

UJI DAYA HAMBAT EKSTRAK ETANOL DAUN MAHKOTA DEWA (*Phaleria macrocarpa* Boerl.) TERHADAP *Klebsiella pneumoniae*.

Submitted : 27 Mei 2020

Edited : 22 Desember 2020

Accepted : 29 Desember 2020

Aulia Nur Rahmawati, Putri Afiana Solichah

PROGRAM STUDI D3 FARMASI STIKES NASIONAL

Email : putriafiana56@gmail.com

ABSTRACT

Mahkota Dewa (Phaleria macrocarpa Boerl) is a medicinal plant of the *Thymelaeaceae* family originating from Indonesia, precisely from Papua. *Phaleria macrocarpa* Boerl the gods has been known in various treatments such as diabetes, cancer, liver, dysentery, allergic diabetes, eczema, or gout and others. The purpose of this study is to find out whether extract ethanolic 96% of *Phaleria macrocarpa* Boerl can inhibit the growth of *K. pneumoniae*, and to know what concentration of extract ethanolic 96% of *Phaleria macrocarpa* goodnes to inhibit *K. pneumoniae*. The extraction method used is maceration. The concentration used is 100%, 80%, 60%, 40%, 20%, and the method to know *Phaleria macrocarpa*., Borl inhibited againts *K.pneumoniae* is Kirby Bauer Method. With the average inhibition zone concentrations is 100%, 80%, 60%, 40%, 20% respectively 17.41mm, 15.37mm, 12.60mm, 11.10mm, 6.43mm.

Keywords : *Phaleria macrocarpa* Boerl, inhibition test , *Klebsiella pneumoniae*

PENDAHULUAN

Klebsiella pneumoniae merupakan bakteri gram negatif *Enterobacteriaceae*. *K. pneumoniae* dapat menginfeksi di beberapa tempat seperti usus, paru-paru, dan kandung kemih. Di negara Cina infeksi intraabdominal yang disebabkan *K. pneumoniae* memiliki prevalensi 20,1% ⁽¹⁾, kasus pneumonia di beberapa Rumah sakit Indonesia memiliki presentase 29%, dan pada infeksi saluran kemih di RSUD dr Soetomo yang disebabkan *K. pneumoniae* memiliki presentase 18,1% ⁽²⁾. Melalui infeksi oleh beberapa anggota tubuh tersebut, *K. pneumoniae* dapat juga menginfeksi hati. Di negara tropis, khususnya Taiwan dan Korea infeksi hati yang disebabkan *K.pneumonia* memiliki presentase 5% ⁽³⁾. Infeksi *K. pneumoniae*

dapat diobati dengan antibiotik yang mengandung cincin beta-laktam. Namun penggunaan antibiotik yang sangat tinggi dan tidak tepat penggunaannya menyebabkan terjadinya resistensi bakteri. *Kp.pneumoniae* mengalami resistensi sebesar 100% terhadap antibiotik ampislin, amoksisilin, dan seftazidim sedangkan antibiotik sefoksitin, seftriakson, sefepim dan meropenen mengalami resistensi 40% ⁽⁴⁾. Pada tahun 2012 Cipprofloxacin memiliki sensitifitas 81,6% dan memiliki resistensi 50% di rumah sakit X pada tahun 2013 sampai 2015 ⁽⁵⁾. Salah satu alternatif pengurangan resistensi tersebut dengan penggunaan obat herbal. Mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* Boerl) adalah tanaman obat dari famili *Thymelaeaceae* yang berasal dari Indonesia, tepatnya berasal

dari Papua. Daun mahkota dewa sudah dikenal dalam berbagai pengobatan seperti diabetes, kanker, lever, disentri, kencing manis alergi, eksim, maupun asam urat dan lain-lain ⁽⁶⁾. Pada penelitian ini dipilih sampel daun mahkota dewa karena di dalam daun mahkota dewa terkandung senyawa aktif yang dapat membunuh bakteri, mudah diperoleh, dan tidak musiman, sampel berlimpah dibanding buahnya. Senyawa yang terkandung pada daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* Boerl) adalah alkaloid, saponin, tanin, triterpenoid, minyak atsiri, dan kumarin ⁽⁶⁾.

Berdasarkan latar belakang tersebut peneliti melakukan uji daya hambat ekstrak etanol 96% daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* Boerl) terhadap bakteri *K.pneumoniae* dengan menggunakan metode Kirby Bauer (difusi cakram).

METODE PENELITIAN

EKSTRAKSI DAUN MAHKOTA DEWA

Ekstrak diambil dari Kecamatan punden, Kabupaten Klaten, Jawa Tengah pada 13 September 2020 dan di determinasi di Balai Besar Penelitian Dan Pengembangan tanaman Obat dan Obat Tradisional untuk memastikan jenis yang sesuai. Bahan yang digunakan meliputi etanol 96% (ROFA) untuk maserasi, kristal violet, iodium, alkohol 70%, safranin, HCl 2N, pita Mg, Lp Bauchardat, Reagen Kovac, Barried, KOH 40%, FeCl₃ 10%, Methyl Red, Dragondraff, Mayer, Wagner, NaCl 0,9%, Minyak emersi, kultur *K. pneumoniae* untuk mengidentifikasi bakteri, DMSO 10%, disk Ciprofloxacin, blank disk, alkohol mikroskop, media BHI, media *Mac conkey*, Media Na plate, Media Na miring untuk menguji daya hambat, media urea, media citrat, media KIA/TSIA, media SIM, media MR/VP, Media PAD, media gula-gula untuk mengidentifikasi bakteri.

Sebanyak 200 gram serbuk daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* Boerl)

dimaserasi dengan pelarut etanol 96% sebanyak 2000 ml. Dengan penambahan 7,5 bagian etanol 96% di hari pertama, 2,5 bagian etanol 96% ditambahkan di hari kedua. Maserat yang diperoleh dijadikan satu. Penguapan dilakukan menggunakan evaporator dengan suhu 40° pada kecepatan 120rpm sampai diperoleh ekstrak kental.

Uji Fitokimia

Uji fitokimia pada daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* Boerl) meliputi uji flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, steroid/triterpenoid, minyak atsiri.

Uji alkaloid dilakukan dengan cara 1 ml filtrat ditambah 2 mL HCl 2N dan dikocok. Setelah dikocok sampel yang sudah ditetesi HCl dibagi dalam 3 tabung yang berbeda. Pada tabung pertama ditetesi 1 tetes reagen Mayer, pada pada tabung kedua ditetesi 1 tetes reagen Dragendorff, dan pada tabung reaksi ketiga ditambahkan 1 tetes reagen Wagner. Adanya senyawa alkaloid jika pada penambahan reagen Mayer terbentuk endapan kuning, pada penambahan reagen Dragendorff terbentuk endapan merah dan pada penambahan reagen Wagner terbentuk endapan coklat atau merah. Uji flavonoid dengan cara 2 mL filtrat hasil penyaringan ditambah pita Mg sebanyak 0,1 g dan 0,5ml HCl pekat. Uji positif mengandung senyawa flavonoid ditandai dengan adanya warna merah. Uji saponin dilakukan dengan cara 1 ml filtrat di tambahkan 1 tetes HCl 2 N. Jika filtrat Positif mengandung saponin maka ditandai dengan adanya buih yang konstan. Steroid/triterpenoid dilakukan dengan cara 1 ml filtrate di tambah 3-4 tetes LP bouchardat. Jika filtrat positif mengandung steroid/triterpenoid maka ditandai dengan warna merah/ungu. Fenol dilakukan dengan cara 1 ml filtrat ditetesi dengan FeCl₃ 2 tetes, apabila positif ditandai dengan adanya endapan putih ⁽⁷⁾.

Identifikasi Bakteri Gram Negatif

Identifikasi bakteri dilakukan dengan pengecatan gram dan uji biokimia. Pengecatan dilakukan dengan Gram A (kristal violet), iodium (Gram B), ditetesi dengan alkohol 70% hingga air yang menetes jernih. Preparat ditetesi Safranin dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan dan diamati perbesaran 100x dengan penambahan minyak emersi⁽⁸⁾. Uji Biokimia dilakukan dengan menginokulasikan suspensi bakteri pada media uji biokimia. Media uji biokimia terdiri, dari KIA/TSIA, SIM, UREA, CITRAT, MR/VP, PAD, dan media Fermentasi Karbohidrat. Sampel bakteri kemudian ditanam di media Na miring. Setelah itu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam⁽⁹⁾.

Uji antimikroba metode Kirby bauer

Pada tahap ini dilakukan inokulasi suspensi bakteri *K.pneumoniae* pada media Na Plate dengan cara menyelupkan kapas lidi steril ke dalam suspensi bakteri yang telah dibandingkan dengan standar MC Farland 0,5 secara aseptis. Cakram Ciprofloxacin yang berukuran 6mm ditanam di setiap permukaan dengan memperhatikan jarak yang sesuai (tidak terlalu dekat atau terlalu jauh). Cakram blanko direndam ekstrak etanol daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* Boerl) dengan berbagai variasi konsentrasi dengan berbagai konsentrasi kemudian ditanam pada Na Plate. kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam⁽¹⁰⁾.

ANALISIS DATA

Data yang di gunakan adalah ukuran diameter zona bening yang menunjukkan besaran daya hambat setiap variasi konsentrasi ekstrak etanol daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* Boerl) terhadap bakteri *K.pneumoniae* dan dianalisis dengan Microsoft Excel untuk memperoleh grafik pertumbuhan *K.pneumoniae*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Fitokimia

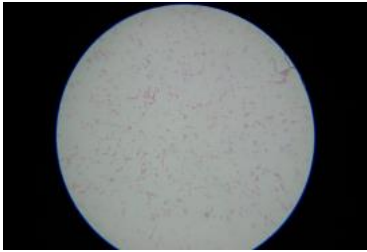
Daun mahkota dewa memiliki beberapa zat aktif yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *K. pneumoniae* (Tabel 1).

Identifikasi Bakteri

Secara mikroskopis *K.pneumoniae* berbentuk batang pendek, tersusun tersebar, dan koloni merah. *K.pneumoniae* adalah bakteri gram negatif yang mengandung lipid cukup tinggi, sehingga pada saat pewarnaan gram lipid terlarut dengan alkohol (gram C), setelah itu pori pori pada dinding sel membesar dan zat cristal violet (gramyang telah diserap sel dilepas kembali, bakteri tidak terwarnai. Ketika digenangi zat D(safranin) bakteri akan menyerap warna tersebut dan warna bakteri menjadi merah⁽¹¹⁾. Pada pengecatan didapatkan bentuk batang warna merah, cat gram, sifat bakteri gram Negatif, latar belakang putih, perbesaran 100x (Objektif) (Gambar 1).

Tabel 1. Hasil uji fitokimia ekstrak etanol daun mahkota dewa Uji Fitokimia

Uji Fitokimia	Pereaksi	Hasil	Keterangan
Flavonoid	HCl, Serbuk Mg	+	Warna jingga
Alkaloid	Wagner	+	Endapan kuning
	Mayor	+	Endapan coklat
	Dragondraff	+	Merah/endapan coklat
Saponin	HCl 2N	+	Buih konstan
Tanin	Gelatin	+	Endapan Putih
Fenol	FeCl ₃	+	Warna kehitaman
Steroid/terpenoid	LP Baucardat	-	Tidak terjadi perubahan



Gambar 1. Sel bakteri gram negatif *K. pneumoniae*

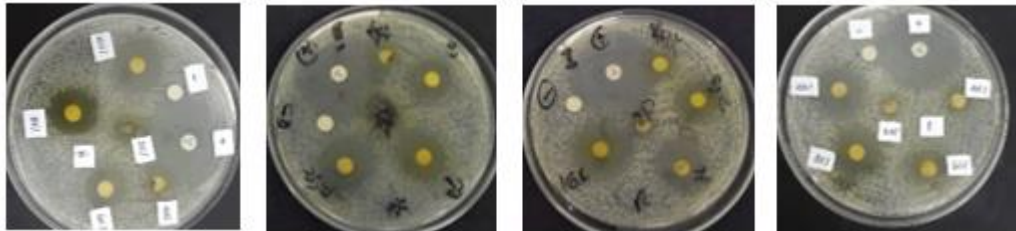
Pada pengujian biokimia, KIA diperoleh hasil Fermentasi yaitu AC/AC (Acid/Acid). Ditandai dengan media berwarna kuning. Terjadi warna kuning karena media KIA mengandung Karbohidrat yang difermentasikan bakteri membentuk suasana asam. SIM H₂S, motil, dan indol negatif. Tidak terjadi pertumbuhan yang menyebar di sekitar tusukan dan tidak terjadi warna merah setelah ditambahkan pereaksi Kovac. Uji pada media urea positif, ditandai dengan perubahan warna pada media menjadi merah. Pada media Citrat diperoleh hasil positif karena terbentuk warna biru pada

media. Pada media MR diperoleh positif, terjadi perubahan warna media menjadi merah. Pada media VP negatif, tidak terjadi perubahan warna pada media setelah ditambahkan reagen barried dan KOH. Bakteri tidak memfermentasikan butandiol⁽¹²⁾. Pada media PAD diperoleh hasil negatif. Tidak terjadi perubahan warna media menjadi hijau. Pada uji fermentasi glukosa diperoleh hasil positif. Ditandai dengan perubahan warna dari merah menjadi orange.

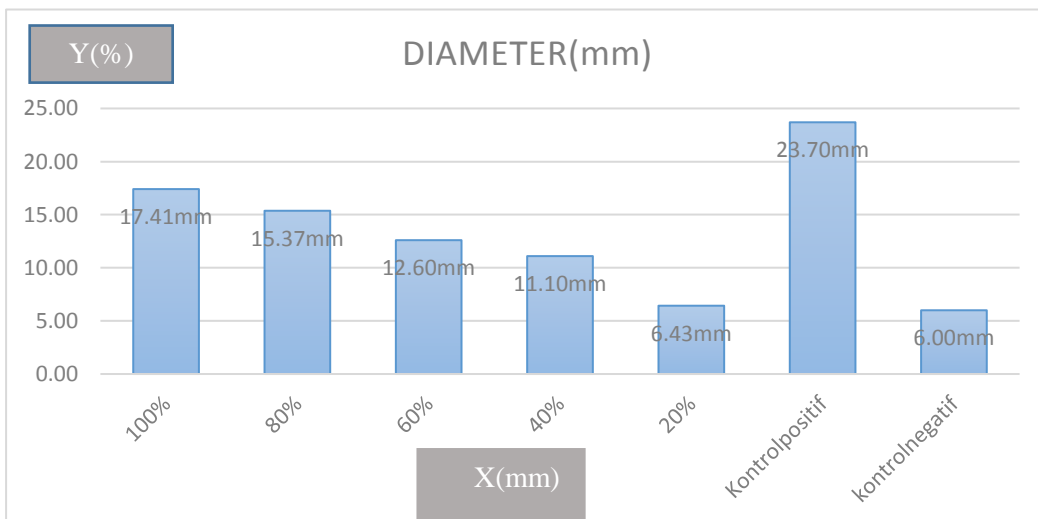
UJI DAYA HAMBAT

Pada penelitian ini didapatkan zona bening yang relatif besar, dimana diperoleh hasil uji daya hambat ekstrak etanol daun mahkota dewa terhadap *K.pneumoniae* yang membentuk zona hambat disekitar disk (Gambar 2).

Berdasarkan data diatas dibuat grafik yang menggambarkan rata-rata sebagai perlakuan pemberian ekstrak etanol daun mahkota dewa (Gambar 3).



Gambar 2. Hasil zona bening ekstrak etanol daun mahkota dewa terhadap *K. pneumoniae*



Gambar 3. Grafik diameter zona hambat yang dihasilkan

Keterangan :

Y : Diameter yang dihasilkan

X : Konsentrasi ekstrak etanol daun mahkota dewa.

Grafik tersebut menggambarkan bahwa pada konsentrasi 100% ekstrak daun mahkota dewa memiliki kemampuan menghambat terbesar, dan pada konsentrasi 20% menunjukkan daya hambat yang dihasilkan paling kecil. Pada konsentrasi 100% memiliki kandungan senyawa yang lebih besar dibandingkan konsentrasi lain, sehingga konsentrasi 100% menghasilkan daya hambat yang paling baik. Adanya daya hambat disebabkan oleh kandungan senyawa kimia yang terdapat pada ekstrak daun mahkota dewa. Terdapat senyawa flavonoid, tanin, alkaloid, saponin, dan fenol yang positif dalam pengujian fitokimia ekstrak daun mahkota dewa. Pada kontrol positif dihasilkan zona hambat yang berbeda beda, hal tersebut terjadi karena aktivitas bakteri. Berdasarkan grafik diatas kontrol positif ciprofloxacin memiliki kemampuan yang intermediate ⁽¹³⁾ untuk menghambat *K.pneumoniae*. Ciprofloxacin dikatakan resisten apabila zona bening yang terbentuk ≤ 21 mm, intermediate apabila terbentuk zona hambat 22-25 mm dan sensitif apabila terbentuk zona hambat ≥ 26 mm(CLSI, 2019), sedangkan pada kontrol negatif tidak terdapat zona hambat.

SIMPULAN

Ekstrak Etanol 96% daun mahkota dewa dapat menghambat pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae*, dengan rata-rata diameter konsentrasi 100% sebesar 17,41 mm, 80% sebesar 15,37mm, 60% sebesar 12,60 mm, 40% sebesar 11,10 mm, 20% sebesar 6,43 mm dan ekstrak etanol 96% daun mahkota dewa konsentrasi 100% merupakan konsentrasi terbesar yang paling baik dalam menghambat *Klebsiella pneumoniae*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Zhang H, Yang Q, Liao K, Ni Y, Yu Y, Hu B, Sun Z, Huang W, Wang Y, Wu A, Feng X, Luo Y, Chu Y, Chen S, Cao B, Su J, Duan Q, Zhang S, Shao H, Kong H, Gui B, Hu Z, Badal R, Xu Y. 2017. Update of incidence and antimicrobial susceptibility trends of escherichia coli and *Klebsiella pneumoniae* isolates from chinese intra-abdominal infection patients. BMC Infectious Diseases. 17(1):1–9.
2. Sutandhio S, Alimsardjono L, Lusida MI. 2015. Distribusi dan Pola Kepekaan Enterobacteriaceae dari Spesimen Urin di RSUD DR. Soetomo Surabaya Periode Januari – Juni 2015
3. Siu LK, Yeh KM, Lin JC, Fung CP, Chang FY. *Klebsiella pneumoniae* liver abscess: a new invasive syndrome. Lancet Infect Dis 2012;12:881-7.
4. Dibua U.M.E., Onyemerela I. S. and Nweze E.I., 2014, Frequency, Urinalysis and Susceptibility Profile of Pathogens Causing Urinary Tract Infections in Enugu State, Southeast Nigeria, Revista Do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, 56 (1), 55– 57.
5. Anita, 2016, Pola Resistensi Bakteri Terhadap Antibiotik Pada Penderita Infeksi Saluran Kemih (ISK) Di Rumah Sakit X Periode Januari 2013– September 2015, skripsi, UMS.
6. Ratna,D.,Wiwi,W.,2014, Identifikasi Senyawa Flavonoid Dalam Fase n-Butanol Dari Ekstrak Metanol Daun Mahkota Dewa Phaleria macrocarpa (Scheff) BoerlRatna Disampaikan pada Simposium PERHIPBA, Hotel Paragon Universitas Sebelas Maret,Solo.
7. Lully,2016,*Farmakognisi dan fitokimia*, Pusdik SDM kesehatan,Jakarta selatan.
8. Sardiani,2015,Potensi Tunikat *Rhopalaea* sp Sebagai sumber Inokulum Bakteri Endosibion Penghasil Antibiotik, jurnal alam lingkungan,Makasar.

9. Miranda,A.J.,dkk,2016,Uji Efek Anti Bakteri Air Perasan Daging Buah Nanas Terhadap *Klebsiella pneumonia*,e-Biomedik,Manado.
10. Miranda,A.J.,dkk,2016,Uji Efek Anti Bakteri Air Perasan Daging Buah Nanas Terhadap *Klebsiella pneumonia*,e-Biomedik,Manado.
11. Yusmaniar,Wardiyah, Khairun,N., 2017, *Mikrobiologi Dan Parasitologi*, Kementrian kesehatan Republik Indonesia,Jakarta.
12. Colome, J.S. 2001. *Laboratory Exercise in Microbiology*. West Publishing Company, New York
13. CLSI,2019,Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing,26th ed. Clinical and Laboratory Standards Institute.