Batang Termas

Proses ekstraksi pada penelitian ini menggunakan metode maserasi dan soxhletasi soxhletasi. Nilai rendemen dihitung sehingga mendapatkan hasil pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil rendemen ekstrak maserasi dan soxhletasi batang Termas

Ekstrak	Bobot kering (gr)	Bobot ekstrak (gr)	Rendemen (%)
Ekstrak maserasi	200	18,65	9,325
Ekstrak soxhletasi	200	35,33	17,665

Penetapan Kadar Flavonoid dan Fenol Total

Penetapan kadar flavonoid dan fenol total dilakukan secara spektrofotometri dengan 3 kali pengulangan dianalisis secara statistic menggunakan SPSS yang menunjukkan nilai $p<0,05$. Hal tersebut menyatakan bahwa adanya perbedaan yang signifikan pada pada tabel 1 dan tabel 2.

Tabel 2. Hasil penetapan kadar flavonoid total

Ekstrak	Total Flavonoid (mg QE/g)	Kadar Flavonoid (%)
EM 1	0,9672	0,0967
EM 2	0,8586	0,0841
EM 3	1,2704	0,1026
Rata-rata	1,032	0,0944
ES 1	44,112	4,411
ES 2	39,880	3,988
ES 3	43,200	4,320
Rata-rata	42,397	4,239

Tabel 3. Hasil penetapan kadar fenol total

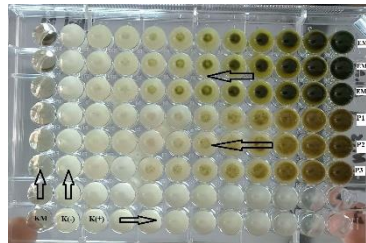
Ekstrak	Total Fenol (mg QE/g)	Kadar Fenol (%)
EM 1	9,755	0,975
EM 2	9,905	0,973
EM 3	9,961	0,996
Rata-rata	9,873	0,981
ES 1	85,625	8,625
ES 2	83,125	8,312
ES 3	89,062	8,906
Rata-rata	88,390	8,839

Aktivitas antibakteri

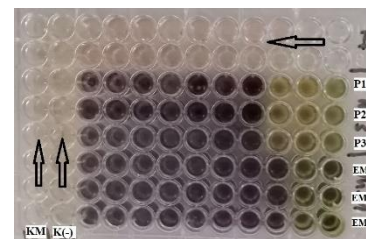
Uji aktivitas antibakteri ekstrak maserasi dan soxhletasi batang Termas yang dilakukan untuk menentukan nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) dengan metode mikrodilusi dan kadar bunuh minimum (KBM) dengan metode gores. Hasil menunjukkan pada gambar1,2 dan 3.

Ket :

- KM=Kontrol media
- K-=Kontrol negative
- K+=Kontrol positif
- EM 1,2,3=ekstrak maserasi
- P 1,2,3=Ekstrak soxhletasi

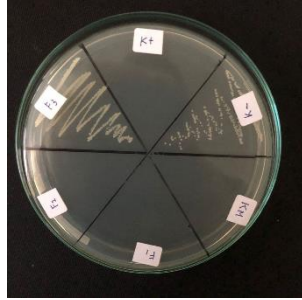


Gambar 1. Hasil konsentrasi hambat minimum (KHM) dengan metode mikrodilusi ekstrak batang Termas



- Ket :** KM=Kontrol media
- K-=Kontrol negative
- K+=Kontrol positif
- EM 1,2,3=ekstrak maserasi
- P 1,2,3=Ekstrak soxhletasi

Gambar 2. Hasil konsentrasi hambat minimum (KHM) dengan metode mikrodilusi setelah dilakukan uji MTT



Gambar 3. Hasil kadar bunuh minimum (KBM) ekstrak maserasi batang Termanas dengan metode gores

Ket : KM=Kontrol media
K-=Kontrol negative
K+=Kontrol positif
F1=160mg/mL
F2=80mg/mL
F3=40mg/mL



Gambar 4. Hasil kadar bunuh minimum (KBM) ekstrak soxhletasi batang Termanas dengan metode gores

Ket : KM=Kontrol media
K-=Kontrol negative
K+=Kontrol positif
A1=160mg/mL
A2=80mg/mL
A3=40mg/mL
A4=20mg/mL

Tabel 4. Nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak metanol batang Termanas

Konsentrasi Ekstrak	Ekstrak Maserasi	Ekstrak Soxhlet
160 mg/mL	-	-
80 mg/mL	-	-
40 mg/mL	√	-
20 mg/mL	√	√
10 mg/mL	√	√
5 mg/mL	√	√
2,5 mg/mL	√	√
0,625 mg/mL	√	√
0,312 mg/mL	√	√
0,156 mg/mL	√	√
K (+)	-	-
K (-)	√	√
KM	√	√

Keterangan :

√ menunjukkan adanya warna ungu setelah diberikan MTT

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini digunakan tanaman Termanas yang diperoleh dari daerah Nglegi, Kecamatan Pathuk, Gunung Kidul yang telah melalui proses determinasi. Determinasi tanaman dilakukan untuk memastikan kebenaran jenis tanaman yang akan digunakan. Hasil determinasi tanaman menunjukkan jenis tanaman spesies *Poikilospermum suaveolens* (Blume) Merr. Penelitian ini dilakukan untuk memastikan potensi batang Termanas sebagai agen antibakteri dengan kandungan senyawanya flavonoid dan fenol.

Proses ekstraksi batang Termanas dilakukan dengan dua metode, yaitu metode maserasi dan soxhlet dengan hasil ekstrak masing-masing (Tabel 1) sebesar 18,65 gram dan 35,33 gram.

Hasil rendemen ekstrak masing 9,325% dan 17,665%. Perbedaan hasil ekstraksi serta nilai persen rendemen dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu metode ekstraksi, waktu ekstraksi, suhu ekstraksi, pelarut yang digunakan dan ukuran partikel dari bahan tanaman juga akan mempengaruhi ekstraksi. Metode soxhlet menghasilkan persen rendemen lebih tinggi dapat dikarenakan jenis bagian tanaman yang digunakan. Pada penelitian ini digunakan bagian batang Termanas berupa kayu dengan struktur keras dan kuat, sehingga dengan adanya pemanasan akan membantu proses ekstraksi lebih maksimal. Nilai rendemen ekstrak penting diketahui karena diasumsikan semakin tinggi nilai rendemen semakin banyak ekstrak yang diperoleh dan semakin banyak jumlah senyawa aktif yang terkandung (3,4).

Identifikasi senyawa kimia secara spektrofotometri menunjukkan bahwa ekstrak maserasi dan soxhletasi batang Termanas mengandung senyawa antibakteri flavonoid dan fenol. Senyawa golongan fenol sebagai senyawa antibakteri dapat mempengaruhi permeabilitas dinding sel dan membran sitoplasma sehingga menyebabkan makromolekul dan ion menjadi tidak seimbang dan akan terjadi lisis. Senyawa fenol juga akan menyebabkan koagulasi protein sehingga terjadi lisis pada membran sel. Selain itu, senyawa fenol yang masuk dalam sel bakteri menyebabkan presipitasi dan terjadi denaturasi protein (16). Sedangkan senyawa flavonoid bekerja menghambat fungsi membran sel dengan membentuk senyawa kompleks yang terlarut, sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan lisisnya senyawa intraseluler seperti asam nukleat dan protein (17). Diketahui juga gugus alkohol pada senyawa flavonoid akan merusak dinding sel bakteri (18).

Nilai kadar senyawa flavonoid (Tabel 2 dan 3) menunjukkan masing-masing 1,032 mgQE/g (0,0944%) dan 42,397 mgQE/g (4,239%) dan senyawa fenol dengan nilai masing-masing 9,873 mgGAE/g (0,981%) dan 88,390 mgGAE/g (8,839%). Kadar senyawa flavonoid dan fenol ekstrak soxhlet lebih besar daripada ekstrak maserasi erat kaitannya dengan besaran rendemen yang didapat saat proses ekstraksi.

Uji Aktivitas antibakteri ekstrak metanol batang Termanas dilakukan pada bakteri *Bacillus subtilis* FNCC 0059. Pada penelitian ini menggunakan metode mikrodilusi. Metode ini memiliki akurasi dan efisiensi lebih baik dan 30 kali lebih sensitif dibandingkan dengan metode difusi. Selain itu, metode mikrodilusi termasuk dalam metode semikuantitatif sehingga dapat secara langsung mengetahui konsentrasi hambat minimum (KHM) dari ekstrak uji (12). Penambahan *microtetrzolium* atau sering disebut uji MTT, dilakukan untuk mengetahui serta mengukur kemampuan sel bakteri berdasarkan biabilitas sel bakteri. Metode ini didasarkan pada reaksi kolorimetrik. Reagen MTT akan bereaksi dengan sel bakteri yang masih hidup kemudian dipecah melalui reaksi reduksi oleh system reduktase suksinat tetrazolium membentuk formazan yang menghasilkan warna ungu (19). Pertumbuhan bakteri dapat ditandai dengan terbentuknya warna ungu pada *well microplate*. Hasil uji aktivitas antibakteri ditunjukkan pada (Tabel 4) menunjukkan bahwa ekstrak metanol batang Termanas memiliki aktivitas antibakteri dengan nilai KHM 40 mg/mL pada ekstrak soxhletasi dan 80 mg/mL pada ekstrak maserasi. Hasil ini berkaitan dengan kadar senyawa flavonoid dan fenol dari ekstrak metanol batang Termanas. Nilai KBM ekstrak metanol batang Termanas (Gambar 3 dan 4)

menunjukkan hasil sebesar 40 mg/mL pada ekstrak soxhletasi dan 80 mg/mL pada ekstrak maserasi.

SIMPULAN DAN SARAN

Ekstrak metanol batang Termas dengan metode ekstraksi yang berbeda menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dilihat dari nilai KHM dan KBM. Ekstrak metanol batang Termas dengan metode soxhletasi memiliki nilai KHM dan KBM yang lebih besar dari pada metode maserasi, yaitu sebesar 40 mg/mL (KHM dan KBM).

Diharapkan penelitian selanjutnya dapat dilakukan pengujian pada mekanisme antibakteri dari ekstrak metanol batang Termas terhadap *Bacillus subtilis*.

DAFTAR PUSTAKA

1. WHO. WHO reveals leading causes of death and disability worldwide: 2000–2019. Retrieved Febr. 2020;21:2021.
2. Sudarwati TPL, Fernanda MA. Aktivitas Antibakteri Daun Pepaya (*Carica papaya*) Menggunakan Pelarut Etanol Terhadap Bakteri *Bacillus subtilis*. *J Pharm Sci*. 2018;3(2).
3. Cortesão M, Fuchs FM, Commichau FM, Eichenberger P, Schuerger AC, Nicholson WL, et al. *Bacillus subtilis* Spore Resistance to Simulated Mars Surface Conditions. *Front Microbiol*. 2019;10(FEB):1–16.
4. Galm U, Shen B. Natural Product Drug Discovery: The Times Have Never Been Better. *Chem Biol*. 2007;14(10):1098–104.
5. Yakubu AH, Mohammed MM, Bababe AB, Braimah HY. Phytochemical Screening, Antioxidant and Antibacterial Activities of the Root Extract of *Cyphostemma adenocaula* (Steud. ex A. Rich.) Wild & R.B.Drumm. *Biol Med Nat Prod Chem*. 2021;10(2):105–10.
6. Vijayashalini P, Jayanthi G, Abirami P. Survey of the traditional medicinal plants at Vanavasi hill of Salem district. *J Med Plants Stud*. 2017;5(2):331–5.
7. Perdido RI, Infante J, Fesalbon W, Tanalas L. Genotoxicity Of Mentawan (*Poikilospermum suaveolens*) Extracts Using The *Allium Cepa* Assay. In: The 4th International Scholar Conference-University of Klabat. 2016. p. 128.
8. Hartati H, Habil M, Suryani AI, ... Analisis Fitokimia Ekstrak Tumbuhan *Poikilospermum suaveolens*. *Semin Nas Biol [Internet]*. 2020;365–70. Available from: <https://ojs.unm.ac.id/semnasbio/article/view/15304>
9. Hapid A, Napitupulu M, Zubair MS. Phytochemical Screening, GC-MS Analysis, Toxicity and Antimicrobial Properties of Extracts Outer Shell *Poikilospermum suaveolens* (Blume) Merr. *Int J Res Innov Appl Sci*. 2021;06(09):111–7.
10. Bandy NA. Analisis Fitokimia Ekstrak Daun Bajakah (*Poikilospermum suaveolens* (Blume) Merr) dari Desa Kapiro Kecamatan Palolo Kabupaten Sigi Provinsi Sulawesi Tengah. *J War Rimba*. 2021;9(2006):31–41.
11. Kemenkes RI. Farmakope Herbal Indonesia Edisi II. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2017. 1–561 p.
12. Aristyawan AD, Sugijanto NE, Suciati S. Potensi Antibakteri dari Ekstrak Etanol Spons *Agelas cavernosa*. *J Farm Dan Ilmu Kefarmasian Indones*. 2018;4(1):39.
13. Mulyaningsih S, Sporer F, Reichling J, Wink M. Antibacterial Activity of Essential oils from *Eucalyptus* and of Selected Components against Multidrug-resistant Bacterial Pathogens. *Pharm Biol*. 2011;49(9):893–9.
14. Irvan, Putra B. Manday, Januar Sasmitra. Ekstraksi 1,8-Cineole Dari Minyak Daun *Eucalyptus Urophylla* Dengan Metode Soxhletasi. *J Tek Kim USU*. 2015;4(3):52–7.
15. Hasnaeni, Wisdawati, Usman. S. Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Rendemen Dan Kadar Fenolik Ekstrak Tanaman Kayu Beta-Beta (*Lunasia amara Blanco*). *J Farm Galen (Galenika J Pharmacy)*. 2019;5(2):166–74.
16. Ngazizah FN, Ekowati N, Septiana AT. Potensi Daun Trembilungan (*Begonia hirtella Link*) sebagai Antibakteri dan Antifungi. *Biosfera*. 2017;33(3):126.
17. Nomer NMGR, Duniaji AS, Nociantiri KA. Kandungannya Senyawa Flavonoid dan Antosianin Ekstrak Kayu Secang (*Caesalpinia sappan L.*) Serta Aktivitas Antibakteri Terhadap *Vibrio cholerae*. *J Ilmu dan Teknol Pangan*. 2019;8(2):216.
18. Marfuah I. Kajian Potensi Ekstrak Anggur Laut (*Caulerpa racemosa*) Sebagai Antibakteri Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *J Peng Biotek Has Pi*. 2018;7(1):2442–4145.
19. Nurani LH, Widyarini S, Mursyidi A. Uji Sitotoksik Dan Uji Kombinasi Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Akar Pasak Bumi (*Eurycoma Longifolia Jack.*) Dan Doksorubisin Pada Sel Limfosit. *J Trop Pharm Chem*. 2015;3(2):138–47.

