

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL KULIT BATANG
KEDONDONG (*Spondias pinnata*) TERHADAP BAKTERI
Staphylococcus epidermidis DAN *Klebsiella pneumonia***

NASKAH PUBLIKASI



**Disusun oleh:
WIDIA INDRIANA
K100 080 123**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA
SURAKARTA
2013**

PENGESAHAN NASKAH PUBLIKASI


**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL KULIT
BATANG KEDONDONG (*Spondias pinnata*) TERHADAP BAKTERI
Staphylococcus epidermidis DAN *Klebsiella Pneumonia***

Oleh :
WIDIA INDRIANA
K100080123

Telah disetujui dan disahkan pada :

Hari : Jumat
Tanggal : 18 Januari 2015

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Muhammadiyah Surakarta
Dekan,


Dr. Muhammad Da'i, M.Si., Apt.

Penguji I



Ika Trisharyanti DK, M.Farm., Apt

Penguji II



Peni Indrayudha, M.Biotech., Apt

Pembimbing Utama



Ratna Yuliani, M.Biotech.St

Pembimbing/Pendamping



Rima Munawaroh, M.Sc., Apt

Mahasiswa


Widia Indriana

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL KULIT BATANG
KEDONDONG (*Spondias pinnata*) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus
epidermidis* DAN *Klebsiella pneumonia***

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF THE ETHANOL EXTRACT OF STEM BARK
of *Spondias pinnata* AGAINST *Staphylococcus epidermidis*
AND *Klebsiella pneumonia***

Widia Indriana, Ratna Yuliani, dan Rima Munawaroh
Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta

ABSTRAK

Penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri masih banyak dijumpai, salah satunya adalah penyakit kulit yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus epidermidis*. Selain itu, *Klebsiella pneumonia* juga merupakan salah satu mikroorganisme yang dapat menyebabkan terutama infeksi saluran kemih (ISK), infeksi pernafasan dan bakteremia terutama pada individu yang daya tahan tubuhnya lemah. Salah satu tanaman obat yang dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional adalah kedondong (*Spondias pinnata*). Tanaman ini dapat mengobati diare, disentri, rematik, gonore, TBC, katarak, infeksi mulut dan tenggorokan. Kulit batang kedondong memiliki potensi sebagai antibakteri terhadap *Bacillus subtilis* dan *Proteus mirabilis* dan senyawa pada kulit batang kedondong yang diduga mempunyai aktivitas antibakteri adalah alkaloid, flavonoid, dan polifenol. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol kulit batang kedondong (*Spondias pinnata*) terhadap *Staphylococcus epidermidis* dan *Klebsiella pneumonia*.

Kulit batang kedondong diekstraksi dengan etanol 96% secara maserasi dan dilakukan uji aktivitas antibakteri dengan menggunakan metode dilusi padat. Ekstrak etanol kulit batang kedondong yang disuspensikan dalam CMC-Na 0,5% dengan konsentrasi 0,10%; 0,19%; 0,38%; dan 0,75% diuji aktivitas antibakterinya terhadap bakteri *S. epidermidis* dan *K. pneumonia*. Konsentrasi terendah ekstrak yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri dianggap sebagai Kadar Hambat Minimal (KHM).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit batang kedondong sampai konsentrasi 0,75% belum menunjukkan adanya penghambatan terhadap bakteri *S. epidermidis* dan *K. pneumonia*. Sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol kulit batang kedondong (*Spondias pinnata*) sampai konsentrasi 0,75 % tidak mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Klebsiella pneumonia*.

Kata kunci : *Spondias pinnata*, *Staphylococcus epidermidis*, *Klebsiella pneumonia*, antibakteri, ekstrak etanol.

ABSTRACT

Infectious diseases caused by bacteria are often found, one of which is a skin infection caused by Staphylococcus epidermidis. In addition, Klebsiella pneumonia is also one microorganism that can cause mainly urinary tract infection (UTI), respiratory

infections and bacteremia, especially in individuals whose immune systems. One of the medicinal plants that can be used as traditional medicine is amra (*Spondias pinnata*). This plant can treat diarrhea, dysentery, rheumatism, gonorrhea, tuberculosis, cataracts, mouth and throat infections. The stem bark of *Spondias pinnata* has potential as an antibacterial against *Bacillus subtilis* and *Proteus mirabilis* and compounds in the bark kedondong is thought to have antibacterial activity of alkaloids, flavonoids, and polyphenols. The purpose of this study to determine the antibacterial activity of ethanol extract of bark amra (*Spondias pinnata*) against *Staphylococcus epidermidis* and *Klebsiella pneumonia*.

The stem bark of amra was extracted with 96% ethanol by maceration and tested the antibacterial activity using agar dilution method. The ethanol extract that was suspended in 0.5% CMC-Na with concentration of 0.10%, 0.19%, 0.38% and 0.75% were tested antibacterial activity against *S. epidermidis* and *K. pneumonia*. The lowest concentration of the extract to inhibit the growth of bacteria considered Levels Minimal Inhibitory (MIC).

The results showed that the ethanol extract of amra bark up to concentration of 0.75% has not shown any inhibition against *S. epidermidis* and *K. pneumonia*. It can be concluded that the ethanol extract of bark of amra up to concentration of 0.75% did not have antibacterial activity against *Staphylococcus epidermidis* and *Klebsiella pneumonia*.

Keywords: *Spondias pinnata*, *Staphylococcus epidermidis*, *Klebsiella pneumonia*, antibacterial, ethanol extract.

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi merupakan jenis penyakit yang paling banyak diderita oleh penduduk di negara berkembang, termasuk Indonesia. Salah satu penyebab penyakit infeksi adalah bakteri (Radji, 2011). Istilah infeksi menggambarkan pertumbuhan atau replikasi mikroorganisme di dalam tubuh inang. Penyakit timbul bila infeksi menghasilkan perubahan pada fisiologi normal tubuh (Pratiwi, 2008).

Salah satu bakteri yang dapat menyebabkan infeksi adalah *Staphylococcus epidermidis*. Bakteri ini dapat menyebabkan infeksi dari kateter intravena dan implan prostetik. Bakteri ini juga menjadi penyebab utama sepsis pada neonatus dan peritonitis pada pasien dengan gagal ginjal yang menjalani dialisis peritoneal melalui kateter (Levinson, 2004). Bakteri *Staphylococcus epidermidis* merupakan bakteri Gram-positif, koloni berwarna putih atau kuning, dan bersifat anaerob fakultatif. *Staphylococcus epidermidis* dapat menyebabkan infeksi kulit ringan yang disertai dengan pembentukan abses. *Staphylococcus epidermidis* biotipe-1 dapat menyebabkan infeksi kronis pada manusia (Radji, 2011).

Bakteri lain yang dapat menyebabkan infeksi adalah *Klebsiella pneumonia*. Bakteri ini merupakan Gram-negatif yang dapat menyebabkan terutama infeksi saluran

kemih (ISK), infeksi pernafasan dan bakteremia terutama pada individu yang daya tahan tubuhnya lemah (Schroll, *et al.*, 2010). Pneumonia yang disebabkan *Klebsiella pneumonia*, biasanya dimulai dengan gejala demam akut, malaise (lesu), dan batuk kering. Kemudian, batuknya menjadi produktif menghasilkan sputum berdarah dan purulent (nanah). Bila penyakit berlanjut, terjadi abses, nekrosis jaringan paru bronkitis dan fibrosis paru-paru. Angka kematiannya antara 40-60% (Entjang, 2003). Pada umumnya infeksi dapat diobati dengan menggunakan antibiotik.

Antibiotik memegang peranan penting dalam pengobatan infeksi karena bakteri. Antibiotik yang dapat digunakan untuk pengobatan infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Klebsiella pneumonia* yaitu netilmisin, amikasin, seftriakson, dan amoksisilin-asam klavulanat, sedangkan antibiotik yang dapat digunakan untuk infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus epidermidis* yaitu kanamisin, netilmisin, tobramisin, sefotaksim, dan seftizoksim. Tingkat resistensi yang tinggi disebabkan oleh penggunaan antibiotika yang berlebihan oleh masyarakat (Refdanita *et al.*, 2004). Sebagai pengatasan resistensi tersebut, timbulah pengobatan alternatif menggunakan tanaman yang berkhasiat sebagai obat.

Salah satu tanaman yang berkhasiat obat adalah kedondong (*Spondias pinnata*) yang merupakan keluarga Anacardiaceae yang umumnya tumbuh baik di lingkungan beriklim tropis. Untuk mendapatkan pertumbuhan dan produksi yang optimal, tanaman kedondong ditanam pada tanah yang subur, gembur, banyak mengandung bahan organik, aerasi, dan drainasinya baik, serta memiliki pH 5,5-6,5 (Rukman & Oesman, 2002). Kedondong dikenal juga dalam pengobatan infeksi penyakit seperti bronkitis, maag, disentri, diare, dan penyakit kulit. Daun muda, bunga, akar, dan kulit kayu berguna dalam pengobatan tradisional (Gupta, *et al.*, 2010).

Penelitian yang dilakukan oleh Chetia & Gogoi (2011), menunjukkan bahwa ekstrak metanol dari kulit batang *Spondias pinnata* memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Bacillus subtilis* dan *Proteus mirabilis* dengan Kadar Hambat Minimal (KHM) sebesar 128 µg/mL, *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan KHM sebesar 64 µg/mL. Hal itu karena kulit batang kedondong mengandung senyawa polifenol, alkaloid, dan flavonoid yang merupakan metabolit sekunder yang terlibat dalam mekanisme pertahanan terhadap serangan oleh banyak mikroorganisme.

Berdasarkan uraian yang menyebutkan bahwa ekstrak kulit batang kedondong mempunyai aktivitas antibakteri maka peneliti ingin melakukan uji aktivitas antibakteri

ekstrak etanol kulit batang kedondong (*Spondias pinnata*) terhadap *Staphylococcus epidermidis* dan *Klebsiella pneumonia*.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat. Alat yang dibutuhkan dalam penelitian ini antara lain bejana maserasi, blender, alat-alat gelas, *yellow tip*, *blue tip*, Bunsen, cawan porselen, *rotary evaporator* (Heidolph), *waterbath* (Mettler), autoklaf (My Life), oven (Mettler), mikroskop (Olympus), vortek (Thermolyne Corporation), inkubator (Mettler), mikropipet (Socorex), LAF (*Laminar Air Flow*) (Astari Niagara International dan CV. Srikandi Laboratory).

Bahan. Bahan yang digunakan adalah kulit batang kedondong (*Spondias pinnata*) yang didapat dari daerah Nogosari Boyolali, *Staphylococcus epidermidis* (diperoleh di Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Surakarta) dan *Klebsiella pneumonia* (diperoleh dari Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta), NaCl 0,9%, *Nutrient Agar* (Oxoid), *Brain Heart Infusion* (BHI), media Mueller Hinton (MH), CMC-Na 0,5%, standar Mc Farland konsentrasi 10^8 CFU/mL (Remel), formalin 1%, cat Gram A, cat Gram B, cat Gram C, dan cat Gram D, media Mac Conkey, media *Kligler Iron Agar* (KIA) (Oxoid), media *Lysine Iron Agar* (LIA) (Oxoid), media *Motility Indol Ornithine* (MIO) (Oxoid), dan media *Manitol Salt Agar* (MSA) (Oxoid).

Jalannya Penelitian

Penyiapan Bahan. Kulit batang kedondong yang telah dikumpulkan, dibersihkan dari kotoran dan dicuci dengan air sampai bersih. Kemudian kulit batang kedondong dirajang dan dikeringkan di bawah sinar matahari, dengan menutup kain hitam. Kulit batang kedondong yang telah kering dihaluskan dengan cara diblender untuk mendapatkan partikel yang lebih kecil, sehingga luas permukaan partikel yang kontak dengan pelarut akan lebih besar.

Ekstraksi. Serbuk simplisia batang kedondong sebanyak 1 kilogram diekstraksi dengan 7,5 liter etanol 96 % pada bejana maserasi, kemudian didiamkan selama 48 jam di tempat yang sejuk dan terlindung dari cahaya sambil dilakukan pengadukan beberapa kali. Setelah 48 jam, hasil maserasi disaring menggunakan corong Buchner. Kemudian diambil filtratnya, lalu filtrat diuapkan menggunakan *vacuum rotary evaporator* pada

suhu 60°C sampai etanol habis menguap dan tersisa ekstrak berair saja. Untuk menghilangkan air, dilakukan pemanasan di atas *waterbath*, suhu dijaga kurang dari 60°C hingga didapatkan ekstrak kental. Selanjutnya ekstrak kental yang diperoleh ditimbang dan dihitung rendemennya.

Sterilisasi Alat dan Bahan. Alat-alat gelas yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri disterilkan dengan terlebih dahulu mencucinya hingga bersih, kemudian dibungkus kertas dan disterilkan dalam oven selama kurang lebih 2 jam pada suhu 170 °C dan bahan-bahan yang digunakan, *yellow* dan *blue tips* disterilkan dalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 20 menit, sedangkan ose disterilkan dengan memanaskannya pada api sesaat sebelum digunakan.

Pembuatan Media. Media yang digunakan telah tersedia dalam kemasan dan pembuatannya sesuai dengan instruksi yang terdapat pada masing-masing kemasan. Pembuatannya hanya dengan melarutkan bahan media ke dalam akuades sambil dipanaskan untuk membantu kelarutan, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121° C selama 20 menit, dituang ke dalam tabung atau cawan petri, dan didiamkan pada suhu kamar hingga memadat.

Pengecatan Bakteri. Satu ose bakteri diambil dan diratakan pada gelas obyek yang telah dibebaslemakkan dengan dipanasi di atas nyala bunsen hingga kering kemudian ditetesi formalin 1%, ditunggu 5 menit, dikeringkan lagi dan preparat siap dicat. Preparat yang telah siap dicat digenangi dengan cat Gram A selama 1-3 menit kemudian cat dibuang tanpa dicuci dengan air. Preparat kemudian digenangi dengan cat Gram B selama 0,5-1 menit. Setelah itu cat dibuang dan dicuci dengan air. Preparat ditetesi cat Gram C sampai warna cat dilunturkan. Preparat selanjutnya digenangi cat Gram D selama 1-2 menit kemudian dicuci dan dikeringkan dalam udara kamar. Preparat siap diperiksa di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000x dengan bantuan minyak imersi.

Identifikasi Bakteri Secara Biokimiawi. Suspensi bakteri *Klebsiella pneumonia* ditanam pada media KIA, LIA, dan MIO, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Identifikasi hasil dilakukan dengan mencocokkan evaluasi hasil penanaman pada media biokimiawi dengan tabel identifikasi Enterobacteriaceae. Sedangkan bakteri *Staphylococcus epidermidis* ditanam pada media MSA dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 36 jam.

Pembuatan Stok Bakteri. Bakteri ditanam di media Mueller Hinton (MH) dan diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. Sedikitnya 3-5 koloni bakteri dari media Mueller Hinton (MH) dipindahkan ke dalam 5 mL BHI, kemudian dimasukkan ke dalam *incubator shaker* selama 2-6 jam sampai kekeruhannya mencapai standar Mc. Farland (10^8 CFU/mL). Setelah disamakan dengan standar Mc. Farland menggunakan salin steril kemudian diencerkan 100 kali sehingga konsentrasinya 10^6 CFU/mL. Suspensi bakteri ini siap digunakan untuk pengujian.

Pembuatan Stok Ekstrak. Stok dibuat dengan konsentrasi 12%. Ekstrak etanol kulit batang kedondong (*Spondias pinnata*) diambil sebanyak 300 mg dan disuspensikan dengan 25 mL CMC-Na 0,5% sebagai *suspending agent*.

Pembuatan Seri Konsentrasi. Ekstrak etanol kulit batang kedondong (*Spondias pinnata*) dibuat seri konsentrasi. Seri konsentrasi yang akan diuji terhadap *Staphylococcus epidermidis* dan *Klebsiella pneumoniae* adalah 0,75%, 0,38%; 0,0019%; 0,0010%. Konsentrasi tersebut diambil dari stok 12%. Volume pengambilan adalah 7,81 mL 3,96 mL; 1,98 mL; dan 1,09 mL ditambahkan dengan CMC-Na 0,5% sampai 25 mL sehingga didapat konsentrasi awal 0,5%; 0,95%; 1,9%; dan 3,75%, kemudian dari masing-masing seri konsentrasi tersebut diambil 1 mL dan ditambah 4 mL media Mueller Hinton. Sehingga didapatkan konsentrasi akhir 0,75%, 0,38%; 0,0019%; 0,0010%.

Pembuatan Kontrol. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol kulit batang kedondong menggunakan 3 macam kontrol uji, yaitu kontrol media (K1) berisi 5 mL media MH, kontrol pertumbuhan (K2) berisi 5 mL media MH + 50 μ L suspensi bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Klebsiella pneumoniae*, dan kontrol *suspending agent* (K3) berisi 4 mL media MH + 1 mL CMC-Na 0,5% + 50 μ L suspensi *Staphylococcus epidermidis* dan *Klebsiella pneumoniae*.

Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode Dilusi Agar. Seri konsentrasi ekstrak yang dibuat ditambah Mueller Hinton dan diaduk hingga benar-benar homogen, kemudian dipadatkan dalam posisi miring. Setelah padat, 50 μ L suspensi *Staphylococcus epidermidis* atau 50 μ L suspensi *Klebsiella pneumoniae* konsentrasi 10^6 CFU/mL ditanam ke media dan diratakan dengan ose steril, selanjutnya diinkubasi 18-24 jam. Setelah itu diamati pertumbuhan bakteri yang dihambat. Konsentrasi terendah ekstrak

yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri dianggap sebagai Kadar Hambat Minimal (KHM).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi Tanaman. Tujuan determinasi tanaman adalah untuk menetapkan kebenaran spesies tanaman yang diteliti dan menghindari terjadinya kekeliruan tanaman yang digunakan. Determinasi dilakukan di Bagian Biologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada. Hasil determinasi menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan adalah spesies *Spondias pinnata* (L.f.) Kurz (kedondong).

Penyarian Bahan. Penyarian kulit batang kedondong dilakukan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Proses maserasi diulang 2 kali, dengan mengganti pelarut etanol 96% tiap remaserasi dengan volume yang sama dengan maserasi pertama. Hasil maserasi diuapkan pelarutnya bertujuan agar larutan penyari tidak mempengaruhi aktivitas antibakteri. Hasil ekstraksi berupa ekstrak etanol 96% kulit batang kedondong sebanyak 199,07 g dengan rendemen sebesar 19,91%.

Pengecatan Gram. Pengecatan Gram bertujuan untuk mengetahui sifat sel-sel bakteri dan menentukan golongan bakteri berdasarkan hasil pengamatan. Proses pewarnaan Gram dengan menggunakan zat warna kristal violet yang berwarna ungu dan zat warna safranin yang berwarna merah. Bakteri yang tidak dapat mempertahankan zat warna kristal violet pada pencucian akan berwarna merah setelah pemberian zat warna safranin, bakteri ini disebut Gram negatif (Sears, 2011).

Berdasarkan hasil pengamatan di bawah mikroskop, bakteri *Staphylococcus epidermidis* berbentuk bulat atau kokus tunggal berwarna ungu, dan merupakan bakteri Gram positif. Bakteri Gram positif memiliki dinding sel yang dilapisi oleh peptidoglikan yang tebal dan kaku (Radji, 2011). Selain itu, dinding sel Gram positif mengandung banyak rantai samping asam amino yang berikatan silang yang membentuk suatu lapisan kompleks menyerupai kawat berduri. Saat zat warna kristal violet diberikan, zat warna tersebut terperangkap di dalam dinding sel bakteri Gram positif yang menyerupai kawat berduri tadi, sehingga berwarna ungu (Sears, 2011).

Bakteri *Klebsiella pneumonia* berbentuk batang, tertata tunggal atau berpasangan dan berwarna merah yang merupakan bakteri Gram negatif. Bakteri Gram negatif ini memiliki lapisan peptidoglikan yang lebih tipis dari bakteri Gram positif, sehingga

bakteri ini tidak mampu mempertahankan zat warna kristal violet. Zat warna ini dengan mudah dapat dihilangkan dari dinding sel bakteri Gram negatif pada saat dicuci, sehingga zat warna safranin membuat bakteri ini berwarna merah (Sears, 2011).

Identifikasi Biokimia. Tujuan dilakukan uji biokimiawi adalah untuk mengetahui sifat dari bakteri-bakteri uji. Ada beberapa media yang digunakan dalam uji biokimiawi. Untuk bakteri *Klebsiella pneumonia* dilakukan uji biokimiawi dengan menggunakan media KIA, LIA dan MIO, sedangkan pada bakteri *Staphylococcus epidermidis* digunakan media MSA.

Identifikasi bakteri *Staphylococcus epidermidis* dilakukan pada media *Mannitol Salt Agar* (MSA). Dari uji biokimiawi ini diperoleh hasil bahwa bakteri *Staphylococcus epidermidis* tidak mampu memfermentasi manitol, hal ini ditandai dengan tidak adanya perubahan warna merah pada media MSA (Lay, 1994). Berdasarkan hasil uji MSA maka dapat dikatakan bahwa bakteri yang diuji merupakan bakteri *Staphylococcus epidermidis*.

Uji biokimia terhadap bakteri *K. pneumoniae* dilakukan menggunakan media KIA (*Kligler Iron Agar*), LIA (*Lysine Iron Agar*), dan MIO (*Motility Indol Ornithine*). Identifikasi dengan media KIA untuk mempelajari reaksi bakteri memfermentasi glukosa, terbentuknya gas, dan melihat produksi H₂S. Identifikasi bakteri dengan media LIA bertujuan untuk mengetahui sifat bakteri dalam menghasilkan H₂S yang ditandai dengan adanya endapan hitam pada media dan kelakuan bakteri terhadap lisin. Identifikasi pada media MIO bertujuan untuk mengetahui pergerakan bakteri, kemampuannya menghasilkan indol, dan pemecahan ornitin (Lindquist, 2010).

Uji biokimia terhadap *Klebsiella pneumoniae* menggunakan media KIA menunjukkan terjadinya perubahan warna media pada bagian miring dari merah menjadi kuning, tidak ada endapan hitam, dan tidak ada gelembung. Berdasarkan hasil uji menggunakan media KIA terjadi reaksi fermentasi glukosa, tidak terbentuk H₂S, dan tidak ditemukan gas. Hasil uji biokimia menggunakan media LIA warna media tetap ungu dan tidak ada endapan hitam karena pada bakteri terjadi reaksi pemecahan lisin dan tidak terbentuk H₂S (Brisse *et al.*, 2009). Pada media MIO tidak terbentuk kabut yang menyebar di area tusukan, tidak ditemukan cincin merah di atas media, dan terbentuk warna ungu pada media. Berdasarkan hasil tersebut didapatkan tidak terjadi pergerakan, indol negatif, dan terjadi pemecahan ornitin. Indol negatif dikarenakan setelah ditambah reagen Kovac's tidak ditemukan cincin merah di atas media. Warna

kuning disebabkan oleh produksi asam dari fermentasi glukosa (Lindquist, 2010). Ketiga uji tersebut menunjukkan bahwa bakteri tersebut adalah *Klebsiella pneumonia*. Uji Aktivitas Antibakteri, Uji aktivitas antibakteri bertujuan untuk mengetahui besarnya konsentrasi ekstrak yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Ekstrak etanol kulit batang kedondong yang diperoleh diuji aktivitas antibakterinya terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* dan *Staphylococcus epidermidis*. Metode yang digunakan dalam uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol kulit batang kedondong adalah metode dilusi padat, karena metode ini memberikan homogenitas antara media dan bahan uji sehingga kontak dengan bakteri lebih efektif, selain itu metode ini dapat menunjukkan nilai KHM secara langsung. Kadar Hambat Minimal (KHM) adalah konsentrasi terkecil ekstrak yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri setelah dibandingkan dengan kontrol media dan kontrol pertumbuhan yang tampak setelah inkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Media yang digunakan dalam uji aktivitas antibakteri adalah Mueller Hinton.

Uji antibakteri ini menggunakan tiga macam kontrol yaitu kontrol media MH (K1) digunakan untuk mengetahui keaseptisan dan ada atau tidaknya kontaminan. Kontrol pertumbuhan (K2) berisi media MH dan suspensi bakteri uji yang digunakan untuk mengetahui pertumbuhan bakteri uji, sedangkan kontrol *suspending agent* CMC-Na (K3) digunakan untuk mengetahui pengaruh CMC-Na yang digunakan terhadap pertumbuhan bakteri. Konsentrasi ekstrak etanol kulit batang kedondong yang digunakan 0,10%, 0,19%, 0,38%, dan 0,75%. Hasil uji antibakteri ekstrak etanol kulit batang kedondong menunjukkan sampai konsentrasi tertinggi yaitu 0,75% belum ada hambatan pada bakteri *S. epidermidis* dan *K. pneumonia* (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol kulit batang kedondong *S. epidermidis* dan *K. pneumonia*

Seri konsentrasi (%) b/v	<i>S. epidermidis</i>	<i>K. pneumonia</i>
0,10	+	+
0,19	+	+
0,38	+	+
0,75	+	+
K1	-	-
K2	+	+
K3	+	+

(+) : terdapat pertumbuhan bakteri

(-) : tidak terdapat pertumbuhan bakteri

K1 : kontrol media : Mueller Hinton

K2 : kontrol bakteri : MH dan suspensi bakteri uji

K3 : kontrol *suspending agent* CMC-Na : CMC-Na dan suspensi bakteri

Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol kulit batang kedondong (*Spondias pinnata*) berbeda dengan hasil penelitian ekstrak metanol kulit batang kedondong yang diuji dengan metode dilusi agar dengan pelarut DMSO. Ekstrak metanol memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Bacillus subtilis* dan *Proteus mirabilis* dengan Kadar Hambat Minimal sebesar 128 µg/ml sedangkan uji terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* didapatkan KHM sebesar 64 µg/ml (Chetia & Gogoi 2011).

Ekstrak metanol kulit batang kedondong menunjukkan hasil lebih poten dibanding ekstrak etanol kulit batang kedondong untuk aktivitas antibakterinya. Perbedaan hasil tersebut mungkin dikarenakan oleh perbedaan pelarut ekstrak, jenis bakteri, dan tempat tumbuh tanaman. Ekstrak etanol kulit batang kedondong menggunakan kultur bakteri 3-5 jam. Pada waktu tersebut bakteri berada pada fase log, dimana reproduksi seluler paling aktif dan metabolismenya juga paling aktif (Radji, 2011). Oleh karena itu, beberapa perlakuan sering dilakukan pada fase ini. Pada penelitian Chetia & Gogoi (2011) tidak dijelaskan penggunaan umur kultur bakteri tersebut.

Ekstrak etanol kulit batang kedondong dibantu kelarutannya dengan *suspending agent* CMC-Na. Penggunaan *suspending agent* CMC-Na kurang bisa melarutkan ekstrak dibandingkan dengan DMSO. Pada penelitian Wadhvani (2012) penghambatan bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Shigella flexneri* terlihat pada penggunaan 1% DMSO. DMSO memungkinkan adanya penghambatan bakteri tersebut. Jenis bakteri yang digunakan bisa mempengaruhi perbedaan aktivitas penghambatan suatu bakteri. *S. epidermidis* dapat membentuk biofilm untuk meningkatkan faktor pertahanan (Kong, *et al.*, 2006). Yao, *et al.*, (2005) menyatakan bahwa perubahan fisiologi *S. epidermidis* dalam membentuk biofilm dapat melindungi bakteri dengan cara menurunkan sensitivitas terhadap molekul yang berbahaya seperti antibiotik, sitokin dan antibakteri, sedangkan penelitian Chetia dan Gogoi (2011) menggunakan bakteri *S. aureus*. *S. aureus* tidak mampu menghasilkan biofilm, sehingga zat antibakteri pada ekstrak mampu menembus membran terluar bakteri dan masuk ke membran terdalam untuk merusak sel bakteri tersebut.

Penelitian Chetia dan Gogoi (2011) menggunakan tanaman kedondong dari India yang mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Bacillus subtilis*, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus aureus*, dan *Escherichia coli* dan senyawa yang bertanggungjawab terhadap aktivitas tersebut adalah alkaloid, flavonoid, dan tanin.

Flavonoid memiliki aktivitas antibakteri dikarenakan kemampuan flavonoid membentuk kompleks dengan ekstraseluler, protein terlarut dan dinding sel bakteri. Selain itu flavonoid juga bersifat lipofil, sehingga dapat merusak membran sel (Cowan, 1999). Mekanisme alkaloid sebagai antibakteri berhubungan dengan tingginya senyawa aromatik quartener dari alkaloid seperti barberine dan harmone yang mempunyai kemampuan untuk membentuk interkhelat dengan DNA (Cowan, 1999). Tanin mempunyai aktivitas antibakteri melalui aksi molekulernya yaitu dengan membentuk kompleks dengan protein melalui ikatan hidrogen dan ikatan hidrofobik (Cowan, 1999).

Hasil penelitian ini juga sama dengan penelitian Nurhasanah (2012) yang menyatakan bahwa ekstrak etanol kulit batang kedondong (*Spondias pinnata*) sampai konsentrasi 0,75% tidak mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Shigella dysenteriae* dan *Staphylococcus saprophyticus*. Penelitian Muntari (2012) juga menyatakan bahwa hasil penelitian ekstrak etanol kulit batang kedondong (*Spondias pinnata*) terhadap *Streptococcus mutans* dan *Shigella sonnei* yang menggunakan *suspending agent* CMC-Na dengan metode dilusi padat sampai konsentrasi 0,75% atau 7500 µg/ml masih ada pertumbuhan bakteri.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol kulit batang kedondong (*Spondias pinnata*) sampai konsentrasi 0,75% tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Klebsiella pneumonia*.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian antibakteri ekstrak etanol kulit batang kedondong (*Spondias pinnata*) terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Klebsiella pneumonia* dengan konsentrasi yang lebih tinggi. Perlu dilakukan KLT untuk mengetahui senyawa yang terkandung dalam kulit batang kedondong.

DAFTAR ACUAN

Brisse, S., Fevre, C., Passer, V., Jeanjeanz, S. I., Tournebize, R., Diancourt, L., & Grimont, P., 2009, Virulent Clones of *Klebsiella pneumoniae* Identification and

- Evolutionary Scenario Based on Genomic and Phenotypic Characterization, *Plos One*, 4.
- Chetia, B., & Gogoi, S., 2011, Antibacterial activity of the methanolic extract of stem bark of *Spondias pinnata*, *Moringa oleifera* and *Alstonia scholaris*, *Asian Journal of Traditional Medicines*, 6 (4), 163-167.
- Cowan, M. M., 1999, Plant Products as Antimicrobial Agents, *Clinical Microbiology Review*, 12, 4, 564-582.
- Entjang, I., 2003, *Mikrobiologi dan Parasitologi untuk Akademi Keperawatan*, 105, Bandung, Penerbit PT Citra Aditya Bakti.
- Gupta, V. K., Roy, A., Nigam, V. K., & Mukherjee, K., 2010, Antimicrobial activity of *Spondias pinnata* resin, *Journal of Medicinal Plants Research* 4, 16, 1656-1661.
- Hasanah, Y., 2012, Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Batang Kedondong (*Spondias pinnata*) Terhadap Bakteri *Shigella dysenteriae* Dan *Staphylococcus saprophyticus*, *Skripsi*, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Kong, K. F., Vuong, C. & Otto, M., 2006, Staphylococcus quorum sensing in biofilm formation and infection. *Int. J. Med. Microbiol.* 296 (2-3), 133-139.
- Lay, B. W., 1994, *Analisis Mikroba di Laboratorium*, 111, Jakarta, Raja Grafindo Persada.
- Levinson, W., 2004, *Medical Microbiology and Immunology*, 106, New York, Medical Publishing Division.
- Lindquist, J., 2010, *Multipurpose Enteric Screening Media*, (Online), (<http://www.jlindquist.net/generalmicro/dfmultinf.html>, diakses tanggal 23 September 2012).
- Muntari, Z., 2012, Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Batang Kedondong (*Spondias pinnata*) Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans* Dan *Shigella sonnei*, *Skripsi*, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Pratiwi, S. T., 2008, *Mikrobiologi Farmasi*, 18, Jakarta, Penerbit Erlangga.
- Radji, M., 2011, *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*, 14, 35, 107, 194, Jakarta, Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Refdanita., Maksum, R., Nurgani, A., & Endang, P., 2004, *Pola Kepekaan Kuman Terhadap Antibiotika Di Ruang Rawat Intensif Rumah Sakit Fatmawati Jakarta Tahun 2001-2002*, <http://repository.ui.ac.id/dokumen/lihat/82.pdf> (diakses tanggal 11 Februari 2012).
- Rukman, R., & Oesman, Y. Y., 2002, *Kedondong Bangkok*, 14-15, Yogyakarta, Penerbit Kanisius.

- Schroll, C., Barken, K. B., Krogfelt, K. A., & Struve, C., 2010, Role Of Type 1 And Type 3 Fimbriae In *Klebsiella pneumoniae* Biofilm Formation, <http://www.biomedcentral.com/1471-2180/10/179> (diakses tanggal 22 April 2012).
- Sears, B. W., Spears, L. M., dan Seanz, R., 2011, *Mikrobiologi dan Immunologi*, 1-2, Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Yao, Y., Sturdevant, D. E., Viallaruz, A., Xu, L., Gao, Q., Otto, M. 2005, Factors characterising *Staphylococcus epidermidis* invasiveness determined by comparative genomics. *Infect. Immun.* 73 (3),1856–1860.