

**POTENSI DAUN DAN BATANG SEMBUKAN (*Paederia foetida*) SEBAGAI
ANTIBAKTERI *Bacillus subtilis* DENGAN METODE DIFUSI SUMURAN**

Lindasari Wulan Suci, Akademi Farmasi Surabaya

Surahmaida, Akademi Farmasi Surabaya

Prasetyo Handrianto, Akademi Farmasi Surabaya

ABSTRAK

Tanaman yang digunakan adalah tanaman sembukan (*Paederia foetida*) yang mempunyai manfaat bagi kesehatan manusia yaitu sebagai obat diare, luka luar, diuretik, antibiotik. Sampel yang digunakan adalah ekstrak daun dan batang sembukan dan bakteri *Bacillus subtilis*. Tahapan dari penelitian ini meliputi maserasi daun dan batang sembukan ke dalam larutan etanol 96% selama 5 hari, pembuatan suspensi bakteri, pembuatan konsentrasi, yaitu 0% (kontrol), 70%, 80%, 90%, 100%, dan pengujian antibakteri terhadap bakteri *Bacillus subtilis*. Dari hasil penelitian menunjukkan, pada ekstrak etanol daun dan batang sembukan dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* (kategori kuat) dengan rata-rata zona hambat lebih dari 10 mm pada semua konsentrasi. Rata-rata luas zona hambat bakteri *Bacillus subtilis* pada ekstrak etanol daun sembukan yaitu pada konsentrasi 70% (11,83 mm), 80% (13,2 mm), 90% (15,18 mm), dan 100% (18,08 mm). Sedangkan rata-rata luas zona hambat pada ekstrak etanol batang sembukan menunjukkan pada konsentrasi 70% (12 mm), 80% (13,41 mm), 90% (14,3 mm), dan 100% (15,41 mm). Disimpulkan bahwa pada konsentrasi 100%, baik itu pada ekstrak etanol daun dan batang sembukan menunjukkan daya hambat yang paling luas terhadap bakteri *Bacillus subtilis*.

Keywords: Ekstrak daun dan batang sembukan, *Bacillus subtilis*, uji daya hambat.

ABSTRACT

The plants used are cormorant *Paederia foetida* plants which have benefits for human health, namely as a medicine for diarrhea, external injuries, diuretics, antibiotics. The sample used was extract of leaf and stem *Bacillus subtilis* bacteria. The stages of this study included maceration of cured leaves and stems into 96% ethanol solution for 5 days, making bacterial suspensions, making concentrations of 0% (control), 70%, 80%, 90%, 100%, and antibacterial testing for bacteria *Bacillus subtilis*. From the results of the study, the ethanol extract of leaves and stem can inhibit the growth of *Bacillus subtilis* (strong category) with an average inhibition zone of more than 10 mm at all concentrations. The average area of inhibition zone of *Bacillus subtilis* on ethanolic extract of leaves is at 70% (11.83 mm), 80% (13.2 mm), 90% (15.18 mm), and 100% (18, 08 mm). Whereas the average inhibitory zone area of ethanol extract of curry stem showed concentrations of 70% (12 mm), 80% (13.41 mm), 90% (14.3 mm), and 100% (15.41 mm). It was concluded that at a concentration of 100%, both the ethanol extract of the leaves and stems of the curry showed the most extensive inhibitory power against *Bacillus subtilis* bacteria.

Keywords : Ethanol extract of leaf and stem of *Paederia foetida* plants, *Bacillus subtilis*, inhibitory test.

PENDAHULUAN

Mikroorganisme dapat menyebabkan penyakit infeksi. Salah satu bakteri patogen penyebab penyakit tersebut adalah bakteri *Bacillus subtilis*. Bakteri *Bacillus subtilis* menyebabkan penyakit yang berada di saluran nafas, seperti sakit tenggorokan dan flu.

Penanganan penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Bacillus subtilis* bisa secara kimia maupun secara alami. Namun, pengobatan secara kimia menimbulkan efek samping. Sehingga perlu dilakukan pengobatan secara alami yaitu dengan penggunaan tanaman herbal. Tanaman dapat digunakan sebagai obat

karena mengandung senyawa metabolit sekunder dan juga bisa digunakan sebagai antibakteri dan tanaman juga sumber bahan kimia produk alami bahan obat yang penting bagi kesehatan (Silokin, 2007 *dalam* Pratama, dkk., 2016). Salah satunya adalah tanaman daun sembukan (*Paederia foetida*) yang mempunyai banyak manfaat sebagai obat.

Berdasarkan hasil penelitian, tanaman daun sembukan (*Paederia foetida*) yang berasal dari famili Rubiaceae ini mengandung vitamin C, lisin, tirosin, sistin (Kumar *et al.*, 2009 *dalam* Widodo). Sedangkan daun dan batang sembukan juga mengandung alkaloid, metilmerkaptan (Silokin, 2007 *dalam* Pratama, dkk., 2016). Alasan memilih daun sembukan karena (1) mudah di dapat, (2) belum banyak dilakukan penelitian terhadap daun sembukan, (3) mempunyai efek karminatif (peluruh kentut), diuretik (peluruh kencing), antibiotik (Subrata *et al.*, 1994 *dalam* Widodo). Selain itu juga sebagai obat diare dan luka luar (Utami, 2008 *dalam* Pratama, dkk., 2016).

Berdasarkan latar belakang tersebut, peneliti ingin mengetahui potensi yang terdapat pada daun dan batang sembukan sebagai antibakteri *Bacillus subtilis*. Hal ini dikarenakan masih belum banyak penelitian yang menggunakan daun dan batang sembukan sebagai obat tradisional untuk pengobatan antibakteri.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat tabung reaksi, beaker glass, erlenmeyer, cawan petri, kaca arloji, gelas ukur, pipet volume, filler, pipet tetes, jarum ose, mikropipet, tip, pipet ukur, blender, ayakan, oven, toples kaca, corong, timbangan analitik, batang pengaduk, kompor, autoklaf, lampu spiritus, jangka sorong, inkubator, pinset, alat sumuran (pipa pelubang).

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun dan batang sembukan diambil dari desa Kebun Kelapa Kalianget-Sumenep, bakteri *Bacillus subtilis*, media NA (*Nutrient Agar*), aquadest steril, etanol 96%, NaCl steril 0,9%, kertas saring, tissue, *wrapping*, kapas, alkohol, kain kassa, aluminium foil, kertas perkamen, klip, benang bol.

Prosedur Penelitian

Preparasi sampel (Biswas *et al.*, 2012 *dalam* Rastina, dkk., 2015). Preparasi sampel dengan mengambil masing-masing 1 kg daun dan batang sembung dan dicuci bersih, selanjutnya dikering anginkan dengan cara diletakkan ditempat terbuka dengan sirkulasi udara yang baik dan tidak terkena sinar matahari langsung, kemudian setelah kering diblender dan diayak 30 mesh hingga berbentuk serbuk.

Pembuatan ekstrak (Harborne, 1987 *dalam* Rastina, dkk., 2015). Ekstraksi dilakukan secara maserasi dengan pelarut etanol 96%. Masing-masing 10 gram daun dan batang sembung direndam ke dalam 200 mL larutan etanol 96% selama lima hari dengan sesekali diaduk. Selanjutnya maserat dipisahkan dengan cara penyaringan dan dilanjutkan maserasi ulangan dengan jenis dan jumlah pelarut yang sama sampai maserat tidak berwarna.

Pengujian aktivitas antibakteri. Satu ose bakteri *Bacillus subtilis* dimasukkan ke dalam 9 mL NaCl 0,9% kemudian dihomogenkan dengan cara divortex. Selanjutnya diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam. Suspensi bakteri siap diujikan. Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan difusi sumuran dengan menggunakan sumuran (*crook bor*) (Misna dan Diana, 2016). Diambil 1 mL suspensi bakteri, kemudian dimasukkan ke dalam cawan petri dengan metode pour plate, lalu dimasukkan 15 mL media Na ke dalam cawan petri. Setelah itu cawan digoyang 3x membentuk angka 8 supaya suspensi bakteri tercampur merata dalam media, lalu diinkubasi selama 24 jam. Setelah itu membuat lima lubang difusi sumur dengan diameter 6 mm pada media agar menggunakan sumuran, kemudian dimasukkan \pm 0,3 mL ekstrak daun sembung dengan konsentrasi yang berbeda-beda pada setiap lubang difusi. Lalu diinkubasi dalam inkubator selama 24 jam dengan suhu 37°C. Perlakuan yang sama juga pada ekstrak batang sembung. Zona bening yang terlihat di sekeliling lubang menandakan adanya aktivitas antibakteri, kemudian zona bening yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong.

Pengamatan dan Pengukuran. Pengamatan dilakukan setelah 24 jam masa inkubasi. Zona bening merupakan petunjuk kepekaan bakteri terhadap ekstrak

antibakteri yang digunakan sebagai bahan uji yang dinyatakan dengan lebar diameter zona hambat (Vandepitte, 2005 dalam Rastina, dkk., 2015). Diameter zona hambat diukur dalam satuan milimeter (mm).

Analisis Data. Untuk mengetahui tingkat signifikan dari konsentrasi ekstrak daun dan batang sembung terhadap bakteri *Bacillus subtilis*, maka dilakukan analisis data menggunakan Uji Anova *Oneway* (analisis varian satu arah) dengan taraf kepercayaan 95% atau $\text{sig} < 0,05$, dilanjutkan dengan uji Duncan's.

HASIL PENELITIAN dan PEMBAHASAN

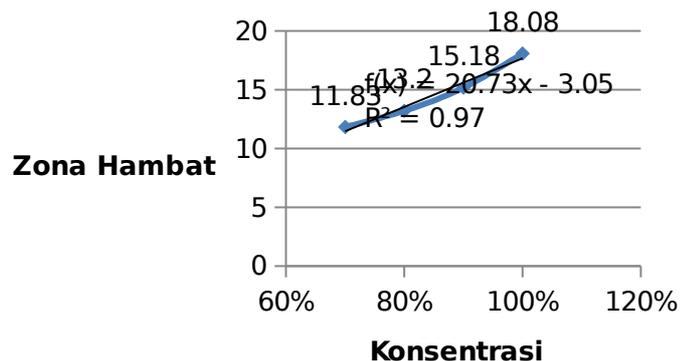
Hasil

Hasil pengujian ekstrak etanol daun dan batang sembung (*Paederia foetida*) terhadap bakteri *Bacillus subtilis* yang ditumbuhkan pada media NA (*Nutrient agar*) menunjukkan kemampuan yang berbeda disetiap konsentrasi yang diberikan dapat dilihat pada tabel dan gambar berikut.

Tabel 1. Hasil pengamatan diameter zona hambat ekstrak daun dan batang sembung terhadap *Bacillus subtilis* dengan metode sumuran

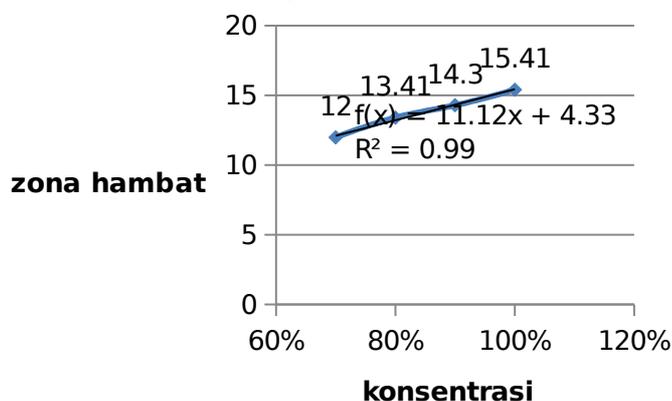
Replikas i	Luas Zona Hambat (mm)									
	Daun					Batang				
	0 %	70%	80%	90%	100 %	0 %	70%	80%	90%	100 %
I	-	13,5 0	15,1 0	18,0 0	22,30	-	13,5 0	16,5 0	17,2 0	17,50
II	-	12,3 0	13,5 0	15,2 0	19,00	-	12,5 0	13,5 0	14,5 0	16,40
III	-	12,1 0	13,1 0	15,1 0	18,50	-	12,3 0	13,2 0	14,3 0	15,60
IV	-	11,5 0	13,0 0	15,1 0	18,00	-	12,1 0	13,6 0	14,1 0	15,20
V	-	11,1 0	12,5 0	14,6 0	16,10	-	11,2 0	12,5 0	13,2 0	14,30
VI	-	10,5 0	12,0 0	13,1 0	14,60	-	10,4 0	11,2 0	12,5 0	13,50
Rata-rata	-	11,8 3	13,2	15,1 8	18,08	-	12	13,4 1	14,3	15,41
Kategori	-	Kuat	Kuat	Kuat	Kuat	-	Kuat	Kuat	Kuat	Kuat

Gambar 1. Kurva rata-rata aktivitas antibakteri ekstrak daun sembung terhadap bakteri *Bacillus subtilis*.



Kons.	Rata-rata
70%	11,83
80%	13,2
90%	15,18
100%	18,08

Gambar 2. Kurva rata-rata aktivitas antibakteri ekstrak batang sembulan terhadap bakteri *Bacillus subtilis*.



Kons.	Rata-rata
70%	12
80%	13,41
90%	14,3
100%	15,41

Pembahasan

Setelah dilakukan penelitian terhadap ekstrak daun dan batang sembulan (*Paederia foetida*) terhadap *Bacillus subtilis* diperoleh hasil bahwa ekstrak daun dan batang sembulan mempunyai daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri dengan melihat adanya zona hambat disekeliling ekstrak yang telah di buat dengan cara sumuran , yang ditunjukkan dengan rata-rata zona hambat lebih dari 10 mm pada semua konsentrasi.

Langkah pertama yang dilakukan yaitu mengambil masing-masing 1 kg daun dan batang sembukan yang segar, lalu dicuci bersih dengan menggunakan air yang mengalir sehingga kotoran yang terdapat pada daun dan batang sembukan hilang, kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Daun dan batang sembukan yang telah kering kemudian dihaluskan dengan cara diblender atau ditumbuk, selanjutnya dilakukan pengayakan dengan ayakan 30 mesh. Daun dan batang sembukan yang telah halus siap untuk di ekstraksi yaitu dengan cara maserasi (cara dingin).

Proses ekstraksi menggunakan metode maserasi alasannya karena ekstrak yang diperoleh tidak mudah ditumbuhi kapang dan khamir. Dalam proses maserasi yang dilakukan yaitu menimbang masing-masing 10 gram daun dan batang sembukan, kemudian direndam dalam wadah dengan menggunakan pelarut etanol 96% masing-masing wadah sebanyak 200 mL pelarut, lalu didiamkan selama 5 hari sambil sesekali diaduk. Alasan penggunaan pelarut etanol 96% karena bersifat lebih selektif yaitu hanya menarik zat berkhasiat yang dikehendaki, kapang dan khamir sulit tumbuh, dan mendapatkan ekstrak kental lebih cepat dibandingkan pelarut etanol 70% (Misna dan Diana, 2016). Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode difusi cara sumuran dengan menggunakan alat lubang (*Crock bor*) untuk membuat lubang pada media NA yang telah padat dan ditambahkan suspensi bakteri dengan cara pour plate. Setelah lubang terbentuk kemudian dimasukkan ekstrak yang telah dibuat dengan masing-masing konsentrasi. Alasan penggunaan metode difusi sumuran karena ekstrak langsung dimasukkan disetiap lubang maka efek untuk menghambat bakteri lebih kuat (Misna dan Diana, 2016).

Untuk mengetahui apakah ekstrak etanol daun dan batang sembukan memiliki sifat bakterisidal maka dilakukan pengamatan zona hambat dilanjutkan selama 48 jam. Setelah diamati pada 48 jam bakteri tidak tumbuh pada daerah hambat. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun dan batang sembukan dapat membunuh bakteri. Dari penjelasan tersebut bahwa ekstrak etanol daun dan batang sembukan bersifat bakteristatik dan bakterisidal terhadap bakteri *Bacillus subtilis*.

Uji ekstrak dibuat dalam beberapa konsentrasi yaitu 70%, 80%, 90%, dan 100%. Aquadest sebagai kontrol negatif dan etanol sebagai kontrol positif sebagai pembanding terhadap hasil ekstrak yang diujikan. Hal ini dilakukan untuk mengetahui pada konsentrasi berapa ekstrak etanol daun dan batang sembung dapat memberi efek antibakteri yang paling efektif dengan ditandai adanya zona hambat.

Media yang digunakan untuk pertumbuhan bakteri yaitu media nutrient agar yang merupakan salah satu media umum yang digunakan dalam prosedur bakteriologi seperti produk pangan, uji biasa dari air, untuk membawa stok kultur, sewage, untuk pertumbuhan sampel uji pada bakteri (Misna dan Diana, 2016).

Berdasarkan hasil pada Tabel 1 diperoleh bahwa pada semua konsentrasi baik itu pada ekstrak etanol daun dan batang sembung menunjukkan kekuatan zona hambat yang dikategorikan kuat. Hal ini dapat dilihat karena rata-rata zona hambat yang terbentuk lebih dari 10 mm. Namun pada konsentrasi 100% baik itu pada ekstrak etanol daun dan batang sembung menunjukkan zona hambat yang paling luas terhadap bakteri *Bacillus subtilis*. Berdasarkan data yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun dan batang sembung diketahui dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*.

Berdasarkan grafik kurva rata-rata pada Gambar 1 diketahui konsentrasi yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* yaitu terdapat pada konsentrasi 100% yang menghasilkan rata-rata zona hambat sebesar 18,08 mm dengan kategori kuat. berdasarkan data tersebut, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun sembung dapat berpotensi menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*. Berdasarkan gambar kurva 1 tersebut dapat dilihat bahwa hasil korelasi r yang diperoleh dari $R^2 = 0,9733$. Hal ini dapat disimpulkan bahwa nilai y (zona hambat) terdapat hubungan yang sangat kuat atau sangat tinggi terhadap nilai x (konsentrasi).

Berdasarkan grafik kurva rata-rata pada Gambar 2 diketahui konsentrasi yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* yaitu terdapat pada konsentrasi 100% yang menghasilkan rata-rata zona hambat sebesar 15,41 mm dengan kategori kuat. berdasarkan data tersebut, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun sembung dapat berpotensi menghambat

pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*. Berdasarkan gambar kurva 2 tersebut dapat dilihat bahwa hasil korelasi r yang diperoleh dari $R^2 = 0,992$. Hal ini dapat disimpulkan bahwa nilai y (zona hambat) terdapat hubungan yang sangat kuat atau sangat tinggi terhadap nilai x (konsentrasi).

Berdasarkan nilai Sig. yang diperoleh antara konsentrasi daun dan batang diketahui bahwa nilai Sig. pada daun sebesar 0,000 sedangkan nilai Sig. pada batang sebesar 0,006. Apabila dibandingkan antara konsentrasi yang terdapat pada daun dengan konsentrasi yang terdapat pada batang diketahui $0,000 < 0,006$ lebih besar konsentrasi yang terdapat pada batang dalam menghambat pertumbuhan bakteri *bacillus subtilis*. Sehingga dapat disimpulkan bahwa besar pengaruh antara konsentrasi daun dengan konsentrasi batang dalam menghambat pertumbuhan bakteri *bacillus subtilis* lebih berpengaruh konsentrasi yang terdapat pada batang.

Kekuatan ekstrak etanol daun dan batang sembukan ini diduga karena kandungan senyawa kimia yang terkandung di dalam tanaman tersebut. Selain itu juga diduga dari sensitivitas bakteri *Bacillus subtilis* termasuk Gram negatif lebih peka bila dibandingkan dengan bakteri Gram positif *Staphylococcus aureus*. Dinding sel bakteri Gram positif mengandung substansi dinding sel yang disebut asam teikoat dan juga memiliki lapisan peptidoglikan yang membentuk struktur kaku dan tebal, sedangkan dinding sel bakteri Gram negatif terdapat satu atau lebih lapisan peptidoglikan yang tipis, sehingga dinding sel bakteri lebih rentan terhadap guncangan fisik, seperti pemberian antibakteri dan antibiotik (Radji, 2011).

Dibandingkan dengan penelitian sebelumnya oleh Abriyanto, dkk., (2012) aktivitas antifungi ekstrak etanol daun sembukan (*Paederia foetida*) terhadap *Candida albicans* yang mengandung senyawa kimia flavonoid, dan terpenoid yang diuji dengan menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan pengujian zona hambat menggunakan metode kertas cakram. Diperoleh hasil bahwa ekstrak etanol daun sembukan tidak memiliki aktivitas antifungi terhadap *Candida albicans* karena pada fungi memiliki dinding sel yang terlalu kompleks dan rapat yang tersusun dari dinding selulosa, dan khitin, di mana dinding sel tersebut sehingga senyawa aktif ekstrak etanol daun sembukan tidak bisa masuk atau menembus dinding selulosa *C. Albicans*. Sedangkan pada penelitian yang

menggunakan ekstrak etanol daun dan batang sembukan terhadap bakteri *Bacillus subtilis* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pengolahan data dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak daun dan batang sembukan berpengaruh signifikan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*. Daun dan batang sembukan dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* karena zona hambatnya yang kuat, yang ditunjukkan dengan rata-rata zona hambat lebih dari 10 mm pada semua konsentrasi. Rata-rata pada daun sembukan 70% (11,83 mm), 80% (13,2 mm), 90% (15,18 mm), dan 100% (18,08 mm). Dan rata-rata pada batang sembukan 70% (12 mm), 80% (13,41 mm), 90% (14,3 mm), dan 100% (15,41 mm).

RUJUKAN

- Abriyanto, E. A., Sabikis, & Sudarso. (2012, Desember). Aktivitas Anti Fungi Ekstrak Etanol Daun Sembukan (*Paederia foetida* L.) Terhadap *Candida albicans*. **Pharmacy**, Volume 09, No.3, 9.
- Biswas, A.K., M. J. (2012). Anti Oxidant Potential of curry (*Murraya koenigii* L.) and Mint (*Mentha spicata*) Leaf Extracts and Their Effect on Color and Oxidative Stability of Raw Ground Pork Meat During Refrigeration Storage. **J. Food Chem**, 133, 467-472.
- Harborne, J. (1987). *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung: ITB.
- Misna, & Diana, K. (2016, Oktober). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Bawang Merah (*Allium cepa* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. **Galenika Journal Of Pharmacy**, Volume 2, 142-143.
- Pratama, D. G., Bawa, I. A., & Gunawan, I. G. (2016, Januari). Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Minyak Atsiri Dari Tumbuhan Sembukan (*Paederia*

foetida L.) Dengan Metode Kromatografi Gas-Spektroskopi Massa (GC-MS). **Jurnal Kimia**, 149-150.

Radji, M. (2011). **Mikrobiologi**. *Buku Kedokteran*.

Rastina, Sudarwanto, M., & Wientarsih, I. (2015, September). **Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kari (*Murraya Koenigii*) Terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas sp.*** *Kedokteran Hewan, Volume 9 No. 2*, 186-187.

Widodo, P. (t.thn.). **Manfaat Daun Sembukan (*Paederia foetida* L.)**.