

JURNAL

AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN DAN BUNGA JOTANG
(*Spilanthes paniculata*) TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* DAN
Lactobacillus acidophilus

Disusun oleh:
Hellena Vynstantia Gunawan
NPM: 100801147



UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI,
PROGRAM STUDI BIOLOGI
YOGYAKARTA
2017

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN DAN BUNGA JOTANG
(*Spilanthes paniculata*) TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* DAN
*Lactobacillus acidophilus***

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF LEAF AND FLOWER EXTRACT
JOTANG (*Spilanthes paniculata*) AGAINST *Escherichia coli* AND
*Lactobacillus acidophilus***

Hellena Vynstantia Gunawan¹, B. Boy R. Sidharta², dan P. Kianto Atmodjo³
¹Mahasiswa Program Studi Biologi, Fakultas Teknobiologi, UAJY, Yogyakarta
^{2,3}Dosen Program Studi Biologi, Fakultas Teknobiologi UAJY, Yogyakarta
Jl. Babarsari No. 44, Yogyakarta – 55281
Email : hellena_vyns@yahoo.com

INTISARI

Jotang (*Spilanthes paniculata*) merupakan tanaman yang berpotensi menjadi antimikrobia. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ekstrak daun dan bunga Jotang (*Spilanthes paniculata*) terhadap *Escherichia coli* dan *Lactobacillus acidophilus*, mengetahui bagian tanaman yang paling efektif sebagai antibakteri, dan mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak daun dan bunga Jotang. Jotang diekstrak dengan metode destilasi uap, menggunakan Clevenger dan pelarut aquades. Hasil ekstraksi yang diperoleh berupa minyak atsiri, yang dipekatkan menggunakan Na₂SO₄ (*drying agent*), kemudian diujikan pada mikrobia uji menggunakan metode difusi agar dengan mengukur diameter zona hambat yang terbentuk. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak bunga Jotang (*Spilanthes paniculata*) memiliki kemampuan yang lebih besar dalam menghambat bakteri uji. Pengukuran Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak daun dan bunga Jotang pada konsentrasi 2,5% , 5% , 10% , 15% dan 20%, dengan menggunakan kontrol negatif aquades dan kontrol positif tetrasiklin. Hasil Konsentrasi Hambat Minimum terhadap *Escherichia coli* dan *Lactobacillus acidophilus* adalah pada konsentrasi 5%.

Kata kunci: Daun Jotang, bunga Jotang, Antibakteri, Destilasi uap

ABSTRACT

Jotang (*Spilanthes paniculata*) is a plant that has the potential to become antimicrobial. The aim of this research is to know the leaf and flower extract of Jotang (*Spilanthes paniculata*) to *Escherichia coli* and *Lactobacillus acidophilus*, to know the most effective plant part as antibacterial, and to know the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of Jotang leaf and flower extract. Jotang extracted by steam distillation method, using Clevenger and aquades. The extracts obtained were in the form of volatile oil, concentrated using Na₂SO₄ (*drying agent*), then tested on test microbes using agar diffusion method by measuring the inhibitory zone diameter. The results showed that Jotang flower extract (*Spilanthes*

paniculata) has greater ability in inhibiting test bacteria. Result of Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of Jotang leaf and flower extract at concentrations of 2.5%, 5%, 10%, 15% and 20%, using aquades as negative control and tetracycline as positive control. The results of the Minimum Inhibitory Concentration on *Escherichia coli* and *Lactobacillus acidophilus* were at concentrations of 5%.

Keywords: Jotang Leaves, Jotang flowers, Antibacterial, Steam distillation

PENDAHULUAN

Perkembangan zaman saat ini menimbulkan semakin banyak penyakit mulut, seperti karies gigi dan penyakit gusi. Hal tersebut disebabkan oleh pola makan, status sosial, pendidikan, kebiasaan sehari-hari dan lain-lain. Karies gigi merupakan penyakit mulut yang paling sering ditemukan, yang dapat menular dan dapat mengenai jaringan keras gigi. Proses terjadinya kerusakan pada jaringan keras gigi melalui suatu reaksi kimiawi oleh bakteri (Sabir, 2005).

Menurut Cappuccino (2005), beberapa macam mikroorganisme diketahui terlibat dalam pembentukan karies gigi, yaitu *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus mutans* dan *Actinomyces odontolyticus*. Mikroorganisme tersebut menghasilkan asam organik yaitu asam laktat hasil dari fermentasi karbohidrat yang menempel pada lapisan gigi, sehingga menyebabkan kerusakan pada gigi. *Lactobacillus acidophilus* dapat me-metabolisme glukosa yang ditemukan di mulut, sehingga bakteri ini menjadi target utama dalam upaya pencegahan karies gigi.

Pemanfaatan bahan alam sebagai obat alternatif, akhir-akhir ini mulai berkembang, salah satunya bertujuan untuk menghasilkan obat-obatan dalam upaya menjaga kesehatan gigi, khususnya untuk mencegah dan mengatasi penyakit karies gigi. Penggunaannya disebabkan oleh bahan alam yang tidak memiliki efek samping yang merugikan bagi kesehatan, selain itu kepercayaan masyarakat mengenai khasiat bahan alam yang dapat mengobati berbagai macam penyakit. Salah satu bahan alam yang sering digunakan sebagai obat tradisional di lingkungan masyarakat adalah daun sirih merah dan jotang (*Spilanthes paniculata*), yang dapat menjaga kekuatan gigi (Soetjipto, 2008).

Menurut Lumbantobing (2010), jotang (*Spilanthes paniculata*) merupakan

tanaman yang termasuk salah satu jenis gulma yang dapat tumbuh dan berkembang dengan baik pada daerah dengan keadaan tanah dan udara yang lembab. Seluruh bagian tumbuhan ini (akar, batang, daun dan bunga) memiliki rasa getir sehingga diduga mengandung minyak atsiri yang memiliki aktivitas antibakteri. Sebagian masyarakat yang menggunakan bagian bunga dari tumbuhan ini sebagai obat penyakit gigi dengan cara memasukkan ke dalam gigi yang berlubang setelah terlebih dahulu dihaluskan.

Menurut Thomas (2011), seluruh bagian tumbuhan ini dapat menyembuhkan sakit perut. Menurut Brooks., dkk (2005), salah satu penyebab sakit perut adalah *Escherichia coli*. *Escherichia coli* menjadi patogen jika jumlah bakteri ini dalam saluran pencernaan meningkat atau berada di luar usus. *Escherichia coli* menghasilkan enterotoksin yang menyebabkan beberapa kasus diare. *Escherichia coli* berasosiasi dengan enteropatogenik menghasilkan enterotoksin pada sel epitel usus.

Menurut Soetjipto (2008), tumbuhan ini dalam bahasa Jawa disebut sebagai legetan. Pada tumbuhan ini diketahui terdapat kandungan minyak atsiri. Menurut Harborne (1987), secara kimiawi komponen minyak atsiri terdiri dari dua golongan besar, yaitu monoterpena dan seskuiterpena.

Pada penelitian ini menggunakan bagian bunga dan daun Jotang (*Spilanthes paniculata*), bagian bunga diharapkan dapat menghambat pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus* yang mengakibatkan karies gigi dan mewakili bakteri Gram positif, serta bagian daun dapat menghambat *Escherichia coli* yang menyebabkan sakit perut, dan mewakili bakteri Gram negatif.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain bunga dan daun Jotang masing-masing 1 kg basah dari daerah persawahan di Garut, Jawa Barat, isolat *Escherichia coli* dan *Lactobacillus acidophilus* diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi PAU UGM, tetrasiklin, aquades steril, alkohol 70%, medium Nutrient Agar, medium Nutrient Broth, medium MRS agar, medium MRS broth,

cat Gram A, cat Gram B, cat Gram C, cat Gram D, larutan Iod, reagen Ehrlich, eter, Asam sulfanilat, NED, cat nigrosin, minyak emersi, medium kasein cair, medium pati, medium glukosa cair, medium sukrosa cair, medium laktosa cair, larutan phenol red, dan larutan H₂O₂.

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain laminair air flow ESCO, erlemeyer, petridish, tabung reaksi, rak tabung reaksi, gelas ukur, gelas beker, kompor, panci, pinset, botol kaca, mikroskop, autoklaf STMN-Y222 OMRON, microwave Panasonic, shaker incubator, inkubator, oven, rotary evaporator, spektrofotometer GC-MS, camera digital Canon IS IXUS 80, pipet ukur dan propipet, mikropipet, tips, jarum ose, jarum tusuk, timbangan elektrik, timbangan mekanik, oven, lampu spiritus, vortex 37600 Mixer Termolyne, blender Maspion MT-1207, kertas payung, plastik wrap, karet, label, tabung durham, trigalski, filter paper Whatman No. 4, aluminium foil, corong, kertas saring, tissue, dan korek api.

Cara Kerja

1. Pembuatan Serbuk Bunga dan Daun Jotang (Harborne, 1987)

Bunga dan daun Jotang (*Spilanthes paniculata*) dicuci terlebih dahulu untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada bahan, kemudian ditiriskan, dikeringkan menggunakan oven pada suhu 41,3-48,1 °C selama 8 jam. Bahan yang telah kering kemudian dibuat serbuk menggunakan blender.

2. Destilasi uap (Khumar, 2010) dengan variasi

Serbuk bunga dan daun jotang (200 gram) diekstraksi dengan metode destilasi uap menggunakan *Clevenger* dengan pelarut 500 ml *aquades*, selama 5-6. Minyak yang dihasilkan dikumpulkan dalam tabung pengumpul, kemudian ditambahkan Na₂SO₄ sebagai *drying agent*. Rendemen minyak atsiri dihitung dengan rumus:

$$\frac{\text{massa minyak yang diperoleh}}{\text{massa sampel yang digunakan}} \times 100\%$$

3. Identifikasi senyawa aktif (Soetjipto, 2008)

Identifikasi senyawa aktif antibakteri minyak atsiri dilakukan menggunakan Kromatografi GC-MS di Laboratorium Instrumental Fakultas MIPA Universitas Islam Indonesia. Jenis kolom yang digunakan adalah Rtx-5MS, panjang 30 meter dan ID sebesar 0,25 mm. Kondisi pengoperasian alat pada suhu pemansan kolom 80 °C selama 5 menit, suhu injeksi 280 °C selama 34 menit, mode injeksi dengan split ratio sebesar 33:1 dan gas pembawa berupa Helium dengan tekanan 13,7 Kpa, total aliran 19,2 ml/menit, aliran kolom 0,48 ml/menit dan kelajuan linier 25,4 cm/detik.

4. Pembuatan Medium Pertumbuhan untuk Bakteri Uji (Jutono dkk., 1980)

a. Medium Nutrient Agar (NA)

Nutrient agar sebanyak 2,8 gram dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan dilarutkan pada 100 ml akuades, kemudian dipanaskan selama 2 menit pada suhu 50 °C dalam microwave. Medium tersebut disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C tekanan 1 atm selama 15 menit.

b. Medium MRS agar

Medium MRSa sebanyak 6,2 gram dilarutkan dalam 100 ml akuades. Campuran tersebut dimasukkan ke dalam Erlenmeyer, kemudian dididihkan dan diaduk hingga merata, selanjutnya dilakukan sterilisasi autoklaf selama 15 menit, tekanan 1 atm dan suhu 121 °C (Jutono, dkk., 1980).

c. Medium Nutrient Broth

Nutrient Broth sebanyak 2,6 gram dilarutkan dalam 100 ml akuades. Campuran tersebut dimasukkan ke dalam erlenmeyer kemudian dididihkan dan diaduk hingga merata, selanjutnya dilakukan sterilisasi autoklaf selama 15 menit, tekanan 1 atm dan suhu 121 °C (Jutono dkk., 1980).

d. Medium MRS broth

Medium MRSb sebanyak 5,2 gram dilarutkan dalam 100 ml akuades. Campuran tersebut dimasukkan ke dalam Erlenmeyer, kemudian dididihkan dan diaduk hingga merata, selanjutnya dilakukan sterilisasi autoklaf selama 15 menit, tekanan 1 atm dan suhu 121 °C (Jutono, dkk., 1980).

e. Medium Kasein cair

Casein sebanyak 6 gram dimasukkan kedalam 100 ml NaOH 1 N, kemudian diaduk dan didiamkan selama 24 jam. Hasil campuran disaring menggunakan kertas saring, kemudian ditambahkan medium Nutrien Broth sebanyak 500 ml, selanjutnya dilakukan sterilisasi autoklaf selama 15 menit, tekanan 1 atm dan suhu 121 °C (Jutono, dkk., 1980).

f. Medium Pati

Pati sebanyak 2 gram dimasukkan keadalam 1000 ml medium agar, selanjutnya dilakukan sterilisasi autoklaf selama 15 menit, tekanan 1 atm dan suhu 121 °C (Jutono, dkk., 1980).

5. Uji Kemurnian Bakteri

a. Pengamatan Morfologi Koloni (Jutono dkk., 1980)

Pada bakteri uji *Escherichia coli* diambil sebanyak satu ose dari isolat pada agar miring, kemudian diinokulasikan secara streak plate pada medium NA dalam petridish, kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. *Lactobacillus acidophilus* diambil dari starter berumur 24 jam dan dibuat seri pengenceran hingga 10^{-7} , setelah itu, diinokulasikan secara pour plate pada medium MRSA dalam petridish, kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24-48 jam selanjutnya, dilakukan pengamatan morfologi koloni mikroorganisme uji yang meliputi bentuk dan warna koloni.

b. Pengamatan Morfologi Sel (Jutono dkk., 1980)

Mikroorganisme uji diambil sebanyak satu ose, kemudian morfologi sel diamati dengan menggunakan pengecatan negatif, yaitu dengan cara gelas benda dan gelas penutup dibersihkan dengan alkohol, kemudian biakan mikroorganisme uji diambil secara aseptis sebanyak 1 ose dan diletakkan di atas gelas benda. Cat nigrosin diambil dan diteteskan pada salah satu ujung gelas benda, kemudian dengan gelas benda yang lain ditarik permukaannya

dari ujung satu ke ujung lain sehingga cat merata dan terbentuk lapisan tipis, kemudian setelah kering ditetesi minyak emersi. Pengamatan dilakukan di bawah mikroskop dengan perbesaran 10 x 100 dan dilakukan pengambilan gambardengan camera digital Canon IXUS 80 IS.

c. Pengecatan Gram (Jutono dkk., 1980)

Pengecatan Gram bertujuan untuk mengetahui sifat Gram mikrobia uji. Gelas benda dibersihkan menggunakan alkohol dan dipanaskan di atas lampu spiritus hingga kering. Bakteri diambil 1 ose secara aseptis, kemudian diratakan seluas ± 1 cm dan dikeringkan menggunakan hair dryer, kemudian 2-3 tetes cat Gram A ditetaskan pada permukaan lapisan bakteri dan didiamkan selama 1 menit. Gelas benda dicuci dengan air mengalir dan dikering-anginkan. Cat Gram B ditetaskan dan didiamkan selama 1 menit, kemudian dicuci air mengalir dan dikeringanginkan dengan hair dryer, selanjutnya dicuci dengan cat Gram C, dan didiamkan selama 30 detik dan dicuci air mengalir dan dikeringkan-anginkan. Cat Gram D sebanyak 2-3 tetes dan didiamkan selama 2 menit, kemudian dicuci dengan air mengalir dan dikeringanginkan. Hasilnya diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 10 x 100, kemudian dilakukan pengambilan gambar. Sel berwarna biru, berarti bakteri tersebut bersifat Gram-positif, sedangkan jika berwarna merah, berarti bersifat Gram-negatif, kemudian di ambil gambar dengan camera digital Canon IXUS 80 IS.

d. Uji Motilitas (Jutono dkk., 1980)

Biakan mikroorganisme uji diambil sebanyak satu ose dan diinokulasikan secara tusukan ke dalam medium NA tegak, kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Pertumbuhan bakteri tersebut diamati, jika pertumbuhannya menyebar, berarti bakteri tersebut bersifat motil, sedangkan jika pertumbuhannya mengumpul, berarti bersifat non-motil.

e. Uji Katalase (Tarigan, 1989)

Biakan mikroorganisme uji diambil sebanyak satu ose, kemudian ditetesi H₂O₂ 3% sebanyak 1-2 tetes pada gelas benda. Apabila hasil menunjukkan ada buih atau gelembung, maka hasilnya positif, sedangkan apabila tidak dihasilkan buih atau gelembung, maka hasilnya negatif.

f. Uji Sifat Biokimia (Jutono dkk., 1980)

Uji sifat biokimia terdiri dari uji fermentasi karbohidrat, uji hidrolisis pati, uji reduksi nitrat, dan uji pembentukan indol. Pada uji fermentasi karbohidrat, menggunakan tiga tabung dengan lima kali ulangan berisi medium cair glukosa, sukrosa, dan laktosa diinokulasi dengan biakan murni *Escherichia coli* dan *Lactobacillus acidophilus*. Kontrolnya yaitu medium cair yang tidak diinokulasi dengan bakteri, kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Hasilnya diamati dan dicatat.

Pada uji pembentukan indol, masing-masing satu ose biakan murni *Escherichia coli* dan *Lactobacillus acidophilus* diinokulasikan ke dalam tabung berisi medium kasein cair sebanyak 10 ml, kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 48 jam. Pengujian adanya pembentukan indol dilakukan dengan cara menambahkan eter ke dalam tabung, kemudian digojog dan dibiarkan hingga terbentuk lapisan. Setelah itu, secara hati-hati reagen Ehrlich ditambahkan melalui dinding tabung dan diamati ada tidaknya cincin indol yang berwarna merah ungu di bawah lapisan eter.

Pada uji reduksi nitrat, masing-masing satu ose biakan murni *Escherichia coli* dan *Lactobacillus acidophilus* diinokulasikan ke dalam 10 ml medium nitrat cair pada tabung reaksi, kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Pengujian adanya nitrit dilakukan dengan cara menambahkan 1 ml asam sulfanilat (SA) dan 1 ml NED dan digojog hingga terbentuk warna merah yang menunjukkan adanya nitrit.

Pada uji hidrolisis pati, dua petridish yang berisi medium pati agar diinokulasikan secara goresan dengan biakan *Escherichia coli* dan *Lactobacillus acidophilus*, kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Pada akhir inkubasi, koloni yang terbentuk pada tiap petri ditetesi

dengan larutan iodine, kemudian warna yang terjadi di sekeliling goresan diamati dan dicatat.

6. Perbanyakkan Bakteri Uji (Jutono dkk., 1980)

Kultur *Escherichia coli* dan *Lactobacillus acidophilus* yang dihasilkan dari tahap uji kemurnian masing-masing, kemudian diinokulasikan ke dalam medium NA miring menggunakan jarum ose secara aseptis, kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Isolat bakteri dari hasil perbanyakkan diambil sebanyak 1-2 ose kemudian dimasukkan ke dalam 20 ml medium cair pada Erlenmeyer secara aseptis kemudian diinkubasi pada shaker incubator selama 24 jam suhu 37 °C.

7. Uji Antibakteri Berdasarkan Zona Hambat (Pelczar dan Chan, 1988; Hugo dan Russel, 1987)

Kultur mikrobial uji *Escherichia coli* dan *Lactobacillus acidophilus* dari agar miring diambil sebanyak 1 ose, kemudian diinokulasikan pada medium cair sebanyak 20 ml. Inokulum tersebut digojog dan diinkubasi selama 24 jam. Medium Nutrient Agar dalam petridish diinokulasikan 100 µl mikrobial uji dengan metode spread plate menggunakan trigalski. Hal ini dilakukan karena kedua bakteri uji bersifat anaerob fakultatif sehingga keduanya tetap masih bisa tumbuh di tempat yang mengandung oksigen. Setelah itu, dibuat filter paper Whatman No. 4 dengan diameter 8 mm, kemudian ekstrak bunga dan daun Jotang diteteskan pada kertas saring tersebut, diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37 °C, kemudian diinkubasi dan dilakukan perhitungan zona hambat dengan cara menentukan diameter zona hambat kemudian dimasukkan ke dalam rumus:

$$L = \pi \left\{ \left(\frac{d_2}{2} \right)^2 - \left(\frac{d_1}{2} \right)^2 \right\}$$

Keterangan:

L = Luas zona hambat tetrasiklin

π = 3,14

d1 = Diameter kertas saring

d2 = Diameter zona jernih

Pada pengujian zona hambat ini digunakan kontrol positif berupa tetrasiklin, sedangkan untuk kontrol negatif menggunakan metanol tanpa penambahan ekstrak.

8. Pengukuran kurva pertumbuhan bakteri (Cappuccino dan Sherman, 2005)

Kurva pertumbuhan dibuat dengan cara mengambil kultur bakteri sebanyak 200 µl, kemudian diinokulasi ke dalam 20 ml medium pertumbuhan cair pada erlenmeyer, lalu diinkubasi pada suhu 37 °C dan setiap dua jam sekali diukur kekeruhannya menggunakan spektrofotometer. Menurut Khodijah (2006), panjang gelombang untuk *Lactobacillus acidophilus* adalah 580 nm. Menurut Wattimena (1987), panjang gelombang untuk *Escherichia coli* adalah 530 nm. Pada masing-masing jam diambil 1 ml, kemudian dimasukkan ke dalam 9 ml aquades steril dan digojog, kemudian dihitung dengan menggunakan counting chamber.

9. Pengukuran Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) (Octaviani, 2007; Widodo, 2007)

Pengukuran konsentrasi hambat minimum dilakukan dengan melakukan pengenceran ekstrak bunga dan daun jotang dengan konsentrasi 2,5, 5, 10,15, dan 20 % v/v. Ekstrak Jotang dengan kadar 100 % dibuat dengan cara 10 mg ekstrak Jotang dalam 10 ml medium Nutrient Broth. Pada masing-masing konsentrasi ditambahkan 100 µl suspensi bakteri, diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37 °C, kemudian diamati dan dibandingkan dengan kontrol positif dan negatif. Konsentrasi Hambat Minimum ditentukan oleh larutan dengan konsentrasi terendah, tetapi memiliki kemampuan menghambat bakteri paling tinggi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Uji pendahuluan dan Pengeringan

Uji pendahuluan meliputi proses pemetikan, pencucian dan pengeringan. Daun dan bunga Jotang dipetik dan dipilih yang segar (tidak

layu), kemudian dicuci dengan air mengalir sampai bersih, setelah itu dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 41,3-48,1 °C selama 8 jam (Harborne, 1987). Daun dan bunga Jotang yang telah kering kemudian dibuat serbuk menggunakan blender.

2. Ekstraksi Destilasi Uap

Ekstraksi merupakan proses penarikan zat untuk memperoleh senyawa aktif dari jaringan tumbuhan (Harborne, 1987). Penelitian ini menggunakan metode ekstraksi destilasi uap, kemudian minyak atsiri yang diperoleh dihilangkan pelarutnya menggunakan *drying agent* yaitu Na₂SO₄ (Kumar, 2010). Suhu yang digunakan sesuai dengan titik didih pelarut. Pelarut yang digunakan pada penelitian ini adalah *aquades*. Rendemen minyak atsiri yang diperoleh bagian bunga Jotang adalah 0,26%, sedangkan rendemen minyak atsiri bagian daun adalah 0,17%.

3. Hasil uji GC-MS Ekstrak Jotang

Ekstrak minyak atsiri bunga dan daun jotang hasil destilasi berwarna kuning dengan aroma semerbak dan tajam. Senyawa antibakteri yang terkandung dalam minyak atsiri dapat dianalisis menggunakan uji GC-MS. Hasil analisis GC-MS bunga jotang diperoleh data 2 (dua) puncak senyawa dengan kelimpahan paling besar ditunjukkan oleh senyawa A. Berdasarkan puncak dasar yang khas dan berat molekulnya maka kemungkinan masing-masing senyawa dapat diketahui. Puncak dasar dari spektra GC MS ekstrak bunga jotang dibandingkan dengan database spektra NIST (National Institute of Standards and Technology). Hasil interpretasi data GC-MS ekstrak bunga jotang dipaparkan pada Tabel 5.

Tabel 5. Interpretasi senyawa antibakteri dalam bunga jotang

No Peak	Indeks Retensi	Komponen Kimia	Rumus Molekul	BM (M ⁺ , g/mol)	m/e	Total %
A	43,21	C ₁₄ H ₂₃ NO	Spilantol	221	221, 206, 192, 141,	92,37

					126, 98, 81,	
					79, 41	
B	51,20	C ₁₆ H ₂₅ NO	N-isobutil- 2E, 4Z, 8Z, 10E-dodeka tetraenamida	247	246, 205, 167, 100, 81, 67, 41	96,24 %

Berdasarkan Tabel 5 dapat disimpulkan bahwa terdapat 2 kemungkinan senyawa yang ada pada ekstrak bunga jotang dengan retensi waktu yang berbeda-beda serta luas dan persen area yang berbeda pula. Luas area terbesar terdapat pada Senyawa A yaitu sebesar 92,37 % dengan waktu retensi 43,21 menit merupakan senyawa dengan rumus kimia C₁₄H₂₃NO dan nama senyawanya adalah spilantol dengan berat molekul sebesar 221 g/mol. Spilantol mempunyai sifat antibakteri. Senyawa B mempunyai luas area sebesar 96,24 % dengan waktu retensi pada 51,20 menit merupakan senyawa dengan berat molekul 247 g/mol yaitu senyawa dengan nama N-isobutil-2E, 4Z, 8Z, 10E-dodeka tetraenamida dan rumus kimia yaitu C₁₆H₂₅NO. N-isobutil-2E, 4Z, 8Z, 10E-dodeka tetraenamida mempunyai sifat antimikroorganisme.

Hasil analisis GC-MS daun jotang diperoleh data 2 (dua) puncak senyawa dengan kelimpahan paling besar ditunjukkan oleh senyawa puncak pertama. Berdasarkan puncak dasar yang khas dan berat molekulnya maka kemungkinan senyawa yang ada pada ekstrak daun jotang dapat dideteksi dari spektra GC MS ekstrak daun jotang (a) dibandingkan dengan database spektra NIST (National Institute of Standars and Technology). Hasil interpretasi data GC-MS ekstrak daun jotang dipaparkan pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil interpretasi senyawa antibakteri pada daun jotang

No	Indeks	Komponen	Rumus	BM	m/e	Total
----	--------	----------	-------	----	-----	-------

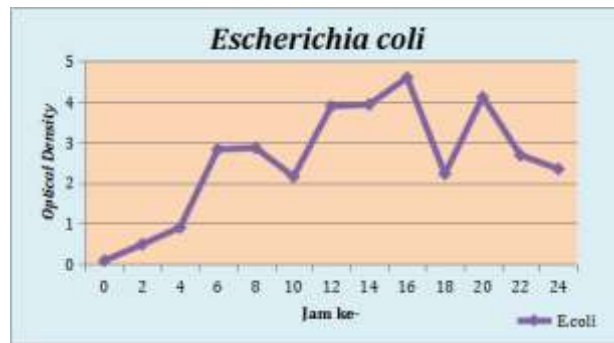
Peak	Retensi	Kimia	Molekul	(M ⁺ , g/mol)	%
C	31,44	C ₁₅ H ₂₄ O	Butil	220, 205, 177,	79
			hidroksi toluena	220	
D	45,91	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	Asam	256, 213, 129,	30
			heksadekan oat	256	

Berdasarkan Tabel 6 dapat disimpulkan bahwa terdapat dua kemungkinan senyawa yang ada pada ekstrak daun jotang dengan retensi waktu yang berbeda-beda serta luas dan persen area yang berbeda pula. Luas area terbesar terdapat pada puncak C yaitu sebesar 79 % dengan waktu retensi 3,44 menit merupakan senyawa dengan rumus C₁₅H₂₄O dan nama senyawanya adalah butil hidroksi toluena dengan berat molekul sebesar 220 g/mol. Senyawa kedua mempunyai luas area 20,64 % dengan waktu retensi 45,91 menit merupakan senyawa dengan rumus molekul C₁₆H₃₂O₂ dan nama senyawanya adalah asam heksadekanoat dengan berat molekul 256 g/mol.

Hasil menunjukkan bahwa ekstrak daun jotang mengandung dua senyawa yaitu butil hidroksi toluena dan asam heksadekanoat. Butil hidroksi toluena mempunyai sifat sebagai antimikroba dan antioksidan sedangkan asam heksadekanoat merupakan asam lemak.

4. Kurva Pertumbuhan Bakteri

Pengukuran Kurva pertumbuhan bakteri dengan cara membuat kultur murni dari bakteri yang telah di subkultur pada medium cair, kemudian diinkubasi dengan Shaker incubator pada suhu 37 °C. Hasil Kurva Pertumbuhan Bakteri dapat dilihat pada Gambar 6 dan 7.



Gambar 6. Kurva Pertumbuhan *Escherichia coli* selama 24 jam

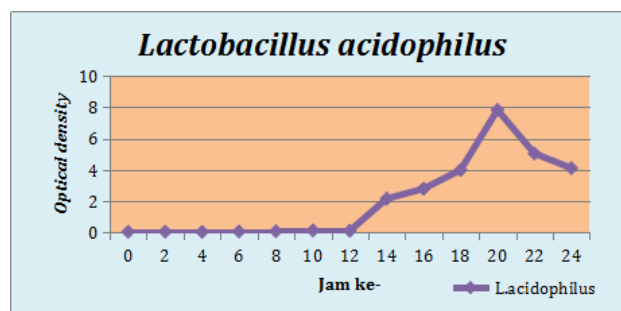
Pada pengukuran Kurva Pertumbuhan *Escherichia coli* panjang gelombang optimum yang digunakan adalah 580-630 nm. Pada Gambar 6 menunjukkan bahwa bakteri tumbuh seiring bertambahnya waktu dan kemudian mengalami penurunan jumlah bakteri setelah kondisi optimum pertumbuhan tercapai. Bakteri mempunyai sifat dimana apabila ada medium yang spesifik bagi kehidupannya maka bakteri akan bertumbuh terus hingga medium yang spesifik bagi bakteri tersebut habis maka bakteri akan mati. Hal ini sebagaimana dinyatakan oleh Jusuf (2004) dan Arizona (2010) bahwa dalam kondisi lingkungan yang ideal atau nutrisi yang mencukupi maka bakteri akan berkembang biak terus menerus atau fase logaritmik lalu masuk pada fase konstan hingga nutrisi esensial yang dibutuhkan bakteri tersebut habis dan bakteri akan masuk dalam fase kematian.

Marriot (1995) menambahkan bahwa perkembangbiakan bakteri umumnya terjadi dengan lima periode yaitu periode adaptasi (*Lag Phase*) yaitu bakteri berusaha menyesuaikan dengan makanan dan akan terdapat bakteri yang tidak sesuai hingga tidak dapat bertahan, mikroba yang bertahan akan melalui periode selanjutnya, periode pertumbuhan (*Logarithmic Growth Phase*) yaitu bakteri berkembang biak dengan sangat pesat secara eksponensial karena kondisi substrat sesuai untuk perkembangbiakan bagi bakteri yang telah lolos seleksi pada fase pertama, periode stasioner (*Stationary Growth Phase*) yaitu perkembangan melambat dan pertumbuhan jumlah bakteri akan terhenti karena pembatas dari faktor lingkungan atau bahan pangan yang tidak mampu lagi, menyediakan kebutuhan yang cukup

bagi perkembangbiakan mikroba, juga terjadi karena pengaruh hasil samping metabolisme bakteri dan terjadi kompetisi tempat oleh bakteri, periode kematian (*Decline Death Phase*) yaitu angka kematian bakteri melampaui angka perkembang biakannya, hal ini terjadi karena habisnya makanan dan *Reduced Death Phase*, yaitu sel bakteri telah mati dan bakteri terdegradasi, setelah fase ini berakhir, bakteri lain dapat melanjutkan dekomposisi dan kembali pada fase pertama.

Hasil pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dapat dilihat fase pertumbuhan dimulai pada jam ke-0 hingga jam ke-4, sebagai fase adaptasi. Pada fase adaptasi bakteri mulai beradaptasi dengan lingkungan. Fase adaptasi berbeda pada masing-masing bakteri, tergantung pada beberapa faktor. Faktor tersebut adalah komposisi medium, pH, suhu, aerasi, jumlah sel pada inokulum awal dan sifat fisiologis mikroorganisme pada medium sebelumnya (Volk dan Wheeler, 1993).

Bakteri mengalami periode pertumbuhan (*Logarithmic Growth Phase*) pada jam ke-4. Perbanyakannya *Escherichia coli* dimulai pada jam ke-4, disebut sebagai fase eksponensial. Puncaknya pada jam ke-16, yaitu pada saat sel membelah diri secara maksimum. Kecepatan pembelahan diri ini bersifat spesifik untuk setiap jenis bakteri (Schlegel, 1994). Setelah waktu ke-20 bakteri mulai mati dan terjadi pengurangan jumlah bakteri yang melebihi jumlah pertumbuhan, terjadi kompetisi mikroba yaitu merupakan periode kematian (*Decline Death Phase*) karena melampaui angka perkembang biakannya dan juga karena habisnya makanan yang selanjutnya mengalami *Reduced Death Phase* yaitu sel mikroba mati.



Gambar 7. Kurva Pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus* selama 24 jam

Pada pengukuran Kurva Pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus* panjang gelombang yang digunakan adalah 520-640 nm. Pada Gambar 7 fase pertumbuhan dimulai pada jam ke-0 hingga jam ke-12, sebagai fase adaptasi. Lamanya fase adaptasi tergantung pada komposisi medium, pH, suhu, aerasi, jumlah sel pada inokulum awal dan sifat fisiologis mikroorganisme pada medium sebelumnya (Volk dan Wheeler, 1993).

Perbanyakan *Lactobacillus acidophilus* dimulai dari jam ke-12 dan mencapai puncaknya pada jam ke-20 yang disebut fase eksponensial. Fase ini menunjukkan masa dan volume sel meningkat. Selama periode ini pertumbuhan seimbang, kecepatan peningkatan dapat diekspresikan dengan fungsi eksponensial alami. Sel membelah dengan kecepatan konstan yang ditentukan oleh sifat intrinsik bakteri dan kondisi lingkungan (Brock, 1991). Setelah waktu ke-20 bakteri mulai mati dan terjadi pengurangan jumlah bakteri yang melebihi jumlah pertumbuhan, terjadi kompetisi mikroba yaitu merupakan periode kematian (*Decline Death Phase*) karena melampaui angka perkembang biakannya dan juga karena habisnya makanan yang selanjutnya mengalami *Reduced Death Phase* yaitu sel mikroba mati.

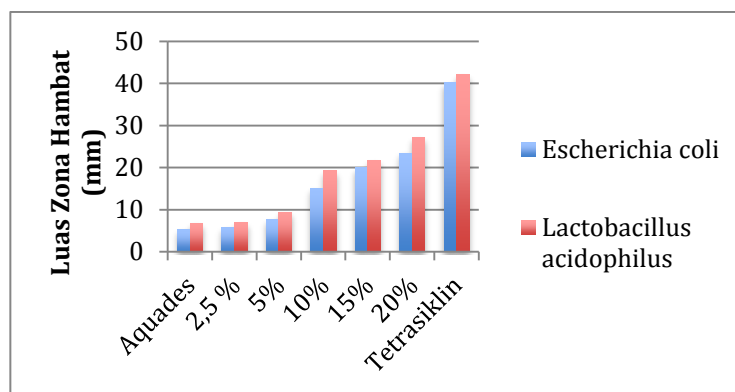
5. Konsentrasi Hambat Minimum Ekstrak daun dan bunga Jotang (*Spilanthes paniculata*)

Pengukuran konsentrasi hambat minimum dilakukan dengan melakukan pengenceran ekstrak bunga dan daun jotang dengan konsentrasi 2,5, 5, 10, 15, 20 % v/v. Pada masing-masing konsentrasi diamati dan dibandingkan dengan kontrol negatif terhadap aquades dan kontrol positif terhadap tetrasiklin. Konsentrasi Hambat Minimum ditentukan oleh larutan dengan konsentrasi terendah, tetapi memiliki kemampuan menghambat bakteri paling tinggi.

Tabel 10. Konsentrasi hambat minimum ekstrak bunga jotang

Konsentrasi (%)	Luas zona bening (mm)	
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
Aquades	5,21	6,78

2,5 %	5,75	6,94
5 %	7,63	9,44
10 %	15,12	19,34
15 %	19,92	21,64
20%	23,46	27,11
Tetrasiklin	40,23	42,11



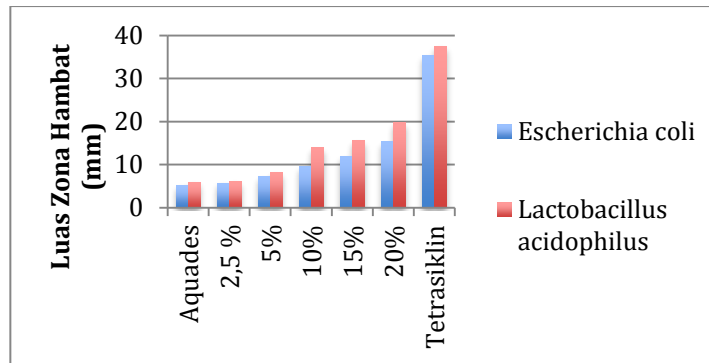
Gambar 8. Diagram konsentrasi hambat minimum ekstrak bunga jotang

Hasil menunjukkan bahwa pada konsentrasi 2,5 %, aktivitas bakteri dari bunga jotang tidak jauh berbeda secara signifikan dengan kontrol yaitu *aquades*. Hasil konsentrasi minimum hambat bakteri baik pada *Escherichia coli* maupun *Lactobacillus acidophilus* pada ekstrak daun jotang terletak pada konsentrasi 5 %, yang dapat dilihat dari pertambahan yang signifikan dibandingkan dengan diameter zona bening pada diameter 2,5 %.

Tabel 11. Konsentrasi hambat minimum ekstrak daun jotang

Konsentrasi (%)	Luas zona bening (mm)	
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
Aquades	5,12	5,88
2,5 %	5,67	6,01
5 %	7,24	8,23
10 %	9,45	13,94
15 %	11,9	15,64

20%	15,35	19,71
Tetrasiklin	35,23	37,45



Gambar 9. Diagram konsentrasi hambat minimum ekstrak daun jotang

Hasil menunjukkan bahwa pada konsentrasi 2,5 %, aktivitas bakteri dari bunga daun jotang tidak jauh berbeda secara signifikan dengan kontrol yaitu *aquades*. Hasil konsentrasi minimum hambat bakteri baik pada *Escherichia coli* maupun *Lactobacillus acidophilus* pada ekstrak daun jotang terletak pada konsentrasi 5 %, yang dapat dilihat dari pertambahan yang signifikan dibandingkan dengan diameter zona bening pada diameter 2,5 %. Dengan demikian dapat dinyatakan bahwa baik ekstrak daun jotang dan ekstrak bunga jotang mempunyai konsentrasi hambat minimum pada konsentrasi 5 %.

SIMPULAN

Simpulan yang dapat diambil dalam penelitian ini adalah Ekstrak minyak atsiri dari tanaman jotang (*Spilanthes paniculata*) baik bagian daun maupun bunga mempunyai kemampuan menghambat aktivitas *Lactobacillus acidophilus* dan *Escherichia coli*. Ekstrak minyak atsiri dari bagian bunga tanaman jotang (*Spilanthes paniculata*) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Lactobacillus acidophilus* dan *Escherichia coli* dengan lebih baik daripada ekstrak minyak atsiri dari bagian daun tanaman jotang (*Spilanthes paniculata*). Ekstrak minyak atsiri dari bagian bunga dan daun dari tanaman jotang (*Spilanthes*

paniculata) memiliki konsentrasi hambat minimum pada konsentrasi 5% terhadap *Lactobacillus acidophilus* dan *Escherichia coli*.

SARAN

Penelitian ini hanya mengkaji aktivitas antibakteri tanaman jotang dengan membandingkan efektivitas antibakteri pada bagian bunga dan daun tanaman jotang. Penelitian lebih lanjut dapat dilakukan dengan mengetahui kandungan senyawa antibakteri pada kedua ekstrak daun dan bunga tanaman jotang.

DAFTAR PUSTAKA

- Cappuccino, J.G dan Natalie, S. 2005. *Microbiology a Laboratory Manual*. Pearson. Canada
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Edisi II. ITB Press. Bandung. Halaman. 4-7.
- Hugo, W. B. dan Russel, A.D. 1987. *Pharmaceutical Microbiology*. Ed. by Blackwell Sc. Publications Boston. Melbourne.
- Jutono, J., Soedarsono, S., Hartadi, S., Kabirun, S., Suhadi, D., dan Soesanto. 1980. *Pedoman Praktikum Mikrobiologi Umum*. Departemen Mikrobiologi Fakultas Pertanian UGM. Yogyakarta.
- Kumar, K Satish., 2010. Extraction of Essential Oil Using Steam Distillation. Thesis Bachelor of Technology in Chemical Engineering. Rourkela.
- Lumbantobing, H. 2010. Analisa Komposisi Minyak Atsiri Bunga Jotang (*Spilanthes paniculata*) Dengan Menggunakan Spektrometer GC- MS. Thesis. Fakultas MIPA Universitas Sumatera Utara. Tidak diterbitkan.
- Pelczar. M. J. dan Chan, E. C.S. 1988. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. UI Press. Jakarta.
- Sabir, A. 2005. Aktivitas antibakteri flavonoid propolis *Trigona* sp terhadap bakteri *Streptococcus mutans* (in vitro). *Maj. Ked. Gigi. (Dent. J)*. 38(3): 135-141.
- Schlegel, H. dan Karin S. 1994. *Mikrobiologi Umum*. Diterjemahkan oleh Tedjo Baskoro. UGM Press. Yogyakarta.

- Soetjipto, H. 2008. Aktivitas antibakteri minyak atsiri dan toksisitas ekstrak bunga Legetan (*Spilanthes paniculata*). *Berkala Ilmiah Biologi*. 7(2): 53-59.
- Tarigan, J. 1999. Pengantar Mikrobiologi. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Jakarta.
- Thomas, T. 2011. Antibacterial action of gradient extracts of flower heads of *Spilanthes paniculata* Wall. Ex DC. *Plant Sciences Feed* 1(11): 186-189.
- Volk, W. A. dan Wheeler, M. F. 1988. *Mikrobiologi Dasar*. Erlangga. Jakarta.