

AKTIVITAS ANTIBAKTERI REBUSAN LERAK (*Sapindus rarak*) TERHADAP PERTUMBUHAN *Escherichia coli* PHATOGEN

Yusianti Silviani¹, Andriyani Puspitaningrum²

¹Akademi Analis Kesehatan Nasional

yusianti.silviani@gmail.com

²Akademi Analis Kesehatan Nasional

andriyani.pn@gmail.com

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri rebusan lerak (*Sapindus rarak*) terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* patogen (*Enteropathogenic Escherichia coli* dan *Enterotoxigenic Escherichia coli*). Jenis penelitian ini adalah analitik eksperimental dengan desain *posttest without control*. Populasi penelitian ini adalah buah lerak (*Sapindus rarak*) yang dijual di kota Surakarta dengan teknik sampling kuota sampling. Uji hipotesis menggunakan *one way ANOVA*. Hasil penelitian Kadar Bunuh Minimum untuk EPEC sebesar 75%, sedangkan ETEC tidak didapati KBM. Kadar Hambat Minimal untuk EPEC maupun ETEC tidak dapat disimpulkan. Berdasarkan hasil uji *one way ANOVA* didapatkan hasil p value = 0,000 untuk variasi konsentrasi EPEC dan p value = 0,000 untuk variasi konsentrasi ETEC. Ada perbedaan aktivitas antibakteri variasi konsentrasi rebusan lerak (*Sapindus rarak*) terhadap pertumbuhan EPEC dan ETEC.

Kata Kunci : Rebusan buah lerak, *Escherichia coli* patogen, KHM, KBM, disk diffusion

PENDAHULUAN

Diare merupakan salah satu penyakit infeksi yang masih banyak ditemukan di negara berkembang, termasuk Indonesia. Menurut data UNICEF (*United Nations Children's Fund*) pada tahun 2012, diare adalah penyebab kematian balita nomor satu di dunia dan merupakan pembunuh balita nomor dua di Indonesia.

Salah satu bakteri penyebab diare adalah *Escherichia coli*. Menurut virotipnya *Escherichia coli* digolongkan menjadi 5 yaitu EPEC, ETEC, EHEC, EAEC, EIEC. Penyebab diare utama pada balita dan anak di negara berkembang adalah *Enteropathogenic Escherichia coli* (EPEC) (Kaper *et al.* 2004). Infeksi EPEC pada manusia terjadi melalui makanan yang dikonsumsi. Setelah EPEC masuk ke dalam tubuh melalui makanan, bakteri ini kemudian masuk ke dalam saluran pencernaan dan melekat pada mukosa usus kemudian EPEC dapat masuk ke dalam sel mukosa. (Jawetz *et al.* 2005). Gejala klinis dari infeksi bakteri EPEC ini adalah diare berair, muntah, dan demam. Diare tersebut dapat sembuh dengan sendirinya, namun dapat pula mengakibatkan enteritis kronis yang mengganggu pertumbuhan balita (Johannes, 2012).

Selain EPEC, ETEC juga merupakan penyebab diare pada wisatawan dan anak pada negara berkembang. ETEC memiliki kemampuan melekat pada sel epitel usus halus dengan bantuan faktor kolonisasi. Beberapa strain ETEC menghasilkan enterotoksin yang dapat bersifat termostabil maupun termolabil (Jawetz *et al.* 2005).

Kasus diare dapat membahayakan jiwa bila tidak ditangani secara tepat. Penggunaan antibiotik menjadi pilihan utama dalam penanganan kasus infeksi bakteri. Namun demikian penggunaan antibiotik yang tidak tepat dapat mengakibatkan resistensi bakteri. Menurut Bolton *et al.* (2013) *Enteropathogenic Escherichia coli* (EPEC) sudah bersifat resisten terhadap antibiotik jenis nalidixic acid, tetracycline, aminoglycosides, quinolones, dan sulphonamides. Berdasarkan fakta di atas maka perlu dikembangkan pengobatan herbal.

Salah satu obat herbal yang dapat digunakan sebagai alternatif pengobatan diare adalah lerak (*Sapindus rarak*). Lerak merupakan tumbuhan yang dapat tumbuh dengan baik pada ketinggian 450 sampai 1.500 m di atas permukaan air laut, memiliki kelembaban tinggi dan banyak ditemui di Jawa Tengah. Masyarakat Indonesia menggunakan lerak sebagai nematisida, insektisida, antiseptik, serta bahan pencuci rambut dan pencuci batik (Udarno, 2009)

Selain bermanfaat untuk bahan pencuci kain dan logam mulia, lerak juga mengandung senyawa fitokimia yang berfungsi sebagai antibakteri. Senyawa itu adalah alkaloid, tannin, flavonoid, polifenol dan saponin (Udarno, 2009). Alkaloid bekerja sebagai antibakteri dengan mengganggu penyusunan peptidoglikan pada sel bakteri sehingga pembentukan dinding sel menjadi tidak sempurna (Paju dkk. 2013). Polifenol atau fenol bekerja sebagai antibakteri dengan cara mendenaturasi protein sel dan menghambat sintesis asam nukleat (Bachtiar dkk. 2012). Flavonoid bekerja dengan mengikat protein sehingga mengganggu proses metabolisme. Tannin bekerja dengan mengkoagulasi protoplasma bakteri. Saponin bekerja dengan meningkatkan permeabilitas membran sel bakteri (Poeloengan dan Praptiwi, 2010).

Berdasarkan uraian di atas diharapkan rebusan lerak (*Sapindus rarak*) dapat digunakan sebagai antibakteri dari EPEC dan ETEC.

RUMUSAN MASALAH

Berdasarkan uraian di atas selanjutnya dapat dibuat rumusan masalah: Bagaimanakah aktivitas antibakteri rebusan lerak (*Sapindus rarak*) terhadap EPEC dan ETEC?

TUJUAN PENELITIAN

Penelitian ini bertujuan untuk 1) Mengetahui Kadar Hambat Minimal dari rebusan buah lerak terhadap EPEC dan ETEC. 2) Mengetahui Kadar Bunuh Minimal dari rebusan buah lerak terhadap EPEC dan ETEC, 3) Mengetahui Daya Hambat variasi konsentrasi rebusan buah lerak terhadap EPEC dan ETEC.

MANFAAT PENELITIAN

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai bahan herbal yang dapat digunakan sebagai alternatif pengobatan diare yang disebabkan oleh EPEC dan ETEC

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian analitik eksperimental dengan desain *posttest without control*. Populasi pada penelitian ini adalah buah lerak yang dijual di Surakarta. Teknik sampling yang digunakan pada penelitian ini adalah kuota sampling. Data yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan uji Kruskal Wallis.

Pada EPEC digunakan variasi konsentrasi 60%, 62,5%, 65%, 67,5%, 70%, 72,5% dan 75%, sedangkan pada ETEC digunakan variasi konsentrasi 80%, 82,5%, 85%, 87,5%, 90%, 92,5%, 95%, 97,5% dan 100%. Metode daya hambat yang digunakan adalah metode Kirby Bauer dengan Standart Mc Farland no 0,5

PEMBUATAN EKSTRAK

Sebanyak 100 gram buah lerak yang sudah dibuang bijinya, dibersihkan dan ditambahkan 100 ml aquadest, kemudian direbus hingga mendidih dan disaring dengan menggunakan kertas saring.

Hasil rebusan digunakan sebagai konsentrasi 100% kemudian diencerkan sehingga didapatkan konsentrasi 60%, 62,5%, 65%, 67,5%, 70%, 72,5% dan 75% untuk EPEC, 80%, 82,5%, 85%, 87,5%, 90%, 92,5%, 95%, 97,5% dan 100% untuk ETEC.

PENYIAPAN MIKROBA UJI

Penyiapan bakteri. Sebanyak satu ujung ose dari kultur bakteri standar digoreskan pada media Nutrien Agar Plate dan diinkubasi 35°C-37°C selama 18-24 jam. Dari biakan Nutrien Agar dibuat suspensi sesuai dengan kekeruhan pada Standart Mc Farland no 0,5 dengan kepadatan $1,0 \times 10^8$ CFU/ml.

UJI KADAR HAMBAT MINIMAL PADA EPEC

Sebanyak 1 ml Nutrient Broth dimasukkan ke dalam 9 tabung reaksi. Tabung 1 sampai 7 digunakan untuk sampel konsentrasi 60% sampai dengan 75%, tabung 8 digunakan untuk kontrol positif dan tabung 9 digunakan untuk kontrol negatif. Kemudian pada masing masing tabung no 1 - 8 ditambahkan 1 ml suspensi bakteri sesuai dengan standart Mc Farland no 0,5 yang sudah diencerkan 100X. Tabung no 1 – 7 diisi ekstrak aquadest lerak dengan variasi konsentrasi dan tabung ke 9 diisi dengan ekstrak aquadest lerak dengan konsentrasi 100%. Inkubasi semua tabung pada 37°C selama 24 jam. Amati kekeruhan pada setiap tabung.

UJI KADAR HAMBAT MINIMAL PADA ETEC

Sebanyak 1 ml Nutrient Broth dimasukkan ke dalam 9 tabung reaksi. Tabung 1 sampai 7 digunakan untuk sampel konsentrasi 80% sampai dengan 100%, tabung 8 digunakan untuk kontrol positif dan tabung 9 digunakan untuk kontrol negatif. Kemudian pada masing masing tabung no 1 - 8 ditambahkan 1 ml suspensi bakteri sesuai dengan standart Mc Farland no 0,5 yang sudah diencerkan 100X. Tabung no 1 – 7 diisi ekstrak aquadest lerak dengan variasi konsentrasi dan tabung ke 9 diisi dengan ekstrak aquadest lerak dengan konsentrasi 100%. Inkubasi semua tabung pada 37°C selama 24 jam. Amati kekeruhan pada setiap tabung.

UJI KADAR BUNUH MINIMAL

Inokulasikan sebanyak 36 ose (diameter 1mm) dari masing-masing tabung ke media Nutrient Agar plate secara *streaking*. Inkubasi semua tabung pada 37°C selama 24 jam. Amati pertumbuhan koloni pada tiap plate (CLSI, 2012).

UJI DISK DIFFUSION

Inokulasikan suspensi bakteri dengan kepadatan $1,0 \times 10^8$ CFU/ml ke media Nutrient Agar plate secara perataan. Kemudian lakukan pemasangan disk blank yang sudah diisi dengan rebusan lerak. Inkubasi semua tabung pada 37°C selama 24 jam.

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

1. Uji Fitokimia Rebusan Lerak

Rebusan lerak dengan konsentrasi 100% dilakukan uji fitokimia dan didapatkan hasil sebagai berikut:

Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia Rebusan Lerak

Bahan Aktif	Hasil	Kesimpulan
Flavonoid	Warna kuning-merah	positif
Alkaloid	Endapan jingga setelah penambahan HCL dan dragendrof	positif
Saponin	Terbentuk busa dengan tinggi 1 -3 cm yang stabil selama 10 menit setelah dilakukan pengocokan	positif

Tannin	Warna hijau kebiruan setelah ditambah air dan FeCl ₃	positif
Polifenol	Warna biru – hitam setelah ditambah FeCl ₃	positif

2. Kadar Hambat Minimal EPEC

Tabel 2 Hasil Kadar Hambat Minimal Rebusan Lerak terhadap EPEC

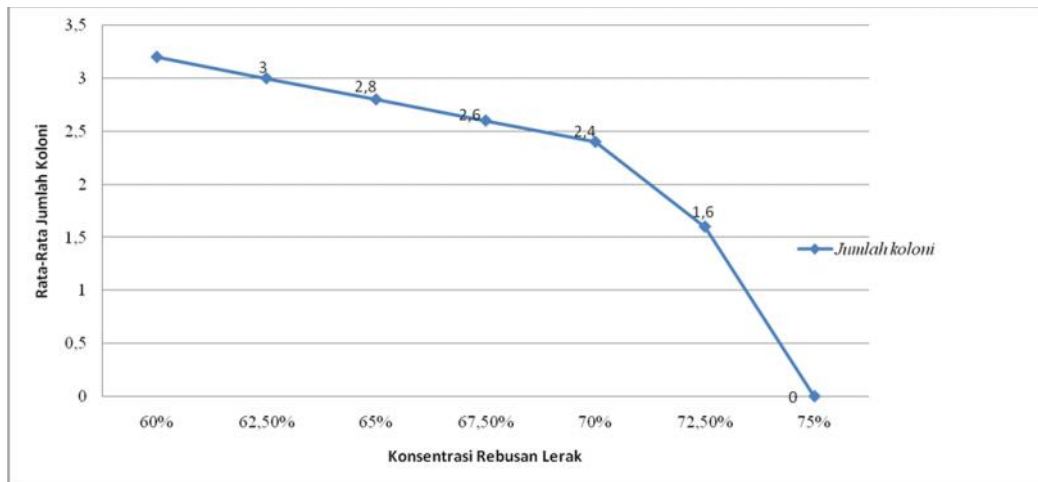
Konsentrasi	Pengulangan				
	I	II	III	IV	V
60%	+	+	+	+	+
62,5%	+	+	+	+	+
65%	+	+	+	+	+
67,5%	+	+	+	+	+
70%	+	+	+	+	+
72,5%	+	+	+	+	+
75%	+	+	+	+	+
Kontrol rebusan	+	+	+	+	+

Keterangan : (+) terdapat kekeruhan

(-) tidak terdapat kekeruhan

Semua konsentrasi termasuk kontrol rebusan didapati kekeruhan (Tabel 2) sehingga kadar hambat minimal tidak dapat disimpulkan dengan melihat secara visual kekeruhan, selanjutnya dilakukan penggosokan dari masing-masing tabung ke media NA plate.

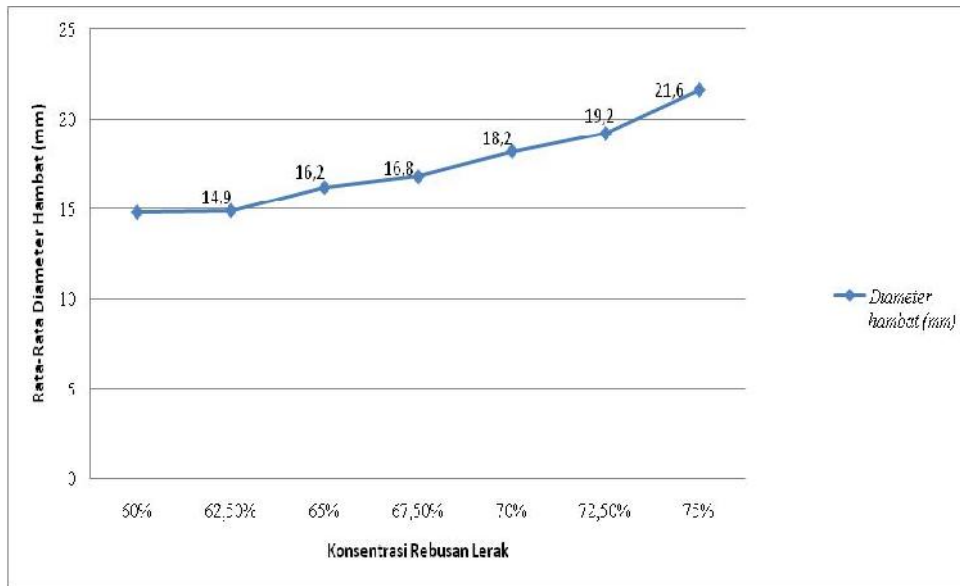
3. Kadar Bunuh Minimal EPEC



Gambar 1. Grafik Hasil Kadar Bunuh Minimal pada EPEC

Konsentrasi 75% merupakan Kadar Bunuh Minimal EPEC karena tidak didapati pertumbuhan koloni bakteri.

4. Disk Diffusion



Gambar 2. Grafik Diameter Zona Hambat Rebusan Lerak Terhadap EPEC Semakin tinggi konsentrasi rebusan lerak maka semakin besar diameter zona hambat

5. Kadar Hambat Minimal ETEC

Tabel 3 Hasil Kadar Hambat Minimal Rebusan Lerak terhadap ETEC

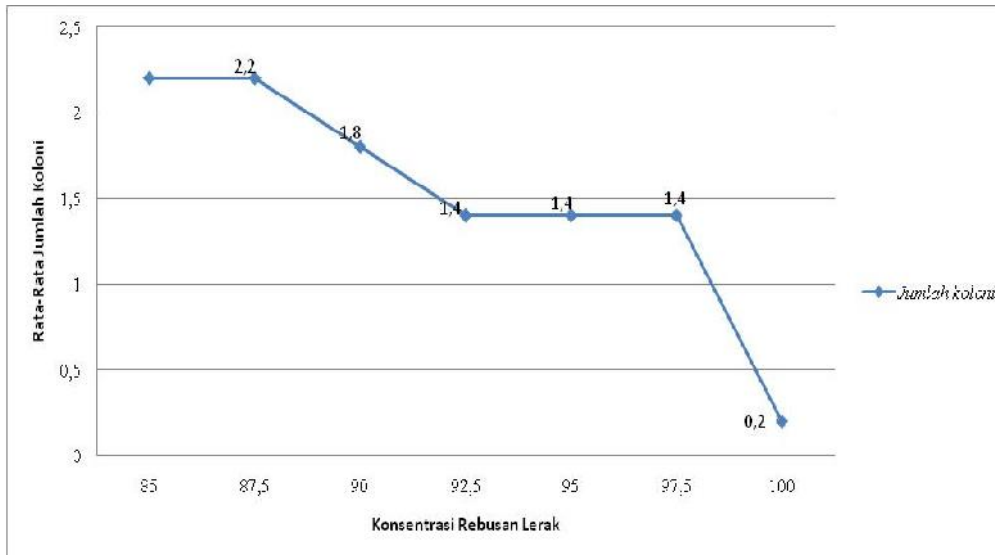
Konsentrasi	Pengulangan				
	I	II	III	IV	V
85	+	+	+	+	+
87,5	+	+	+	+	+
90	+	+	+	+	+
92,5	+	+	+	+	+
95	+	+	+	+	+
97,5	+	+	+	+	+
100	+	+	+	+	+
Kontrol rebusan	+	+	+	+	+

Keterangan : (+) terdapat kekeruhan

(-) tidak terdapat kekeruhan

Semua konsentrasi termasuk kontrol rebusan didapati kekeruhan (Tabel 3) sehingga kadar hambat minimal tidak dapat disimpulkan dengan melihat secara visual kekeruhan, selanjutnya dilakukan penggosokan dari masing-masing tabung ke media NA plate.

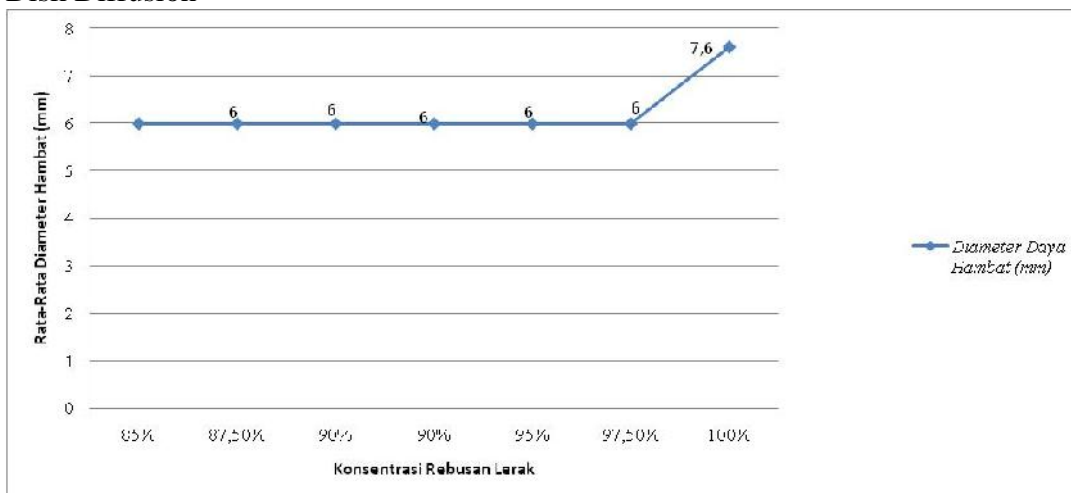
6. Kadar Bunuh Minimal ETEC



Gambar 3. Grafik Kadar Bunuh Minimal pada ETEC

Pada konsentrasi 100% masih terdapat koloni ETEC kadar bunuh minimal pada ETEC tidak bisa disimpulkan.

7. Disk Diffusion



Gambar 4. Grafik Diameter Zona Hambat Rebusan Lerak Terhadap ETEC

Semakin tinggi konsentrasi rebusan lerak maka semakin besar diameter zona hambatan.

8. Uji Beda Variasi Konsentrasi Rebusan Lerak Terhadap EPEC dan ETEC

Tabel 6. Hasil Uji Beda Daya Hambat Variasi Konsentrasi Rebusan Lerak Terhadap EPEC dan ETEC

	Sig.
Konsentrasi EPEC	0,000
Konsentrasi ETEC	0,000

Berdasarkan Tabel 6 dapat disimpulkan ada perbedaan daya hambatan variasi konsentrasi rebusan lerak terhadap EPEC dan ETEC

9. Uji Lanjut Daya Hambat Variasi Konsentrasi Rebusan Lerak Terhadap EPEC dan ETEC

Tabel 7. Hasil Uji Lanjut Daya Hambat Variasi Konsentrasi Rebusan Lerak

Terhadap EPEC	
Konsentrasi	Rata-rata diameter zona hambat
60%	14,8 ^a
62,5%	14,9 ^a
65%	16,2 ^a
67,5%	16,8 ^a
70%	18,2 ^{ab}
72,5%	19,2 ^{ab}
75%	21,6 ^b

Ket : Huruf yang sama di belakang angka tidak berbeda significant menurut uji scheffe = 0,05

Tabel 8. Uji Lanjut Daya Hambat Variasi Konsentrasi Rebusan Lerak Terhadap ETEC

Konsentrasi	Rata-rata diameter zona hambat
85%	6 ^a
87,5%	6 ^a
90%	6 ^a
92,5%	6 ^a
95%	6 ^a
97,5%	6 ^a
100%	7,6 ^b

Ket : Huruf yang sama di belakang angka tidak berbeda significant menurut uji scheffe = 0,05

Escherichia coli merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang, berukuran 0,4-0,7 x 1,0-3,0 μm dapat hidup soliter maupun berkelompok, umumnya motil, tidak membentuk spora serta fakultatif anaerob (Carter and Wise, 2004). EPEC merupakan penyebab diare cair pada balita dengan menggunakan gen *EPEC adherence faktor* (EAF) yang menyebabkan perubahan konsentrasi kalsium intraseluler dan arsitektur sitoskeleton di bawah membrane mikrovilus. ETEC merupakan penyebab diare pada wisatawan dan anak. ETEC dapat melekat pada sel epitel usus dengan bantuan faktor kolonisasi dan enterotoksin (Jawetz *et al.* 2005).

Berdasarkan Tabel 1 diketahui bahwa rebusan lerak memiliki senyawa aktif alkaloid, saponin, polifenol, flavonoid dan tannin. Senyawa aktif ini mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Alkaloid berperan dalam mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel bakteri tidak terbentuk secara utuh. Flavonoid merusak susunan dan merubah mekanisme permeabilitas dinding sel bakteri (Paju dkk. 2013). Tannin mengkoagulasi protoplasma bakteri (Poeloengan dan Praptiwi, 2010). Polifenol bekerja sebagai antibakteri dengan cara mendenaturasi protein sel dan menghambat sintesis asam nukleat (Bachtiar dkk. 2012). Pada gambar 1 dan 3 terlihat penurunan jumlah koloni bakteri EPEC dan ETEC, sehingga bisa disimpulkan semakin tinggi konsentrasi maka semakin baik aktivitas penghambatannya. Hal ini didukung dengan gambar 2 dan 3 yang menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi maka semakin besar daya hambat rebusan lerak terhadap EPEC dan ETEC. Poeloengan dkk. (2007) menjelaskan bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak maka semakin besar pula daya hambat yang ditimbulkan. Pada konsentrasi yang lebih besar semakin banyak zat aktif yang terdapat di dalam ekstrak. Berdasarkan Tabel 6 diketahui bahwa variasi konsentrasi rebusan lerak memberikan perbedaan daya hambat terhadap EPEC dan ETEC.

Uji lanjut yang dilakukan (Tabel 7 dan 8) didapati bahwa konsentrasi 75% merupakan konsentrasi minimal yang menunjukkan perbedaan daya hambat terhadap EPEC, sedangkan pada ETEC konsentrasi minimal yang memperlihatkan perbedaan daya hambat adalah konsentrasi 100%.

Pada EPEC didapati nilai KBM sebesar 75% sedangkan pada ETEC tidak didapati KBM. Ketidakmampuan rebusan lerak membunuh bakteri dalam konsentrasi kecil dikarenakan pelarut aquadest yang digunakan dalam pembuatan rebusan. Pada aquadest jumlah senyawa aktif yang tertarik sedikit dibandingkan pelarut etanol. Selain itu, pelarut aquadest dapat menarik karbohidrat seperti gom dan pati sehingga dapat menurunkan keefektifitasannya dalam menghambat pertumbuhan bakteri (Septiana dan Asnani, 2012).

Konsentrasi yang dibutuhkan untuk menghambat maupun membunuh ETEC lebih tinggi daripada EPEC. Hal ini disebabkan karena ETEC memiliki faktor kolonisasi yang terdiri dari CFA (*Colonization Factor Antigen*), CS (*Coli Surface Antigen*), atau PCF (*Putation Colonization Factor*) (Kaper *et al.* 2004). Selain itu penelitian yang dilakukan Alikhani *et al* (2013) menunjukkan bahwa ETEC lebih banyak resisten terhadap antibiotik dibandingkan dengan strain *Escherichia coli* lain (EPEC, EAEC dan EIEC).

PENUTUP

Hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa KBM EPEC dan ETEC berbeda yaitu: EPEC 75% sedangkan ETEC tidak dapat disimpulkan. Rebusan lerak memiliki efektivitas penghambatan lebih tinggi pada EPEC dibandingkan pada ETEC. Ada perbedaan daya hambat variasi konsentrasi rebusan lerak terhadap pertumbuhan EPEC dan ETEC. Semakin tinggi konsentrasi semakin besar aktivitas antibakteri. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai potensi lerak sebagai antibakteri dalam berbagai pelarut pada berbagai macam bakteri.

DAFTAR PUSTAKA

- Alikhani, M.Y, Hashemi, S.H, Aslani, M.M, Farajnia, S. 2013. Prevalence and antibiotic resistance patterns of diarrheagenic *Escherichia coli* isolated from adolescents and adults in Hamedan, Western Iran. *Iranian Journal of Mycobiology* 5 (1). Division of Infectious Diseases. Sina Hospital.
- Bachtiar, S.Y, Tjahjaningsih, W, Sianita, N. 2012. Pengaruh Ekstrak Alga Cokelat (*Sargassum sp.*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. *Journal of Marine and Coastal Science* 1(1). p 53 – 60
- Bolton, D.J, Ennis, C, McDowell, D. Occurrence. 2013. *Virulence Genes and Antibiotic Resistance of Enteropathogenic Escherichia coli (EPEC) from Twelve Bovine Farms in the North-East of Ireland*. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23782867>
- Carter, G. R. and Wise, D. J. 2004. *Essentials of Veterinary Bacteriology and Mycology 6th ed.* Iowa State Press, Blackwell Publishing Company.
- Jawetz, E., Y. L. Melnick, dan E. A. Adelberg. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: EGC.
- Johannes, E. 2012. Pemanfaatan Senyawa Bioaktif Hasil Isolasi Hydroid *Aglaophenia cupressina* Lamoureux sebagai Bahan Sanitizer pada Buah dan Sayuran Segar. *Disertasi*. Universitas Hasanuddin: Makassar.

- Kaper, J.B, Nataro, J.P, Mobley, H.L.T. 2004. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nature Reviews*. Department of Microbiology and Immunology, and the Department of Pediatrics, University of Maryland School of Medicine. Baltimore.
- Paju, N., P. V. J. Yamlean, dan N. Kojong. 2013. Uji Efektivitas Salep Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) pada Kelinci (*Oryctolagus cuniculus*) yang Terinfeksi Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Farmasi – UNSRAT* Vol. 2 No. 01.
- Poeloengan, Andriani, Susan M. N., I. Komala dan M. Hasnita. 2007. Uji daya antibakteri ekstrak etanol kulit batang bungur (*Lagerstomia speciosa pers*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* secara in vitro. *Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner 2007*; 776-782.
- Poeloengan, M, Praptiwi. 2010. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* Linn). *Media Litbang Kesehatan* 20 (2)
- Septiana, A.T, Asnani, A. 2012. Kajian Sifat Fisikokimia Ekstrak Rumput Laut Coklat (*Sargassum duplicatum*) Menggunakan Berbagai Pelarut dan Metode Ekstraksi. *Jurnal Argointek* 6 (1) p 22 – 28
- Trabulsi, L. R., R. Keller dan T. A. T. Gomes. 2013. *Typical and Atypical Enteropathogenic*. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23782867>.
- Udarno, L. 2009. Lerak (*Sapindus rarak*) Tanaman Industri Pengganti Sabun. *Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri* Volume 15, Nomor 2. Bogor : Badan Penelitian dan Pengembangan Perkebunan.
- UNICEF. 2012. *The Situation of Children and Women in Indonesia*. www.unicef.org/