

Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Pegagan Terhadap Bakteri *Micrococcus luteus* Diisolasi dari Dermatitis Kompleks Anjing

(EFFECTIVENESS OF ETANOL PEGAGAN LEAF EXTRACT ON MICROCOCCUS LUTEUS BACTERIA INSERTED FROM DERMATITIS COMPLEX DOG)

Ni Putu Arie Megariyanthi¹, I Gede Wirawan¹, I Nyoman Suartha²,
Luh Made Sudimartini³

¹Mahasiswa Program Pendidikan Dokter Hewan

²Laboratorium Ilmu Penyakit Dalam Veteriner

³Laboratorium Farmakologi dan Farmasi Veteriner

Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana,

Jl. P.B. Sudirman, Denpasar, Bali, Indonesia, 80234; Telp/Fax: (0361) 223791

e-mail: nyoman_suartha@unud.ac.id

ABSTRAK

Obat tradisional telah menjadi pilihan alternatif yang digunakan sebagai pengobatan penyakit di beberapa belahan dunia seperti India, Cina, termasuk Indonesia untuk menangani penyakit pada manusia maupun hewan salah satunya adalah penggunaan tanaman pegagan (*Centella asiatica*). Komponen aktif pegagan telah terbukti memiliki aktivitas antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya hambat ekstrak daun pegagan terhadap *Micrococcus luteus* yang diisolasi dari kasus dermatitis kompleks pada anjing. Konsentrasi 0% sebagai kontrol negatif (Tween 2%) dan ekstrak daun pegagan konsentrasi 5%, 10%, dan 25% serta kanamycin sebagai kontrol positif telah disiapkan. Setiap 0,2uL dari masing-masing konsentrasi ekstrak pegagan dimasukkan ke dalam sumuran dengan diameter 5 mm pada *Mueller Hinton Agar* yang telah diinokulasi *M. luteus*. Setelah inkubasi selama 24 jam, diameter zona hambat diukur dan dianalisa. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun pegagan secara signifikan mampu menghambat pertumbuhan *M.luteus* (P<0,01). Rataan zona hambat yang terbentuk pada konsentrasi 0%, 5%, 10% dan 25% secara berurutan adalah 0,0 mm; 3,0 mm; 4,5 mm; dan 5,5 mm berbeda sangat nyata. Disimpulkan bahwa ekstrak daun pegagan mampu menghambat *M. luteus* dan konsentrasi ekstrak daun pegagan yang berbeda mempengaruhi penghambatan *M. luteus*.

Kata-kata kunci: *M. luteus*, dermatitis kompleks, daun pegagan (*Centella asiatica* L. Urb.)

ABSTRACT

Traditional medicine has become an alternative choice that is used as a treatment of diseases in some parts of the world such as India, China, including Indonesia to handle diseases in humans and animals one of them is the use of *Centella asiatica* (*C.asiatica*). Active components of *C. asiatica* have been shown to have antibacterial activity. This study aims to determine the inhibitory power of *C. asiatica* leaf extract to *Micrococcus luteus* isolated from dog skin with case of complex dermatitis. Concentration of 0% as a negative control (Tween 2%) and *C. asiatica* leaf extract concentration of 5%, 10%, and 25% and kanamycin as a positive control were. Each 0.2 µL of each concentration of *C. asiatica* extract was inserted into a well with a diameter of 5 mm in *Mueller Hinton Agar* which had been inoculated with *M. luteus*. After incubation for 24 hours, the *hallo* is measured and analyzed. The results showed that *C. asiatica* leaf extract significantly able to inhibit the growth of *M. luteus* (P <0.01). The *hallo* formed at 0%, 5%, 10% and 25% were 0.0 mm, 3.0 mm, 4.5 mm, and 5.5 mm respectively and were statistically very different. The conclusion is leaf extract of *C. asiatica* able to inhibit *M. luteus* and different concentration of *C. asiatica* leaf extract influence the inhibition of *M. luteus*.

Keywords: *Micrococcus Luteus*, Complex Dermatitis, Pegagan Leaves (*Centella asiatica* L. Urb.)

PENDAHULUAN

Anjing sangat dekat dengan kehidupan manusia. Anjing memerlukan lingkungan hidup yang bersih dan sehat agar tidak mudah terserang oleh agen penyakit. Salah satu bagian tubuh anjing yang rentan terserang penyakit yaitu adalah kulit (Widyastuti *et al.*, 2012). Kulit merupakan bagian tubuh paling luar yang memiliki fungsi utama sebagai pelindung tubuh, sehingga kulit dapat dengan mudah terpapar oleh agen infeksi berupa bakteri dan jamur. Penyakit kulit ini sering disebut dengan dermatitis kompleks. Dermatitis kompleks merupakan peradangan pada kulit yang dapat disebabkan oleh gabungan agen infeksi seperti bakteri, jamur, parasit, dan virus, juga dapat disebabkan oleh gangguan metabolisme tubuh. Salah satu agen infeksi dermatitis kompleks yang umum yaitu bakteri. Bakteri penyebab dermatitis kompleks pada anjing sangat banyak, dan tidak menutup kemungkinan agen bakteri tersebut merupakan flora normal pada kulit, misalnya bakteri *Micrococcus luteus*. Bakteri ini umumnya dianggap sebagai bakteri *commensal* yang ditemukan pada kulit, mukosa, dan orofaring. Meskipun bakteri ini merupakan flora normal pada kulit, pada pasien penderita immunocompromised, bakteri *M. luteus* dapat menjadi patogen oportunistik (Peces *et al.*, 1997).

Pegagan (*Centella asiatica*) merupakan salah satu tanaman herbal yang banyak terdapat di negara-negara subtropis di seluruh dunia. Pegagan banyak digunakan sebagai tanaman herbal yang dapat dijadikan sebagai alternatif obat tradisional dan sudah digunakan sejak zaman dahulu untuk mengobati penyakit kulit dan menyembuhkan luka (Singh *et al.*, 2010). Pegagan memiliki zat aktif seperti *saponin* yang berupa *asiaticoside* (Sujono *et al.*, 2014), *triterpenoid*, minyak esensial, *alkaloid*, *flavonoid*, polisakarida, dan asam amino yang dapat digunakan sebagai pengobatan penyakit. Zat aktif pegagan yang berperan penting dalam penyembuhan luka bakar adalah *saponin* yang berupa *asiaticoside* sedangkan zat aktif yang berperan sebagai antibakteri dalam pegagan adalah *flavonoid* dan *alkaloid* (Sujono *et al.*, 2014). Menurut Josi dan Chaturvedi (2013) zat aktif kandungan pegagan berupa *madecassoside acid* dan *asiaticoside* berperan dalam peningkatan proliferasi, sintesis kolagen, angiogenesis dan epitelisasi pada bagian yang mengalami luka. *Asiaticoside* yang terkandung dalam daun pegagan merupakan salah satu zat aktif yang bekerja menginduksi aktivitas antioksidan pada tahap awal kesembuhan luka.

Kandungan zat aktif *flavonoid* dan *alkaloid* dalam pegagan sangat mempengaruhi tingkat efektivitas antibakteri. Jika konsentrasi yang digunakan semakin tinggi maka jumlah zat aktif yang terkandung juga akan semakin tinggi, sehingga ada kecenderungan semakin

tinggi konsentrasi yang digunakan maka akan semakin efektif ekstrak pegagan sebagai penghambat pertumbuhan bakteri *M. luteus*. Oleh sebab itu, penelitian yang dilakukan dengan menguji efektivitas ekstrak pegagan terhadap bakteri *M. luteus* dalam kasus dermatitis kompleks pada anjing, perlu dilakukan untuk mengembangkan ilmu pengetahuan tentang khasiat pegagan dan diharapkan mampu menjadi salah satu obat alternatif yang digunakan untuk mengobati penyakit dermatitis kompleks.

METODE PENELITIAN

Daun pegagan dipotong hingga berukuran 0,5 cm, dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Daun pegagan yang kering diblender sehingga menjadi serbuk halus. Serbuk daun pegagan direndam menggunakan larutan etanol selama 24 jam untuk proses ekstraksi. Hasil ekstraksi disaring menggunakan kertas saring Watman - GF227[®], untuk memisahkan bagian subsrat dan filtrat. Filtrat dievaporasi dengan evaporator bertujuan untuk menguapkan etanol sehingga diperoleh ekstrak daun pegagan yang siap digunakan untuk penelitian.

Media *Muller Hinton Agar* dibuat dengan memasukkan 125 mL aquabides dan 20 mg sediaan *Muller Hinton* ke dalam gelas *erlenmeyer* lengkap dengan *magnetic stirring* setelah itu campuran larutan dipanaskan dan dihomogenkan menggunakan *stirrer*. Kemudian media disterilkan dalam *autoclave*. Setelah itu dilanjutkan dengan menuang *Muller Hinton Agar* yang telah dingin ke dalam cawan petri dengan volume yang sama yaitu 20 mL pada setiap cawan petri yang akan digunakan.

Suspensi bakteri dibuat dengan cara menginokulasi 3-5 koloni bakteri *M. luteus* ke dalam 4-5ml media *boullion* yang kemudian diinkubasi menggunakan inkubator selama 2-5 jam pada suhu 37°C hingga tingkat kekeruhannya setara dengan *Mac Farland (MF)* 0,5 atau setara dengan 10⁸ kekeruhan bakteri yang bertujuan agar jumlah kepadatan sel bakteri yang digunakan dalam penelitian sama pada seluruh perlakuan, yang selanjutnya dikultur pada media *Muller Hinton Agar* dengan metode sebar.

Uji sensitifitas ini menggunakan modifikasi metode difusi lempeng agar (*Kirby Bauer*) menggunakan teknik sumuran. Tujuan utama pengujian *Kirby-Bauer* yaitu untuk mengevaluasi aktivitas antimikroba dari ekstrak yang digunakan, dimana agen *M. luteus* yang telah diisolasi dan diidentifikasi sebelumnya ditumbuhkan pada media *Muller Hinton agar* yang telah dibuat lubang atau sumuran menggunakan potongan besi steril. Suspensi bakteri *M. luteus* diinokulasi pada media *Muller Hinton Agar* secara merata dengan metode *swab* setelah itu sumuran yang dibuat sebelumnya diisi dengan ekstrak daun pegagan dengan

konsentrasi yang sudah di tentukan (5%, 10%, 25%) setiap sumuran diisi dengan volume sebanyak 0,2uL dan diberi label. *Plate* diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam. Hal ini memungkinkan dalam menentukan efek ekstrak dengan mengukur diameter zona hambat bakteri yang dihasilkan dari difusi agen ke media yang mengelilingi sumuran.

Data di analisis, dengan menggunakan sidik ragam, uji Beda Nyata Terkecil (BNT), dan analisis regresi untuk melihat hubungan antara besarnya konsentrasi ekstrak daun pegagan dan zona hambat yang dihasilkan (Sampurna dan Nindhia, 2008).

HASIL DAN PEMBAHASAN

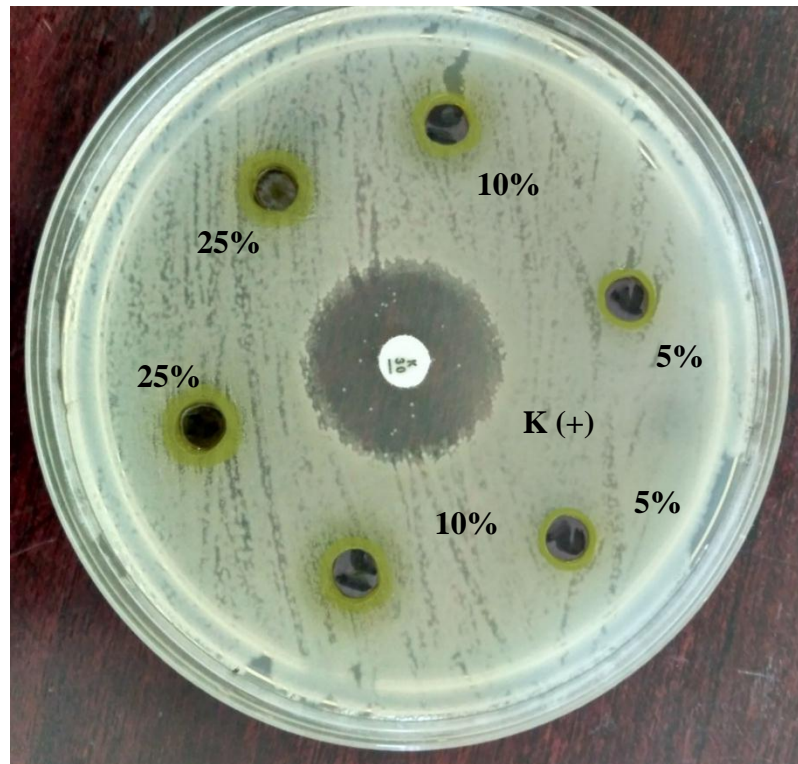
Hasil pengukuran zona hambat ekstrak pegagan (*Centella asiatica*) terdapat pada tabel 1 di bawah ini. Adapun pengamatan gambarnya terdapat pada gambar 1.

Tabel 1. Hasil Pengukuran Zona Hambat Masing-Masing Konsentrasi Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica*)

Zona Hambat Pertumbuhan Kumam (mm)						
Ulangan	Perlakuan	(K+)	(K-)			
		P ₁	P ₂	P ₃	P ₄	P ₅
1		22	0	1,2	1,2	2,0
2		22	0	1,6	1,7	1,9
3		22	0	1,0	3,3	4,8
4		22	0	1,4	3,2	4,6

Keterangan:

1. K (+) P₁ : *Kanamycin*
2. K (-) P₂ : Konsentrasi 0% (Kontrol negatif, Tween 2%)
3. P₂ : Konsentrasi 5%
4. P₃ : Konsentrasi 10%
5. P₄ : Konsentrasi 25%



Gambar 1. Hasil uji sensitifitas ekstrak daun pegagan konsentrasi 5%, 10%, 25% dan kanamycin

Efektivitas ekstrak daun pegagan (*C. asiatica*) terhadap pertumbuhan bakteri *M. luteus* dilakukan dengan metode agar well diffusion. Metode ini telah banyak digunakan untuk uji efektivitas (Arumugam *et al.*, 2011). Metode lain sudah dilaporkan adalah metode difusi kertas cakram Kirby-bauer. Pada semua metode pengujian sensitivitas suatu bakteri pada antibiotik ditentukan dengan mengukur diameter zona hambat bakteri yang terbentuk.

Ekstrak daun pegagan berpengaruh sangat nyata dalam menghambat pertumbuhan bakteri *M. luteus*. Lebar zona hambat di sekitar masing-masing sumuran tergantung atas konsentrasi ekstrak daun pegagan. Peningkatan zona hambat pertumbuhan bakteri berbeda sangat nyata ($P < 0,01$) pada konsentrasi 0% dengan 5%, 10%, dan 25%. Konsentrasi 5% dengan 10% menunjukkan peningkatan zona hambat pertumbuhan bakteri tidak berbeda nyata ($P > 0,05$). Konsentrasi 5% dengan 25% terlihat pertumbuhan bakteri berbeda nyata ($P < 0,05$). Sedangkan konsentrasi pegagan 10% dengan 25% tidak berbeda nyata ($P > 0,05$). Diameter zona hambat bakteri terlebar ada pada konsentrasi 25% yaitu 3,32 mm (Tabel 2). Kemampuan daya hambat ekstrak daun pegagan juga dengan metode yang sama pada *Staphylococcus aureus* yang diisolasi dari manusia telah dilakukan oleh Ashella *et al.* (2016)

dan terhadap bakteri *Bacillus subtilis* yang juga diisolasi dari manusia oleh Dash *et al.* (2011) dilaporkan konsentrasi ekstrak daun pegagan yang berbeda mempengaruhi zona hambat. Semakin besar konsentrasi maka makin lebar zona hambat yang terbentuk.

Tabel 2. Rataan Diameter Zona Hambatan Ekstrak Daun Pegagan (*C. asiatica*) pada konsentrasi yang digunakan dan kontrol positif (kanamycin)

Konsentrasi dan Kontrol positif	N	Rataan Zona Hambat ± Std. Deviation (mm)
<i>Kanamycin</i>	4	22,00 ± 0,00 ^a
0	4	0,00 ± 0,00 ^b
5	4	1,30 ± 0,25 ^c
10	4	2,35 ± 1,05 ^d
25	4	3,32 ± 1,59 ^e
Total	16	5,79 ± 8,42

Ket: Huruf yang berbeda ke arah kolom menunjukkan perbedaan besar diameter zona hambat yang sangat nyata ($P < 0,01$).

Konsentrasi ekstrak daun pegagan memberikan pengaruh yang sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap pertumbuhan bakteri *M. luteus*, sehingga hubungan antara pengaruh konsentrasi ekstrak daun pegagan dengan masing-masing zona hambat yang terbentuk didapatkan persamaan $Y = -2,721 + 1,397K - 0,008K^2$ dan koefisien kolerasi sebesar $R = 0,828$. Y merupakan zona hambat *M. luteus* yang terbentuk dan K merupakan konsentrasi ekstrak daun pegagan. Hal ini menunjukkan bahwa masing-masing konsentrasi ekstrak daun pegagan memiliki perbedaan pada zona hambat yang ditimbulkan. Semakin tinggi kadar zat aktif (*flavonoid, alkaloid*) pada ekstrak daun pegagan maka semakin besar pula aktivitas daya anti bakterinya. Ashella *et al.*, (2016) menyebutkan bahwa hal ini menunjukkan ada kecenderungan semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun pegagan, zona hambat yang terbentuk akan semakin besar.

Daya hambat bakteri diakibatkan oleh *flavonoid* dan *alkaloid* yang terkandung dalam ekstrak daun pegagan. Senyawa *alkaloid* merupakan senyawa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen yang biasanya dalam bentuk gabungan (Arumugam *et al.*, 2011). *Alkaloid* dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan gram negatif (Karou *et al.*, 2006). Kemampuan senyawa *alkaloid* sebagai anti bakteri sangat dipengaruhi oleh keaktifan biologis senyawa tersebut. Senyawa *alkaloid* memanfaatkan sifat reaktif gugus basa dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

SIMPULAN

Ekstak daun pegagan (*Centella asiatica*) mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Micrococcus luteus* penyebab dermatitis kompleks pada anjing. Konsentrasi ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica*) yang menunjukkan zona hambat paling lebar adalah konsentrasi 25%.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih ditujukan kepada Kementerian Ristekdikti atas bantuan dana melalui hibah penelitian Unggulan Perguruan Tinggi melalui LPPM Universitas Udayana dengan kontrak No: 486.40/UN.14.2/PNL.01.03.00/2016 dan Balai Besar Veteriner Denpasar, Bali.

DAFTAR PUSTAKA

- Arumugam T, Ayyanar M, Pillai YJK, Sekar T. 2011. Phytochemical screening and antibacterial activity of leaf and callus extracts of *Centella asiatica*. *Bangladesh J Pharmacol* 6: 55-60.
- Ashella S, Albin T, Fleming. 2016. Antimicrobial Activity of Asiatic Acid against Bacteria and Fungi. *International Journal of Science and Research (IJSR)* 5(8): 2319-7064.
- Dash BK, Faruquee HM, Biswas SK, Alam MK, Sisir SM, Prodhan UK. 2011. Antibacterial and Antifungal Activities of Several Extracts of *Centella asiatica* L. against Some Human Pathogenic Microbes. *Life Sciences and Medicine Research* 2011.
- Josi K, Chaturvedi P. 2013. Therapeutic Efficiency Of *Centella Asiatica* (L.) Urb. An Underutilized Green Leafy Vegetable: An Overview. *Int J Pharm Bio Sci* 4(1): 135-149.
- Karou DA, Antonella CS, Alfred YST. 2006. Antibakterial Activitiof Fenom Alkaloid from The Imported Fire and Solepnosis Invicta Buren. *Amerikan Society for Microbiology* 2(4): 291-293.
- Peces R, Gago E, Tejada F, Laures AS, Grande AJ. 1997. Relapsing bacteraemia due to *Micrococcus luteus* in a haemodialysis patient with a Perm-Cath catheter. *Nephrol Dial Trasplant* 12:2428-2429.
- Sampurna IP, Nindhia TS. 2015. *Bahan Ajar Biostatistika*. Denpasar: Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana
- Singh S, Gautam A, Sharma A, Batra A. 2010. *Centella Asiatica* (L.): A Plant With Immense Medicinal Potential But Threatened. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research* 4(2).
- Sujono TA, Hidayah UNW, Sulaiman TNS. 2014. Efek Gel Ekstrak Herba Pegagan (*Centella Asiatica* L. Urban) dengan Gelling Agent *Hidroksipropil Methylcellulose* Terhadap Penyembuhan Luka Bakar pada Kulit Punggung Kelinci. *Biomedika Universitas Gajah Mada* 6(2).
- Widyastuti SK, Dewi NMS, Utama IH. 2012. Kelainan Kulit Anjing Jalanan pada Beberapa Lokasi di Bali. *Buletin Veteriner Udayana* 4(2):81-86.