

## Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Akar Tawas Ut (*Ampelocissus Rubiginosa Lauterb*) pada *Eschericia Coli* dan *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro

### In Vitro Antibacterial Test of Ethanol Extract of Ut Tawas Root (*Ampelocissus Rubiginosa Lauterb*) on *Eschericia Coli* and *Staphylococcus aureus*

Eka Khaharap<sup>1\*</sup>

Magister Farmasi, Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta, Daerah Istimewa Yogyakarta, Indonesia

\*email:  
[ekakhaharap@gmail.com](mailto:ekakhaharap@gmail.com)

#### Abstrak

Penggunaan antibiotik sebagai pengendali pertumbuhan bakteri memiliki dampak negatif yaitu resistensi. Dimulailah untuk mencari bahan alternatif dari alam antara lain Saponin, flavonoid, katekin dan tanin diketahui terkandung pada akar tawas ut (*Ampelocissus rubiginosa Lauterb*). Tanaman ini telah dimanfaatkan secara empiris oleh masyarakat Kalimantan Tengah yakni sebagai obat luka dan diare. Khasiat akar tawas ut secara ilmiah belum dibuktikan. Khasiat antibakteri tanaman tersebut berpotensi sebagai sumber senyawa antibakteri pertumbuhan *E. coli* dan *S. aureus* secara in vitro. Metode penelitian yang digunakan menggunakan metode Pengujian Antibakteri Kirby Bauer. Ekstrak etanol akar tawas ut memiliki daya antibakteri terhadap *E. coli* dan *S. aureus*, dengan perlakuan konsentrasi ekstrak 250 mg·ml<sup>-1</sup> memberikan nilai rata-rata zona bening tertinggi sebesar 12,33 mm pada *E. coli* maupun *S. aureus*, serta mampu memberikan zona bening dengan konsentrasi terendah 12,5 mg·ml<sup>-1</sup> sebesar 11,33 mm pada *E. coli* dan 11,67 mm pada *S. aureus*. Konsentrasi hambat minimum (MIC) ekstrak etanol akar tawas ut pada *E. coli* maupun *S. aureus* yaitu sebesar 15,6 mg·ml<sup>-1</sup>.

#### Kata Kunci:

Uji Antibakteri  
Akar Tawas Ut  
*Eschericia Coli*  
*Staphylococcus Aureus*  
In Vitro

#### Keywords:

Antibacterial Test  
Ut Tawas Root  
*Eschericia Coli*  
*Staphylococcus Aureus*  
In Vitro

#### Abstract

The used of antibiotics to control bacterial growth has a negative impact such as antibiotics resistance. Began to look for alternative materials from nature, including saponins, flavonoids, catechins and tannins which are known to be contained in the roots of Tawas Ut (*Ampelocissus rubiginosa Lauterb*). This plant has been used empirically by the people of Central Kalimantan, namely as a medicine for wounds and diarrhea. The efficacy of alum root has not been scientifically proven. The antibacterial properties of this plant have the potential as a source of antibacterial compounds for the growth of *E. coli* and *S. aureus* in vitro. The research method used was the Kirby Bauer Antibacterial Testing method. The ethanol extract of alum ut root has antibacterial activity against *E. coli* and *S. aureus*, with an extract concentration of 250 mg·ml<sup>-1</sup> giving the highest average clear zone value of 12.33 mm in *E. coli* and *S. aureus*, and was able to give a clear zone with the lowest concentration of 12.5 mg·ml<sup>-1</sup> of 11.33 mm in *E. coli* and 11.67 mm in *S. aureus*. The minimum inhibitory concentration (MIC) of ut alum root ethanol extract on *E. coli* and *S. aureus* was 15.6 mg·ml<sup>-1</sup>.



© 2023 The Authors. Published by Institute for Research and Community Services Universitas Muhammadiyah Palangkaraya. This is Open Access article under the CC-BY-SA License (<http://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>). DOI: <https://doi.org/10.33084/jsm.v9i1.5197>.

## PENDAHULUAN

Bakteri patogen menyebabkan penyakit bahkan dapat mengakibatkan kematian pada inang yang terinfeksi. *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli* termasuk bakteri patogen. *Staphylococcus aureus* merupakan penyebab utama infeksi kulit dan jaringan lunak, sedangkan strain patogenik *Eschericia coli* dapat menyebabkan beberapa infeksi antara lain infeksi saluran kemih, meningitis neonatal, dan infeksi saluran pencernaan (Wilson, 2004; Todar, 2008).

Penanganan penyakit yang disebabkan oleh bakteri patogen salah satunya dengan mengendalikan pertumbuhan bakteri tersebut. Pengobatan menggunakan suatu senyawa kimia bersifat antibakteri merupakan salah satu upaya pengendalian pertumbuhan bakteri tersebut (Madigan & Martinko, 2006). Antibiotik yang selama ini digunakan antara lain penisilin dan streptomisin. (Projan & Shlaes, 2004).

Penggunaan antibiotik sebagai pengendali pertumbuhan bakteri memiliki dampak negatif yaitu resistensi. Kondisi

resistensi bakteri tidak sensitif lagi terhadap antibiotik. Hal ini ditandai antibiotik tidak lagi dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Martin, 2008). Penggunaan antibiotik secara tepat diperlukan untuk menghindari resistensi. Tindak lanjut jangka panjang dapat dilakukan dengan penelitian untuk mendapatkan obat-obat antibakteri baru selain antibiotik yang lebih efektif (Madigan & Martinko, 2006).

Usaha untuk mendapatkan obat antibakteri baru salah satunya dengan pendekatan mikrobiologi melalui metode uji kerentanan bakteri terhadap suatu bahan. Bahan uji dapat berasal dari tanaman yang diekstrak dan kemudian diuji terhadap bakteri patogen. Bahan dari *Phyllanthus amarus* yakni ekstrak etanol daun, dilaporkan memiliki daya antibakteri terhadap *S. aureus* dan *E. coli* dengan nilai MIC masing-masing  $10 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$  dan  $50 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$  (Adegoke et al., 2010). Ekstrak etanol daun *Phyllanthus amarus* teruji positif mengandung senyawa saponin dan tanin. Pada pengujian antibakteri ekstrak metanol kulit batang *Croton zambesicus* oleh Reuben et al., (2008) didapatkan bahwa nilai MIC untuk *S. aureus* dan *E. coli* sebesar  $1,560 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ . Ekstrak metanol kulit batang *Croton zambesicus* positif mengandung senyawa saponin dan flavonoid.

Saponin, flavonoid, katekin dan tanin diketahui terkandung pada akar tawas ut (*Ampelocissus rubiginosa* Lauterb.) (Latifah, 2011). Tanaman ini telah dimanfaatkan secara empiris oleh masyarakat Kalimantan Tengah yakni sebagai obat luka dan diare. Paparan bakteri dapat terjadi pada luka maupun diare sehingga dimungkinkan tawas ut berkhasiat menghambat pertumbuhan bakteri.

Khasiat akar tawas ut secara ilmiah belum dibuktikan, khususnya khasiat antibakteri. Tanaman tersebut berpotensi sebagai sumber senyawa antibakteri dan perlu dikaji secara ilmiah sehingga penggunaannya sebagai obat dapat dikembangkan. Gambaran khasiat antibakteri ekstrak etanol akar tawas ut pertumbuhan *E. coli* dan *S. aureus* secara in vitro dibahas secara khusus

sebagai inovasi pada tulisan ini guna mendukung data-data ilmiah tanaman tersebut.

Berdasarkan penjabaran tersebut penulis menuangkan kedalam 2 (dua) topik kajian yaitu sifat antibakteri ekstrak etanol akar tawas ut (*Ampelocissus rubiginosa* Lauterb) memiliki terhadap *E. coli* dan *S. aureus* secara in vitro dan konsentrasi hambat minimum (MIC: *minimum inhibitory concentration*) ekstrak etanol akar tawas ut yang efektif menghambat pertumbuhan *E. coli* dan *S. aureus* secara in vitro.

## METODOLOGI

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah batang pengaduk, bunsen, petri, corong kaca, gelas arloji, gelas beker, gelas ukur, kaca objek, tabung reaksi, rak tabung, *spreader*, ose, *magnetic stirrer*, penggaris, penjepit kayu, jarum Ose, pinset, pisau, pipet mikro Eppendorf® 1000  $\mu\text{l}$  & 200  $\mu\text{l}$ , pipet volumetrik, hemasitometer, bejana maserasi, *blender*, neraca analitik Ohaus®, *hot plate stirrer* Cimarex®, otoklaf All American 25X®, oven Thermoline®, inkubator Labline®, kamera digital, *laminary air flow* ESCO® *horizontal*, mikroskop Olympus®, *refrigerator* Lab-Line, *vacuum rotary evaporator*, *vortex mixer* VM300® dan *waterbath*.

Bahan uji yang digunakan yakni akar tanaman tawas ut yang diperoleh dari Palangka Raya, Kalimantan Tengah. Bagian tanaman yang diambil yakni akar tanaman sebanyak 0,5 kg. Bahan lainnya yang digunakan pada penelitian ini adalah biakan bakteri *E. coli* dan *S. aureus*, media Nutrien Agar (NA) Merck®, media Nutrien Broth (NB) Merck®, media Mueller Hinton Agar (MHA) Oxoid®, *carboxymethyl cellulose* (CMC) Brataco®, alkohol 70%, cakram kertas antibiotik (*oxacillin* 1  $\mu\text{g}$ , ampicilin 10  $\mu\text{g}$ , siprofloksasin 5  $\mu\text{g}$ ; kloramfenikol 30  $\mu\text{g}$ ), cakram kertas kosong diameter 6 mm, etanol 96%, detergen, aluminium foil, plastik pembungkus (*seal*), kertas saring, kertas label, kertas pembungkus dan akuades.

## **Prosedur Kerja**

### **Metode ekstraksi**

Akar tawas ut disortasi, kemudian dicuci bersih. Akar yang telah bersih dipotong menjadi haksel dan dikering-anginkan setiap pagi sebelum pukul 10.00 WITA sampai kering. Haksel kering disortasi. Haksel akar tawas ut ini kemudian diserbukkan hingga didapatkan serbuk akar tawas ut yang akan diekstraksi.

Serbuk simplisia akar tawas ut dimasukkan dalam bejana maserasi, kemudian ditambahkan pelarut etanol 96% hingga sampel terendam setinggi 2 cm. Larutan ekstraksi didiamkan selama 3 hari sambil sesekali diaduk. Cairan penyari diganti setiap 24 jam. Penggantian pelarut dengan menyaring campuran sehingga didapatkan ekstrak etanol cair. Ekstrak etanol cair yang terkumpul diuapkan dengan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 50°C. Ekstrak hasil penguapan tersebut disebut dengan ekstrak kental yang kemudian diuapkan di atas *waterbath* sampai diperoleh ekstrak kering disebut dengan ekstrak etanol.

### **Pembuatan cakram kertas uji**

Ekstrak etanol akar tawas ut sebanyak 2,5 g dilarutkan dengan larutan CMC 0,1% hingga 10 mL sehingga diperoleh ekstrak dengan konsentrasi 250 mg·ml<sup>-1</sup>. Selanjutnya dilakukan pengenceran bertingkat sehingga didapatkan larutan konsentrasi 250, 200, 150, 100, 50, 25 dan 12,5 (mg·ml<sup>-1</sup>) yang masing-masing diteteskan dengan pipet mikro sebanyak 60 µL ke cakram kertas kosong berdiameter 6 mm dalam tabung reaksi steril. Cakram kertas berisi zat uji didiamkan selama 24 jam sebelum digunakan.

#### *1.3 Pengujian antibakteri metode Kirby Bauer*

Kultur bakteri disuspensikan dengan aquades steril hingga keenceran menyamai standar Mc Farland 0,5 (suspensi mengandung 1 hingga 2 × 10<sup>8</sup> CFU tiap mL). Suspensi digoreskan pada media MHA dalam cawan petri hingga rata. Cakram kertas uji diletakkan pada media dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 16-18 jam. Interpretasi hasil pengujian yakni ada atau tidaknya zona bening disekitar cakram kertas. Diameter zona yang

terjadi diukur dalam skala milimeter menggunakan penggaris (*Clinical and Laboratory Standards Institute, 2006*). Hasil pengukuran rerata zona bening perlakuan ekstrak dan kontrol dihitung rasio penghambatan.

#### *1.4 Pengujian antibakteri metode macro broth dilution*

Larutan ekstrak konsentrasi 125; 62,5; 31,25 dan 15,6 (mg·ml<sup>-1</sup>) dibuat secara pengenceran bertingkat dengan pelarut CMC 0,1%. Biakan bakteri dari agar miring disuspensikan dengan aquades steril hingga keenceran menyamai standar Mc Farland 0,5 (suspensi mengandung 1 hingga 2 × 10<sup>8</sup> CFU tiap mL). Larutan ekstrak masing-masing sebanyak 0,5 mL dicampurkan dengan 0,4 mL media NB dan 0,1 mL suspensi bakteri. Kontrol positif yakni media NB. Kontrol negatif dari campuran 0,1 mL suspensi bakteri dan 0,9 mL media NB. Kontrol ekstrak yakni larutan ekstrak masing-masing konsentrasi sebanyak 0,5 mL ditambahkan 0,5 mL media NB. Inkubasi dilakukan selama 18 jam pada suhu 37°C (Dwi, 2007).

Pengamatan dilakukan melalui perhitungan jumlah bakteri dengan alat hemasitometer (lampiran 6). Parameter perhitungan dengan metode TPC (*total plate count*) yakni sebanyak 0,1 mL tiap larutan diinokulasi dan diinkubasi dengan media MHA.

Penelitian ini menggunakan rancangan percobaan dengan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan beberapa faktor yaitu terdiri atas 7 variabel perlakuan konsentrasi ekstrak 250, 200, 150, 100, 50, 25 dan 12,5 (mg·ml<sup>-1</sup>). Kontrol negatif menggunakan cakram kertas yang ditetesi 60 µL larutan CMC 0,1%. Kontrol positif menggunakan cakram kertas antibiotik. Sifat antibakteri kontrol positif dijabarkan *susceptible*, *intermediate*, atau *resistant* sesuai dengan jenis bakteri uji menurut standar *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (2011)*. Tiap perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali dan masing-masing ulangan dilakukan secara duplo.

**Tabel 1.** Perlakuan kontrol positif antibiotik

<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
Siprofloksasin 5 µg	Siprofloksasin 5 µg
Ampisilin 10 µg	<i>Oxacillin</i> 1 µg
Kloramfenikol 30 µg	Kloramfenikol 30 µg

Analisis data menggunakan SPSS *Statistic* 17. Data yang diperoleh dari perlakuan 7 konsentrasi ekstrak dan kontrol pada masing-masing bakteri diuji kehomogenan ragam dengan uji ragam statistik Levene. Data homogen dianalisis *one way anova* dengan taraf kepercayaan 95% ( $\alpha = 5\%$ ). Data tidak homogen diuji secara non parametrik metode Kruskal-Wallis. Analisis yang memberikan perbedaan secara nyata antara perlakuan dilakukan uji lanjutan untuk menyatakan kelompok perlakuan menggunakan uji jarak berganda Duncan.

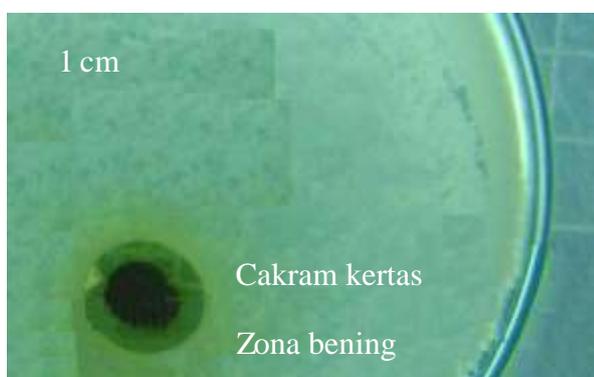
**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**Hasil ekstraksi**

Ekstrak kering yang didapatkan dari metode ekstraksi sebanyak 147 gram. Rendemen ekstrak etanol akar tawas ut yang didapatkan sebesar 25,88%.

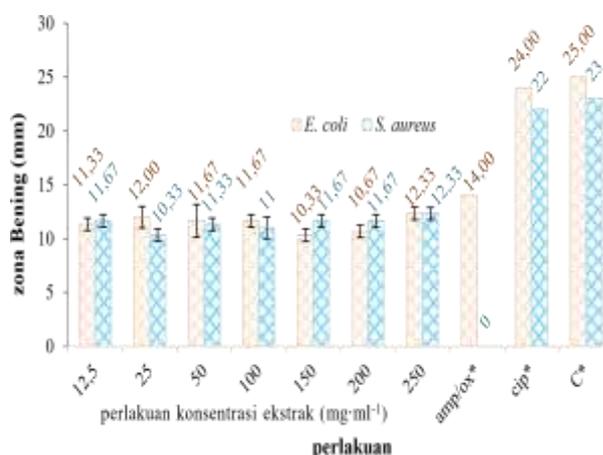
**1.2 Hasil pengujian antibakteri metode Kirby Bauer**

Hasil pengujian antibakteri ekstrak etanol akar tawas ut terhadap bakteri *E.coli* dan *S. aureus* (lampiran 2) memperlihatkan sifat antibakteri yaitu adanya zona bening yang terbentuk pada uji masing-masing bakteri (gambar 1).



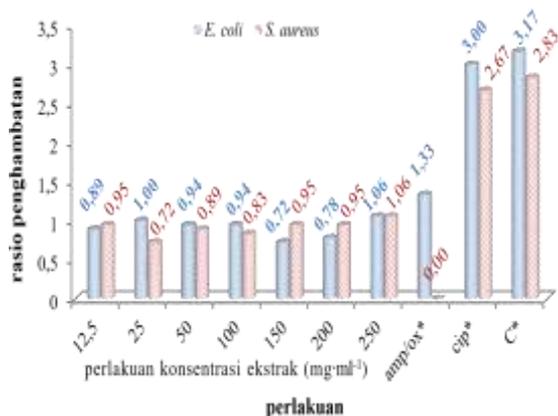
**Gambar 1.** Zona bening yang terbentuk pada *E. coli* yang diberikan cakram kertas berisi 60 µL ekstrak tawas ut 12,5 mg·ml<sup>-1</sup>

Data zona bening bervariasi untuk masing-masing konsentrasi (gambar 2). Rerata zona bening untuk *E.coli* menunjukkan diameter terbesar pada konsentrasi 250 mg·ml<sup>-1</sup> yaitu 12,33 mm; sedangkan rerata diameter zona bening terkecil pada konsentrasi ekstrak 150 mg·ml<sup>-1</sup> yaitu 10,33 mm. Rerata zona bening untuk *S. aureus* menunjukkan diameter terbesar pada konsentrasi 250 mg·ml<sup>-1</sup> yaitu 12,33 mm; sedangkan rerata diameter zona bening terkecil pada konsentrasi ekstrak 25 mg·ml<sup>-1</sup> yaitu 10,33 mm.



**Gambar 2** Grafik zona bening yang terbentuk terhadap perlakuan ekstrak dan kontrol dengan bakteri uji *E. coli* dan *S. aureus*. Bar pada masing-masing kolom menunjukkan standar deviasi (\*: kontrol ampisilin/ *oxacillin* (amp/ox), siprofloksasin (cip), kloramfenikol (C)).

Perhitungan rasio penghambatan bervariasi untuk masing-masing perlakuan ekstrak (gambar 9). Rasio penghambatan pada *E. coli* menunjukkan nilai terbesar pada konsentrasi 250 mg·ml<sup>-1</sup> yaitu 1,06; sedangkan nilai terkecil rasio penghambatan pada konsentrasi 150 mg·ml<sup>-1</sup> yaitu 0,72. Rasio penghambatan pada *S. aureus* menunjukkan nilai terbesar pada konsentrasi 250 mg·ml<sup>-1</sup> yaitu 1,06; sedangkan nilai terkecil rasio penghambatan pada konsentrasi 25 mg·ml<sup>-1</sup> yaitu 0,72.



**Gambar 3.** Grafik rasio penghambatan terhadap perlakuan ekstrak dan kontrol dengan bakteri uji *E. coli* dan *S. aureus* (\*: kontrol ampisilin/oxacillin (amp/ox), siprofloksasin (cip), kloramfenikol (C))

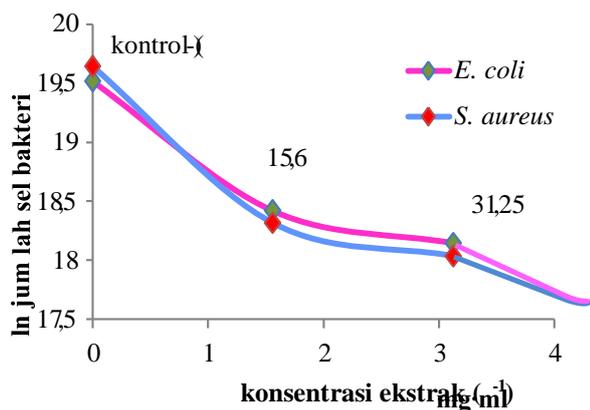
Berdasarkan hasil pengukuran zona bening pengujian kontrol (tabel 2), diketahui bahwa *S. aureus* telah resisten (R: *resistant*) terhadap *oxacillin* yaitu tidak memberikan zona bening. Kloramfenikol dan siprofloksasin memberikan sifat rentan (S: *susceptible*) pada *S. aureus*. Hasil yang didapatkan yaitu *E. coli* pada kerentanan sedang (I: *intermediate*) terhadap ampisilin serta rentan (S: *susceptible*) terhadap kloramfenikol dan siprofloksasin.

**Tabel 2.** Sifat Kerentanan Antibiotik Kontrol terhadap Standar CLSI

Antibiotik (mm)	Diameter zona Diameter rata-rata Sifat bening standar CLSI zona bening kerentanan			<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i> antibiotik
	S	I	R		
Ampisilin 10µg	≥17	14-16	≤13	14	- I
-				0	
24				22	
25				23	
Oxacillin 1µg	≥13	11-12	≤10		R
Kloramfenikol 30µg	≥18	13-17	≤12		S/S
Siprofloksasin 5µg	≥21	16-20	≤15		S/S

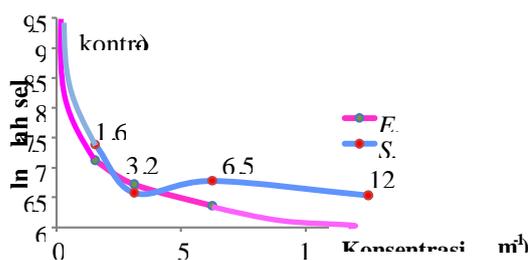
Keterangan: S: *susceptible* (rentan); I: *intermediate* (sedang); R: *resistant* (resisten) Data zona bening *E. coli* diuji kehomogenan ragam statistik Levene dengan hasil nilai signifikan 0,009. Nilai 0,009<0,05 menyatakan ragam data tidak homogen. Analisis dilanjutkan dengan analisis non parametrik KruskalWallis. Nilai signifikan 0,004<0,01 menyatakan data homogen dan ada perbedaan nyata antara kelompok perlakuan ekstrak dan kontrol. Uji dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan dan diketahui perlakuan dapat dikelompokkan menjadi empat kelompok perlakuan, terdiri atas dua kelompok perlakuan ekstrak dan dua kelompok kontrol positif. Perlakuan ekstrak 12,5, 25, 50, 100, 200 dan 250 mg·ml<sup>-1</sup> dikelompokkan pada kelompok perlakuan ekstrak dengan nilai rata-rata zona bening tertinggi Pengujian kehomogenan ragam statistik Levene pada data zona bening *S. aureus* memberikan hasil nilai signifikan 0,059. Nilai 0,059>0,05 menyatakan data ragam data homogen. Analisis dilanjutkan dengan *one way anova* dan didapatkan nilai signifikan 0,000. Nilai signifikan 0,000<0,05 sehingga diketahui ada perbedaan nyata antara kelompok perlakuan ekstrak dan kontrol. Pada uji jarak berganda Duncan diketahui perlakuan dapat dikelompokkan menjadi lima kelompok yaitu tiga kelompok perlakuan ekstrak dan dua kelompok kontrol positif. Perlakuan ekstrak 12,5, 50, 150, 200 dan 250 mg·ml<sup>-1</sup> dikelompokkan pada kelompok perlakuan ekstrak dengan nilai rata-rata zona bening tertinggi .

*Hasil pengujian antibakteri metode macro broth dilution* Perhitungan jumlah bakteri dengan hemositometer (lampiran 5) diketahui pada perlakuan ekstrak konsentrasi 15,6 dan 31,25 mg·ml<sup>-1</sup> telah dapat menghambat pertumbuhan bakteri baik pada *E. coli* maupun *S. aureus*. Jumlah sel *E. coli* dan *S. aureus* menurun dengan bertambahnya konsentrasi ekstrak.



**Gambar 5** Kurva logaritmik jumlah sel bakteri (perhitungan hemositometer) dengan perlakuan ekstrak

Perhitungan jumlah bakteri berdasarkan jumlah koloni dengan metode TPC diketahui ada penghambatan pertumbuhan bakteri. Pada *E. coli* terjadi penurunan jumlah sel secara nyata, sedangkan pada *S. Aureus* penurunan jumlah sel fluktuatif.



**Gambar 6.** Kurva logaritmik jumlah sel bakteri (perhitungan TPC) dengan perlakuan ekstrak

Simplisia akar tawas ut (*Ampelocissus rubiginosa* Lauterb.) yang digunakan pada penelitian ini berasal dari Palangkaraya, Kalimantan Tengah. Bagian tanaman yang digunakan adalah akar tanaman, seperti oleh Latifah (2011) pada suatu penelitian untuk meninjau tanaman tersebut secara ilmiah menurut bidang farmakognosi. Simplisia kemudian diolah menjadi serbuk yang kemudian diekstraksi menggunakan etanol 96%. Etanol sebagai pelarut semipolar diharapkan dapat mengekstrak kandungan senyawa dalam akar tawas ut. Ekstraksi dilakukan secara maserasi, untuk menghindari pemanasan yang dapat merusak senyawa. Jumlah ekstrak yang didapatkan sebanyak 147 gram dengan rendemen

ekstrak sebesar 25,88%. Rendemen ekstrak menunjukkan jumlah ekstrak yang didapatkan dari sejumlah simplisia. Metode ekstraksi Latifah (2011) memberikan nilai rendemen 26,6825 %.

Ekstrak yang digunakan pada pengujian antibakteri berupa larutan konsentrasi ekstrak sehingga ekstrak harus dilarutkan. Nilai kelarutan ekstrak dapat diketahui dari perbandingan kadar sari larut etanol dan kadar sari larut air. Latifah (2011) melaporkan kadar sari larut etanol akar tawas ut yaitu 23,47% sedangkan kadar sari larut air sebesar 17,07%. Nilai kadar sari larut etanol lebih besar dari kadar sari larut air menyatakan ekstrak etanol akar tawas ut sukar larut dalam air, sehingga diperlukan suatu agen pelarut yang mampu mensuspensikan ekstrak.

Pelarut yang digunakan yaitu CMC 0,1%. Pelarut tersebut memenuhi persyaratan antara lain mampu mensuspensikan ekstrak serta tidak bersifat antibakteri. CMC merupakan salah satu bahan yang dapat digunakan sehubungan sifatnya dapat membentuk sistem dispersi koloid, meningkatkan viskositas sehingga partikel-partikel ekstrak yang tersuspensi akan tertangkap dalam sistem tersebut dan tidak mengendap (Potter & Norman dalam Sumardikan, 2007). Pelarut karboksimetil selulosa (CMC) 0,1% telah digunakan oleh Dewi (2010) sebagai agen pelarut pada ekstrak etanol buah mengkudu. CMC diketahui tidak mempengaruhi hasil uji karena tidak bersifat antibakteri. Uji kontrol negatif CMC 0,1% dengan difusi cakram metode Kirby Bauer memberikan hasil negatif di mana tidak ada zona bening yang terbentuk.

Pelarutan dengan CMC diharapkan dapat memberikan kelarutan optimal ekstrak etanol akar tawas ut, yang diketahui mengandung senyawa katekol, tanin, saponin dan flavonoid. Senyawa-senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol akar tawas ut ini berpotensi antibakteri. Sifat kelarutan akan mempengaruhi kemampuan difusi dan dilusi senyawa-senyawa tersebut. Sebagaimana

diketahui bahwa kelarutan dan difusi mempengaruhi profil antibakteri senyawa (Madigan & Martinko, 2006). Akar tawas ut telah digunakan sebagai obat luka dan obat diare. Paparan bakteri dapat terjadi pada luka maupun diare sehingga akar tawas ut mungkin berkhasiat menghambat pertumbuhan bakteri. Penggunaan secara empiris ini diperlukan pembuktian secara ilmiah sehingga digunakan bakteri *E. coli* yang umumnya dapat menyebabkan diare serta *S. aureus* yang seringkali menginfeksi luka.

Senyawa yang memiliki potensi antibakteri pada akar tawas ut diketahui antara lain katekol, tanin, saponin dan flavonoid. Keempat senyawa tersebut diketahui dapat bersifat antibakteri (Cowan, 1999). Tanin dapat bersifat antibakteri dengan membentuk kompleks dengan enzim atau substrat. Toksisitas tanin juga dapat dihubungkan dengan hubungan aktivitasnya terhadap membran sel dan kemampuan membentuk kompleks ion logam (Akiyama *et al.*, 2001; Tiwari *et al.*, 2011). Mekanisme kerja saponin yaitu menghambat pertumbuhan bakteri dengan mengganggu proses terbentuknya dinding sel (Wogan & Marletta dalam Evrizal, 2001). Saponin memiliki sifat seperti deterjen dan dapat meningkatkan permeabilitas membran sel bakteri tanpa merusaknya (Arabski *et al.*, 2010). Cushnie *et al.*, (2005) melaporkan flavonoid dapat berkhasiat antibakteri dengan mekanisme menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel, dan menghambat metabolisme energi. Katekol dapat berkhasiat sebagai antibakteri dengan mekanisme terutama pada membran sel dengan merusaknya (Akiyama *et al.*, 2001). Kandungan senyawa tersebut diharapkan memberikan daya antibakteri terhadap *E. coli* dan *S. aureus*.

Pengujian antibakteri metode difusi cakram Kirby Bauer dipilih karena dapat menggambarkan sifat antibakteri senyawa, yaitu penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri melalui terbentuknya zona bening. Metode *macro broth dilution* memberikan data konsentrasi penghambatan terendah (MIC) pada bakteri. Metode ini merupakan metode yang sering digunakan pada

pengujian antibakteri karena memberikan jumlah nyata konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Andrews, 2006).

Sifat antibakteri ekstrak etanol tawas ut teramati dengan adanya zona bening pada hasil uji dengan difusi cakram setelah masa inkubasi optimal. Zona bening dianalisis secara statistik untuk mengetahui adanya pengaruh pemberian ekstrak etanol akar tawas ut pada pertumbuhan *E. coli* dan *S. aureus* secara *in vitro*. Hasil perhitungan secara statistik juga memberikan informasi pengaruh konsentrasi terhadap daya antibakteri ekstrak. Daya antibakteri yang dipengaruhi oleh sifat difusi senyawa tergambar pada nilai rasio penghambatan. Perhitungan rasio penghambatan adalah zona bening dibandingkan terhadap diameter cakram yang digunakan. Nilai terbesar rasio penghambatan hingga 1,06 kali dari diameter cakram terjadi pada perlakuan konsentrasi ekstrak 250 mg·ml<sup>-1</sup>, pada *E. coli* maupun *S. aureus*. Sedangkan nilai terkecil rasio penghambatan sebesar 0,72 masing-masing pada konsentrasi 150 mg·ml<sup>-1</sup> (*E. coli*) dan 25 mg·ml<sup>-1</sup> (*S. aureus*). Rasio penghambatan yang besar mencapai nilai 2-3 pada kontrol antibiotik. Hal tersebut disebabkan oleh senyawa antibiotik memiliki sifat difusi yang tinggi dan telah dimodifikasi dalam bentuk garam sehingga lebih mudah berdifusi (Hacker *et al.*, 2009)

Analisis statistik Kruskal-Wallis data zona bening pada *E. coli* memberikan hasil ada perbedaan nyata antara kelompok perlakuan ekstrak dan kontrol, dengan nilai signifikan 0,009. Nilai signifikan 0,009 < 0,01 menyatakan ada pengaruh pemberian ekstrak pada pertumbuhan *E. coli* secara *in vitro* dibandingkan terhadap kontrol positif. Pada Uji lanjutan Duncan terdapat suatu kelompok perlakuan ekstrak yaitu konsentrasi 12,5, 250, 50, 100, 200 dan 250 (mg·ml<sup>-1</sup>). Hal ini menyatakan tidak ada perbedaan sifat antibakteri yang bermakna antara perlakuan konsentrasi ekstrak.

Analisis ANOVA data zona bening uji pada *S. aureus* memberikan hasil ada perbedaan nyata antara kelompok perlakuan ekstrak dan kontrol, dengan nilai signifikan 0. Nilai signifikan  $0 < 0,05$  menyatakan ada pengaruh pemberian ekstrak pada pertumbuhan *S. aureus* secara in vitro dibandingkan terhadap kontrol positif. Pengelompokkan perlakuan ekstrak pada uji lanjutan Duncan yaitu perlakuan ekstrak konsentrasi 12,5, 50, 150, 200 dan 250 ( $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ ). Hal ini menyatakan tidak ada perbedaan daya antibakteri yang bermakna antara perlakuan konsentrasi ekstrak.

Pengujian antibakteri ekstrak dengan metode Kirby Bauer diketahui tidak ada pengaruh yang bermakna antara konsentrasi. Hal ini berlaku pada *E. coli* maupun *S. aureus*, dengan tujuh perlakuan konsentrasi yang berbeda yaitu 250, 200, 150, 100, 50, 25 dan 12,5 ( $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ ). Faktor fisis senyawa yang mungkin menyebabkan hal ini adalah jumlah senyawa yang terdapat pada ekstrak etanol. Selain saponin, terdapat katekol, tanin dan flavonoid yang juga dapat bersifat antibakteri. Kemampuan difusi suatu senyawa pada tingkat konsentrasi tertentu berbeda sesuai kelarutannya sehingga mungkin mempengaruhi daya antibakteri ekstrak. Contohnya kelarutan flavonoid dipengaruhi oleh tingkat kepolaran senyawa flavonoid tersebut (Kashani, 2012). Selain itu mungkin terdapat senyawa lainnya yang tidak bersifat antibakteri, namun dapat mengganggu difusi ekstrak pada media agar. Jumlah senyawa yang terekstraksi cenderung banyak karena menggunakan pelarut etanol yang sifatnya mengekstraksi banyak senyawa (Kristanti et al., 2008).

Pengujian standar antibakteri dengan kontrol positif menggunakan tiga jenis antibiotik untuk masing-masing bakteri uji. Perlakuan ini dimaksudkan memberikan data zona bening yang dihubungkan dengan mekanisme kerja antibakteri. Rentang nilai zona bening yang tidak terlalu jauh memungkinkan mekanisme kerja yang sama antara perlakuan ekstrak dan kontrol. Berdasarkan data zona bening *E. coli* maupun *S. aureus*, perbandingan perlakuan

siprofloksasin dan kloramfenikol terhadap perlakuan ekstrak tidak memungkinkan kesamaan mekanisme karena rentang data berbeda jauh. Perbandingan ditinjau dari perhitungan statistik uji jarak berganda Duncan memberikan perbedaan kelompok juga menyatakan ada perbedaan nyata antara kedua kelompok perlakuan tersebut. Hal tersebut wajar terjadi karena antibiotik yang digunakan sebagai kontrol sudah teruji daya antibakterinya.

Kloramfenikol memberikan daya antibakteri dengan menghambat sintesis protein pada jalur enzimatis. Siprofloksasin memberikan daya antibakteri dengan menghambat fungsi DNA. Kloramfenikol dan siprofloksasin diketahui lebih efektif sehubungan fungsi penghambatannya yang lebih kompleks. Golongan betalaktam yaitu ampisilin dan *oxacillin* diketahui menghambat sintesis dinding sel pada jalur enzim transpeptidase (Lullmann et al., 2000). Banyak bakteri telah resisten terhadap golongan betalaktam. Sehubungan hal tersebut, *Clinical and Laboratory Standards Institute* (2011) memberikan standar perlakuan uji kerentanan *E. coli* dengan generasi aminopenisilin yaitu ampisilin sedangkan pada *S. aureus* dengan generasi penisilin *antistaphylococcal* yaitu *oxacillin*. Kedua bakteri uji menunjukkan kemampuan yang berbeda terhadap masing-masing antibiotik. *E. coli* rentan terhadap antibiotik golongan betalaktam sedangkan *S. aureus* bersifat resisten. *S. aureus* dapat mengembangkan resistensi dengan menghasilkan enzim laktamase yang mampu merusak struktur betalaktam *oxacillin* sehingga tidak rentan terhadap antibiotik tersebut. Strain *S. aureus* ini disebut *oxacillin-resistant Staphylococcus aureus* (ORSA) dan umumnya juga resisten pada hampir semua golongan penisilin (Islam et al., 2008).

Daya antibakteri terukur yaitu konsentrasi hambat minimum (MIC) sebesar  $15,6 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$  pada *E. coli* maupun *S. aureus*. Ekstrak pada konsentrasi  $15,6 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$  telah dapat menghambat pertumbuhan kedua bakteri tersebut berdasarkan perhitungan jumlah bakteri

dengan hemasitometer dan metode TPC. Jumlah bakteri yang tumbuh pada kontrol positif dibandingkan terhadap jumlah bakteri dengan perlakuan ekstrak. Penghambatan yang teramati secara nyata yaitu penurunan jumlah bakteri setelah masa inkubasi menggambarkan daya antibakteri ekstrak.

Nilai konsentrasi hambat minimum ekstrak etanol tawas ut yang terukur sebesar 15,6 mg·ml<sup>-1</sup> menyatakan dalam konsentrasi yang rendah ekstrak sudah dapat menghambat pertumbuhan bakteri secara signifikan. Adegoke *et al.*, (2010) melaporkan nilai MIC ekstrak etanol daun *Phyllanthus amarus* pada *S. aureus* dan *E. coli* masing-masing sebesar 10 mg·ml<sup>-1</sup> dan 50 mg·ml<sup>-1</sup>. Kedua bahan uji diketahui mengandung jenis senyawa yang sama yaitu saponin dan tanin.

Perhitungan metode TPC memberikan jumlah bakteri hidup setelah masa inkubasi tersebut. Perlakuan ekstrak pada *E. coli* diketahui bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak berbanding lurus terhadap sifat antibakteri. Berdasarkan hasil uji, ekstrak 125 mg·ml<sup>-1</sup> cenderung bersifat bakterisidal terhadap *E. coli* dengan tidak adanya jumlah bakteri ditemukan (*null*). Ekstrak dapat digolongkan cenderung bakterostatik terhadap *S. aureus*, di mana kemampuan antibakteri kurang dipengaruhi oleh peningkatan konsentrasi ekstrak (Madigan & Martinko, 2006; Lullmann *et al.*, 2000). Efek bakterisidal merupakan hasil perusakan dinding sel atau membran. Sel pecah ketika cairan berdifusi pada sitoplasma bakteri yang bersifat osmolaritas tinggi, melalui celah oleh antibakteri pada membran, menyebabkan sel bakteri mengembang dan pecah. Efek bakterisidal juga dapat terjadi akibat penghambatan fungsi DNA (Craig & Stitzel, 2005).

Daya antibakteri dipengaruhi oleh sifat difusi ekstrak ke dalam sel bakteri. *S. aureus* termasuk bakteri Gram positif sedangkan *E. coli* termasuk bakteri Gram negatif. Dinding sel bakteri Gram positif terdiri dari lapisan peptidoglikan yang tebal, sehingga senyawa sukar berdifusi ke dalam sel dan daya antibakterinya terhambat. Dinding sel bakteri Gram negatif memiliki

lapisan peptidoglikan yang lebih tipis. Hal ini membuat bakteri Gram negatif yaitu *E. coli* lebih rentan terhadap sifat antibakteri ekstrak (Madigan & Martinko, 2006; Anonim, 2012).

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa: Ekstrak etanol akar tawas ut memiliki daya antibakteri terhadap *E. coli* dan *S. aureus*, dengan perlakuan konsentrasi ekstrak 250 mg·ml<sup>-1</sup> memberikan nilai rata-rata zona bening tertinggi sebesar 12,33 mm pada *E. coli* maupun *S. aureus*, serta mampu memberikan zona bening dengan konsentrasi terendah 12,5 mg·ml<sup>-1</sup> sebesar 11,33 mm pada *E. coli* dan 11,67 mm pada *S. aureus*; Konsentrasi hambat minimum (MIC) ekstrak etanol akar tawas ut pada *E. coli* maupun *S. aureus* yaitu sebesar 15,6 mg·ml<sup>-1</sup>.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih penulis ucapkan kepada Program Studi Magister Farmasi Universitas Sanata Dharma dan Program Studi Farmasi SI Universitas Lambung Mangkurat sebagai almamater penulis yang telah banyak membantu penulis dalam menyelesaikan penelitian ini sampai pada tahap publikasi.

## REFERENSI

- Anonim. 2012. Comparative Characteristics of Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria. <http://www.life.umd.edu/classroom/bsci424/BSCI223WebSiteFiles/GramPosvsGramNeg.htm> Diakses tanggal 15 Oktober 2011
- Arabski, M. A. Lankoff, A. Wegierek-Ciuk & W. Kaca. 2012. Effects of Saponins against Clinical *E. coli* Strains and Eukaryotic Cell Line. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. Volume 2012, Article ID 286216, 6 pages.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. 2011. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-First Informational Supplement. *Clinical and*

Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898, USA.

- Cushnie, T.P.T. & A.J. Lamb. Antimicrobial Activity of Flavonoids. 2005. International Journal of Antimicrobial Agents. 26 (2005), 343–356.
- Dewi, F. K. 2010. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*, Linnaeus) terhadap Bakteri Pembusuk Daging Segar. Skripsi. Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Latifah, A. 2011. Kajian Farmakognostik Akar Tawas Ut (*Ampelocissus rubiginosa* L.) asal Kalimantan Tengah. Skripsi. FMIPA Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru (tidak dipublikasikan).
- Lullmann, H., A. Ziegler, K. Mohr, D. Bieger. 2000. Color Atlas of Pharmacology. Second Edition. Thieme Stuttgart. USA.
- Madappa, T. 2011. *Escherichia coli* Infections. <http://emedicine.medscape.com/article/217485-overview> Diakses tanggal 15 Oktober 2011
- Tiwari, P., B. Kumar, M. Kaur, G. Kaur & H. Kaur. 2011. Phytochemical Screening and Extraction: A Review. Intern Pharm Sci. 1(1): 98-106.
- Venkatakrishna, I.R., G.B. Kishore, S.K. Manohar, P. Vidya & S. Manjula. 2011. Detection of Methicillin Resistance in *Staphylococcus aureus*: Comparison of Disc diffusion and MIC with *mecA* gene detection by PCR. IJPBS. 1(4): 518-521.
- Wilson, R.P.A. 2004. Management of Glycopeptide-Resistant *Staphylococcus aureus* Infections. Dalam Gillespie, H.S. Management of Multiple DrugResistant Infections. Humana Press, USA.