

JURNAL

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN PARIJOTO
(*Medinilla speciosa*) TERHADAP *Escherichia coli*
dan *Staphylococcus aureus***

Disusun oleh:

Inge Octaviani

NPM: 120801252



**UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI
YOGYAKARTA
2016**

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN PARIJOTO
(*Medinilla speciosa*) TERHADAP *Escherichia coli*
DAN *Staphylococcus aureus***

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF PARIJOTO (*Medinilla speciosa*) LEAVES EXTRACT
AGAINST *Escherichia coli* AND *Staphylococcus aureus***

Inge Octaviani^{1,*}, B. Boy Rahardjo Sidharta¹, L. M. Ekawati Purwijantiningsih¹
Fakultas Teknobiologi, Universitas Atma Jaya Yogyakarta
*ingeoctaviani_ong@yahoo.com

ABSTRAK

Tanaman parijoto (*Medinilla speciosa*) berpotensi untuk dijadikan sebagai sumber senyawa antibakteri. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak daun parijoto terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Meskipun memperlihatkan luas zona hambat yang lebih besar, aktivitas antibakteri ekstrak metanol daun parijoto (2,0104 cm²) tidak menunjukkan beda nyata dengan ekstrak etil asetat (1,4714 cm²) pada taraf kepercayaan 95%. Nilai Konsentrasi Hambat Minimum ekstrak metanol terhadap *Escherichia coli* adalah 50 mg/ml, sedangkan terhadap *Staphylococcus aureus* adalah 12,5 mg/ml. Uji fitokimia telah membuktikan bahwa ekstrak metanol tersebut mengandung senyawa saponin (1,1%), tanin, flavonoid, glikosida, steroid, dan alkaloid. Berdasarkan penelitian, diketahui juga bahwa sensitivitas bakteri Gram positif yang diwakili oleh *Staphylococcus aureus* (zona hambat rata-rata 2,271 cm²) terhadap aktivitas antibakteri lebih besar dibandingkan dengan sensitivitas bakteri Gram negatif yang diwakili oleh *Escherichia coli* (zona hambat rata-rata 1,237 cm²).

ABSTRACT

Parijoto (*Medinilla speciosa*) is a potential plant species that can be used as a source of natural antibacterial compound. The purpose of this research is to investigate the antibacterial activity of parijoto leaves extract against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. Although the antibacterial activity of parijoto leaves methanol extract shows the larger inhibition zone area, there is no significant difference (p<0,05) of inhibition zone area between the methanol (2,0104 cm²) and ethyl acetate (1,4714 cm²) extract. The Minimum Inhibition Concentration (MIC) of methanol extract against *Escherichia coli* is 50 mg/ml, whereas against *Staphylococcus aureus* is 12,5 mg/ml. Phytochemical screening has proved that the methanol extract of parijoto leaves contains the saponin (1,1%), tannin, flavonoid, glycoside, steroid, and alkaloid compounds. According to this research, Gram positive bacteria which is represented by *Staphylococcus aureus* (the average of inhibition zone area 2,271 cm²) has the higher antibacterial sensitivity than Gram negative bacteria which is represented by *Escherichia coli* (the average of inhibition zone area 1,237 cm²).

Keyword: *Medinilla speciosa*, leaves extract, antibacterial, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, inhibition zone, MIC, phytochemical screening.

PENDAHULUAN

Menurut Food and Agriculture Organization of The United Nations (2011), Indonesia memiliki wilayah hutan tropis yang sangat luas, tetapi sangat disayangkan bahwa sebagian besar spesies hayati dari hutan tropis tersebut belum dimanfaatkan lebih lanjut. Salah satu spesies tanaman hutan Indonesia yang belum banyak dikaji pemanfaatannya adalah parijoto (*Medinilla speciosa*). Buah tanaman tersebut umum dikonsumsi oleh ibu hamil di sekitar Gunung Muria Kabupaten Kudus dan Gunung Merapi Yogyakarta karena dipercayai mitos bahwa dengan mengonsumsi buah tersebut, bayi yang dilahirkan akan berparas tampan atau cantik (Wibowo dkk., 2012).

Daun dan buah parijoto terasa masam, pahit, dan bersifat menyegarkan karena buah parijoto mengandung saponin, kardenolin, dan flavonoid, sedangkan daunnya mengandung saponin, kardenolin, dan tanin (Zuhud dkk., 2014). Daun dan buah parijoto tersebut baik dalam kondisi segar maupun dalam bentuk yang sudah dikeringkan dapat digunakan untuk mengatasi sariawan, diare, dan radang (Kementerian Negara Riset dan Teknologi, 2015). Ekstrak Buah parijoto juga telah terbukti memiliki aktivitas antimikrobia terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* (Niswah, 2014). Meski demikian, belum ada penelitian terkait aktivitas antimikrobia daun parijoto yang telah dilakukan.

Pemilihan pelarut dengan kepolaran yang sesuai merupakan faktor eksternal yang dapat mempengaruhi kandungan dan jenis senyawa kimia dalam ekstrak, sehingga akan berpengaruh terhadap aktivitas biologis yang dihasilkan dari penggunaan ekstrak tersebut (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1985). Jenis pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah metanol dan etil asetat karena Niswah (2014) telah membuktikan bahwa kedua jenis pelarut tersebut terbukti dapat melarutkan berbagai senyawa antibakteri yang terkandung dalam buah parijoto. *Escherichia coli* merupakan bakteri patogen Gram negatif yang didapati sering menimbulkan masalah pada saluran cerna manusia, sedangkan *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan berbagai penyakit misalnya sariawan (Sinaka, 2010), infeksi pada kulit dan luka, pneumonia, serta infeksi pada aliran darah (Centers for Disease Control and Prevention, 2013). Berdasarkan alasan tersebut, *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dipilih sebagai jenis bakteri uji yang bersifat patogen dan mewakili kedua golongan Gram bakteri.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini berupa daun parijoto yang berasal dari kebun parijoto Bapak Trimo di Dukuh Pandak, Desa Colo, Kecamatan Dawe, Kabupaten Kudus, Jawa Tengah. Pelarut yang digunakan yaitu metanol, etil asetat, dan dimetil sulfooksida merupakan pelarut berstandar Pro Analisis. Isolat bakteri uji berupa *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* diperoleh dari laboratorium Teknobio-Industri UAJY. Medium biakan umum dan medium uji antibakteri yang digunakan adalah *Nutrient Agar* dan *Nutrient Broth Oxoid*, sedangkan kontrol positif yang digunakan merupakan *ampicillin disk Oxoid 10 mg* dan *ampicillin tablet 500 mg* Generik. Alat utama yang digunakan

dalam penelitian ini berupa oven Venticell, timbangan analitik Mettler Toledo Al204, mesin pembuat serbuk, ayakan 35 mesh, rotary evaporator RV06-ML KIKA WERKE, shaker incubator JSSI300C, autoklaf Hirayama HVE50, Laminar Air Flow ESCO, Microwave Panasonic, vortex 37600 Mixer Termolyne, inkubator Memmert, mikroskop, berbagai alat gelas, alat-alat kelengkapan sterilisasi, dan berbagai alat pendukung lainnya.

Tahap Pelaksanaan

Pembuatan ekstrak diawali dengan tahap sortasi bahan, pengeringan, dan pembuatan serbuk dengan ukuran 35 mesh (Barrett, 2015). Serbuk daun parijoto dimaserasi dalam variasi pelarut metanol dan etil asetat dengan perbandingan 1:10 (w/v) selama 24 jam dengan perlakuan pengocokan, lalu disaring (Meloan, 1999). Debris yang diperoleh kembali diremaserasi selama 48 jam (Niswah, 2013). Filtrat pertama dan kedua digabung, lalu dipekatkan dengan menguapkan pelarut menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 64°C untuk pelarut metanol dan 77°C untuk pelarut etil asetat (Smallwood, 1996).

Identifikasi fitokimia ekstrak metanol dan etil asetat daun parijoto adalah berupa uji kualitatif alkaloid menggunakan uji Mayer, Wagner, dan Dragendorff. Selain itu, uji kualitatif berupa uji tanin menggunakan FeCl₃ (Ayoola dkk., 2008 dan Evans, 2009), uji saponin pembentukan buih (Harborne, 1998), uji flavonoid dengan amonia dan asam sulfat pekat, uji steroid/triterpenoid Lieberman Burchard, dan uji glikosida jantung Keller Kiliani (Shanmugam dkk., 2010). Uji kuantitatif saponin dilakukan di LPPT UGM menggunakan metode spektrofotometri UV-Visual (λ 435 nm) dengan reagen anisaldehyd-asam sulfat dan standar berupa *saponin quillaja bark* (Baccou dkk., 1977).

Uji kemurnian bakteri uji dilakukan dengan melakukan pengamatan terhadap hasil pengecatan Gram dan morfologi sel, serta pengamatan morfologi koloni bakteri pada medium cair, agar tegak, dan agar petri. Uji sifat biokimia yang dilakukan berupa uji reduksi nitrat, uji pembentukan indol, uji hidrolisis pati, uji katalase, dan uji fermentasi karbohidrat dengan medium uji berupa glukosa, sukrosa, dan laktosa cair. Isolat bakteri tersebut kemudian dibiakkan pada medium nutrisi agar dan nutrisi cair sebagai langkah perbanyakan dan penyeragaman bakteri uji (Harley dan Prescott, 2002 dan Morello dkk., 2003).

Uji antibakteri berdasarkan luas zona hambat dilakukan menggunakan kultur mikrobial uji berumur 16-18 jam (turbiditas setara dengan standard McFarland 0,5) sebanyak 100 μ l yang diinokulasi ke medium NA dengan metode *spread plate*. Sumuran medium dibuat menggunakan perforator nomor 4 (Harley dan Prescott, 2002). Larutan uji berupa ekstrak daun parijoto yang telah dilarutkan dalam *Dimethyl Sulfoxide* (1:10) diambil sebanyak 70 μ l dan dimasukkan pada masing-masing sumuran (Abel dkk., 2014). Satu sumuran lain diisi DMSO sebanyak 70 μ l sebagai kontrol negatif, sedangkan untuk kontrol positif digunakan *ampicillin disk* 10 mg. Inokulan diinkubasi pada suhu 37°C selama 16-18 jam. Luas zona hambat ekstrak dan kontrol negatif dihitung (Clinical Laboratory Standart Institute, 2015) menggunakan rumus berikut:

$$L_{ZH}(cm^2) = 3,14 \left(\frac{d}{2}\right)^2$$

d: rata-rata diameter zona hambat (cm) termasuk diameter *paper disk* dan sumuran

Penentuan nilai Konsentrasi Hambat Minimal dilakukan dengan metode dilusi agar. Botol timbang sebanyak 5 buah disiapkan untuk perlakuan berupa seri pengenceran ekstrak daun parijoto dengan pelarut terbaik dengan konsentrasi 6,25, 12,5, 25, 50, dan 100 mg/ml (Niswah, 2014) dan volume masing-masing sebanyak 2 ml. Ekstrak dibagi menjadi dua bagian (masing-masing sebanyak 1 ml) untuk penentuan KHM kedua jenis bakteri uji. Selain itu disiapkan juga kontrol negatif berupa DMSO dan kontrol positif berupa larutan *ampicillin* 100 mg/ml (1:10). Biakan bakteri (dengan turbiditas setara McFarland 0,5) diinokulasikan ke dalam masing-masing tabung (1:100), lalu diinkubasi selama 16-18 jam pada suhu 37°C (Wiegand dkk., 2008).

Setelah diinkubasi selama 16-18 jam, medium uji KHM diambil sebanyak 100 µl lalu diinokulasikan pada medium NA petri menggunakan metode *spread plate*. Medium kemudian diinkubasi kembali selama 16-18 jam pada suhu 37°C. Setelah itu, dilakukan penghitungan jumlah koloni bakteri pada masing-masing seri pengenceran dan medium kontrol. Konsentrasi ekstrak terkecil yang tidak menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri ditetapkan sebagai KHM (American Society for Microbiology, 2005).

Data luas zona hambat yang diperoleh berdasarkan hasil penelitian dengan Rancangan Acak Kelompok (RAK), selanjutnya diolah menggunakan analisis ANAVA pada taraf kepercayaan 95%. Pasca diidentifikasi adanya beda nyata, analisis data dilanjutkan dengan *Duncan Multiple Range Test* untuk mengetahui letak beda nyata antarperlakuan dan antarkelompok. Analisis dilakukan menggunakan *software* SPSS 18.0 (Glaser, 2001 dan Yulianti, 2014).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak metanol daun parijoto teramat berwarna hijau tua dengan karakteristik tidak mengkilap, tidak lengket, dan mudah tercuci air, sedangkan ekstrak etil asetat berwarna hijau kecoklatan dengan karakteristik mengkilap, lengket, dan tidak mudah tercuci air. Rendemen ekstrak metanol (4,5548%) daun parijoto sedikit lebih tinggi daripada rendemen ekstrak etil asetatnya (4,0850%). Sesuai dengan pernyataan Barrett (2015), perbedaan karakteristik dan nilai rendemen ekstrak tersebut mengindikasikan perbedaan komposisi fitokimia yang dapat terlarut dalam ekstrak metanol dan etil asetat daun parijoto. Menurut Departemen Kesehatan Republik Indonesia (2000), berdasarkan prinsip *like dissolves like* senyawa polar akan mudah larut dalam pelarut polar, sedangkan senyawa non-polar akan mudah larut dalam pelarut non-polar. Perbedaan polaritas antara pelarut metanol dan etil asetat inilah yang menyebabkan perbedaan konstituen fitokimia yang terkandung dalam kedua jenis ekstrak tersebut.

Uji kualitatif flavonoid pada ekstrak metanol daun parijoto menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan terbentuknya warna kuning pasca penambahan amonia dan memudar pasca penambahan asam sulfat pekat, sedangkan terhadap ekstrak etil asetat bereaksi negatif. Berbeda dengan hasil uji flavonoid, kedua jenis ekstrak tersebut menunjukkan hasil positif pada uji kualitatif tanin yang

ditandai dengan terbentuknya warna hijau kebiruan pasca penambahan larutan FeCl_3 . Kedua jenis ekstrak juga menunjukkan reaksi positif steroid dan reaksi negatif terpenoid yang ditandai dengan teramatinya warna hijau kebiruan pasca penambahan reagen Lieberman-Burchard. Pengujian saponin secara kualitatif pada ekstrak daun parijoto dengan uji pembentukan buih telah membuktikan kedua jenis ekstrak menunjukkan hasil positif pada uji saponin tersebut. Kedua jenis ekstrak juga menunjukkan hasil positif berupa terbentuknya endapan alkaloid pada uji alkaloid dengan reagen Mayer, Wagner, dan Dragendorff.

Ekstrak metanol dan etil asetat daun parijoto memperlihatkan terbentuknya cincin coklat yang mengindikasikan reaksi positif terhadap uji glikosida. Namun, apabila diamati tampak bahwa cincin coklat yang terbentuk pada ekstrak etil asetat tidak sejelas yang ditemukan pada ekstrak metanol. Perbedaan hasil tersebut mengindikasikan bahwa kuantitas glikosida pada ekstrak etil asetat daun parijoto tidak sebanyak yang terdapat pada ekstrak metanol. Sesuai dengan pernyataan Pengelly (2004), hal ini dapat terjadi karena sebagian besar glikosida mudah terlarut dalam air, dan dalam hal ini polaritas air lebih mendekati polaritas metanol daripada polaritas etil asetat.

Uji kemurnian bakteri uji telah dilakukan dan berhasil membuktikan bahwa isolat yang digunakan adalah benar *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* seperti yang dikemukakan oleh Garrity dkk. (2009 a) dan Garrity dkk. (2009 b). Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun parijoto terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* telah dilakukan menggunakan metode difusi agar dengan teknik sumuran (*well diffusion*). Prosedur pengujian dan interpretasi luas zona hambat didasarkan pada Performances Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing M100-S25 yang ditetapkan oleh Clinical Laboratory Standards Institute (2015). Luas zona hambat yang diukur merupakan luas zona bening yang tidak ditumbuhi bakteri, termasuk luas *disk* dan sumuran. Drugeon dkk. (1987) menyebut metode interpretasi luas zona hambat Vesterdal (zona hambat meliputi luas disk/sumuran) tersebut lebih baik daripada metode Cooper Woodman (zona hambat tidak meliputi luas disk/sumuran) karena mampu menghasilkan nilai konsentrasi kritis yang lebih mendekati nilai konsentrasi hambat minimum.

Tabel 1. Aktivitas ekstrak daun parijoto terhadap bakteri uji

Perlakuan	Luas Zona Hambat Bakteri (cm ²)		Rata-rata
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	
Ekstrak Metanol	1,630	2,391	2,010 ^Y
Ekstrak Etil Asetat	1,358	1,584	1,471 ^Y
Kontrol Negatif (DMSO)	0,502	0,502	0,502 ^X
Kontrol Positif (<i>Ampicillin</i>)	1,457	4,608	3,033 ^Z
Rata-Rata	1,237 ^A	2,271 ^B	

Keterangan: Angka dengan notasi yang sama pada kolom atau baris yang sama menunjukkan tidak ada beda nyata pada taraf kepercayaan 95%

Hasil uji Duncan (Tabel 1) memperlihatkan bahwa kontrol positif merupakan perlakuan terbaik. Ekstrak daun parijoto memperlihatkan adanya beda nyata terhadap kontrol positif tersebut, tetapi juga memperlihatkan beda nyata terhadap perlakuan kontrol negatif. Meskipun nilai rata-rata luas zona hambat ekstrak metanol lebih tinggi daripada ekstrak etil asetat, tidak teramati adanya beda nyata antar-kedua jenis ekstrak. Beda nyata juga teramati antar-kelompok Gram bakteri dan memperlihatkan bahwa sensitivitas bakteri Gram positif terhadap senyawa antibakteri lebih besar daripada sensitivitas bakteri Gram negatif.

Berdasarkan klasifikasi aktivitas antibakteri ekstrak yang diungkapkan oleh Arora dan Bhardwaj (1997), secara umum ekstrak metanol daun parijoto (rata-rata diameter zona hambat 16 mm) memiliki aktivitas antibakteri yang sedang, sedangkan ekstrak etil asetat (rata-rata diameter zona hambat 13,5 mm) menunjukkan aktivitas antibakteri yang cukup. Tidak seperti buahnya (Niswah, 2014), aktivitas antibakteri ekstrak metanol daun parijoto justru lebih tinggi (meskipun tidak didapati beda nyata) daripada ekstrak etil asetatnya. Perbedaan aktivitas antibakteri tersebut dilatarbelakangi oleh perbedaan komposisi fitokimia ekstrak metanol dan etil asetat dari daun dan buah parijoto. Berdasarkan prinsip *like dissolves like* (Smallwood, 1996), hasil pengujian tersebut mengindikasikan bahwa senyawa antibakteri pada daun parijoto yang memiliki polaritas tinggi (mendekati polaritas metanol dengan konstanta dielektrik sebesar 32,6 Debye) lebih banyak dibandingkan dengan senyawa antibakteri yang memiliki polaritas menengah (mendekati polaritas etil asetat dengan konstanta dielektrik sebesar 6,02 Debye).

Tabel 2. Perbandingan fitokimia ekstrak metanol dan etil asetat dari daun dan buah parijoto

Senyawa	Daun (Hasil uji fitokimia)		Buah (Niswah, 2014)	
	Ekstrak Metanol	Ekstrak Etil Asetat	Ekstrak Metanol	Ekstrak Etil Asetat
Saponin	+	+	+	+
Tanin	+	+	+	+
Glikosida	+	+	+	+
Flavonoid	+	-	+	+
Alkaloid	+	+	-	-
Steroid	+	+	-	-
Terpenoid	-	-	-	-

Pengamatan yang telah dilakukan terhadap *plate* uji KHM (Tabel 3) telah membuktikan bahwa nilai KHM ekstrak metanol daun parijoto terhadap *Escherichia coli* adalah 50 mg/ml. Nilai KHM tersebut lebih tinggi daripada nilai KHM ekstrak terhadap *Staphylococcus aureus* yang bernilai 12,5 mg/ml. Kondisi tersebut sesuai dengan hasil pengujian aktivitas antibakteri yang telah membuktikan bahwa luas zona hambat ekstrak metanol daun parijoto terhadap *Staphylococcus aureus* lebih besar daripada *Escherichia coli*. Prinsipnya, semakin kuat aktivitas antibakteri yang dimiliki oleh suatu ekstrak, semakin kecil

konsentrasi minimal yang dibutuhkan ekstrak tersebut untuk menghambat pertumbuhan bakteri uji (Wiegand dkk., 2008).

Tabel 3. Hasil penentuan Konsentrasi Hambat Minimum

Perlakuan	Jumlah koloni terhitung	
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
Kontrol positif	0	0
Ekstrak Metanol 100 mg/ml	0	0
Ekstrak Metanol 50 mg/ml	0	0
Ekstrak Metanol 25 mg/ml	1	0
Ekstrak Metanol 12,5 mg/ml	2	0
Ekstrak Metanol 6,25 mg/ml	3	2
Kontrol negatif	>300	>300

Berdasarkan data aktivitas antibakteri ekstrak daun parijoto dan nilai KHM ekstrak metanol daun parijoto terhadap kedua jenis bakteri uji (Tabel 3), dapat dinyatakan bahwa secara umum *Staphylococcus aureus* yang mewakili bakteri Gram positif lebih sensitif terhadap berbagai agen antimikrobia (*ampicillin*, ekstrak metanol, dan ekstrak etil asetat daun parijoto) daripada bakteri Gram negatif yang diwakili oleh *Escherichia coli*. Hal tersebut dapat terjadi karena meskipun bakteri Gram negatif tidak memiliki peptidoglikan setebal bakteri Gram positif, tetapi bakteri Gram negatif memiliki dinding sel yang jauh lebih kompleks dan kuat yang dapat mencegah masuknya senyawa-senyawa antibakteri masuk ke dalam sel. Bakteri Gram negatif memiliki membran sel terluar berupa lapisan Lipopolisakarida (LPS) yang tersusun atas asam lemak (lipid A) yang berikatan dengan gugus amina dari polisakarida membentuk glukosamin fosfat. Lapisan lipopolisakarida tersebut juga mengakibatkan senyawa-senyawa antibakteri yang bersifat polar sulit menembus dinding sel bakteri Gram negatif (Madigan dkk., 2015).

Uji kuantitatif saponin yang telah berhasil membuktikan bahwa ekstrak kental metanol daun parijoto mengandung 1,1% (b/b) saponin. Kecilnya persentase berat saponin dalam ekstrak metanol daun parijoto tersebut terjadi karena menurut Mazimba dkk. (2015), umumnya sebagian besar massa ekstrak metanol tanaman merupakan akumulasi dari massa molekul karbohidrat. Berdasarkan pada asumsi bahwa konsentrasi saponin dalam ekstrak metanol daun parijoto yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri hanya 1,1 mg/ml, dapat dinyatakan bahwa meskipun persentasenya cukup kecil, saponin memiliki peran yang sangat penting terkait aktivitas antibakteri ekstrak metanol daun parijoto terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* (Tabel 4). Pernyataan tersebut didasarkan pada temuan Maatalah dkk. (2012) bahwa ekstrak saponin 1 mg/ml yang diperoleh dari daun *Anabasis articulata* dapat menghasilkan zona hambat berdiameter 1,03 cm untuk *Escherichia coli* dan 1,33 cm pada *Staphylococcus aureus*, sedangkan ekstrak alkaloidnya hanya menghasilkan zona hambat berdiameter 0,81 cm untuk *Escherichia coli* dan 0,76 cm pada *Staphylococcus aureus*.

Tabel 4. Peran saponin dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Diameter zona Hambat	Maatalah dkk. (2012)		Ekstrak metanol daun parijoto dengan konsentrasi saponin 1,1 mg/ml
	Ekstrak saponin 1mg/ml	Ekstrak alkaloid 1 mg/ml	
<i>Escherichia coli</i>	1,03 cm	0,81 cm	1,44 cm
<i>Staphylococcus aureus</i>	1,33 cm	0,76 cm	1,74 cm

Berbagai jenis senyawa fitokimia dari ekstrak tanaman memiliki mekanisme aksi yang berbeda-beda dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Secara spesifik, saponin bekerja dengan mengubah permeabilitas dinding sel bakteri, berikatan dengan membran sel, mengubah morfologi sel, dan akhirnya menyebabkan lisis sel bakteri (Omojate dkk., 2014). Tanin bekerja dengan menghambat enzim pada bakteri serta menyerang membran sel bakteri (Akiyama dkk., 2001), sedangkan alkaloid bekerja dengan merusak DNA dan RNA polimerase (Aniszewski, 2007) untuk mencegah sintesis asam nukleat (Cushnie dkk., 2014). Serupa dengan tanin, steroid juga bekerja dengan menyerang membran fosfolipid sel bakteri, bahkan steroid dapat menyerang lapisan lipopolisakarida bakteri Gram negatif dengan berikatan pada gugus fosfatnya (Alhanout dkk., 2010). Senyawa glikosida dan flavonoid juga dapat bertindak sebagai antibakteri dengan mekanisme aksi yang hampir serupa, yaitu dengan merusak permeabilitas dinding sel, melewati membran dalam sel, dan merusak enzim bakteri utamanya dengan menyerang enzim dehidrogenase sehingga sistem respirasi dan pertumbuhan bakteri patogen menjadi terhambat (Anandhi dkk., 2014).

SIMPULAN

Berdasarkan penelitian aktivitas antibakteri ekstrak metanol dan etil asetat daun parijoto (*Medinilla speciosa*) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* yang telah dilakukan, diperoleh kesimpulan bahwa:

1. Ekstrak etil asetat dan metanol daun parijoto (*Medinilla speciosa*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Tidak ada beda nyata pada luas zona hambat yang dihasilkan oleh ekstrak metanol dan etil asetat daun parijoto, tetapi zona hambat terluas diperlihatkan oleh ekstrak metanol.
2. Bakteri Gram positif yang diwakili oleh *Staphylococcus aureus* lebih sensitif terhadap aktivitas antibakteri ekstrak daun parijoto dibandingkan dengan bakteri Gram negatif yang diwakili oleh *Escherichia coli*.
3. Nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak metanol daun parijoto terhadap *Escherichia coli* adalah 50 mg/ml, sedangkan nilai KHM ekstrak metanol daun parijoto terhadap *Staphylococcus aureus* adalah 12,5 mg/ml.

SARAN

Saran yang diajukan bagi penelitian lanjutan yang terkait dengan penelitian aktivitas antibakteri ekstrak metanol dan etil asetat daun parijoto

(*Medinilla speciosa*) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* ini yaitu:

1. Pembuatan serbuk ekstrak dengan ukuran partikel yang lebih kecil (>35 mesh) dapat dilakukan agar ekstraksi maserasi dapat berlangsung lebih optimal.
2. Penelitian lanjutan berupa uji fitokimia kuantitatif terutama untuk senyawa tanin, perlu dilakukan untuk mengidentifikasi dan mengetahui komposisi senyawa-senyawa fitokimia yang terkandung dalam daun parijoto.
3. Metode pemurnian saponin dan atau tanin dari daun parijoto dapat dikaji lebih lanjut untuk mendapatkan aktivitas antibakteri yang lebih kuat.
4. Pengujian aktivitas antijamur ekstrak daun parijoto dapat dilakukan untuk mengkaji manfaat lain dari daun parijoto.
5. Aplikasi daun parijoto sebagai antibakteri alami misalnya pengembangan serbuk daun parijoto sebagai bahan obat kumur anti-sariawan dapat dikaji lebih lanjut.
6. Tahap uji lanjutan untuk memastikan bahwa metanol dan etil asetat sudah teruapkan secara maksimal dari ekstrak kental dapat dilakukan untuk membuktikan bahwa kemampuan antibakteri ekstrak tidak dipengaruhi oleh adanya sisa pelarut dalam ekstrak

DAFTAR PUSTAKA

- Abel, E. E., Poonga, P. R. J., dan Panicker, S. G. 2014. Effects of different solvent extracts of *Cassia tora* leaves against Gram positive bacteria. *International Journal of Pharmacy and Life Science* 5(4): 3436-3439.
- Akiyama, H., Fujii, K., Yamasaki, O., Oono, T., dan Iwatsuki, K. 2001. Antibacterial action of several tannins against *Staphylococcus aureus*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 48:487-491.
- Alhanout, K., Malesinki, S., Vidal, N., Peyrot, V., Rolain, J. M., dan Brunel, J. M. 2010. New insights into the antibacterial mechanism of action of squalamine. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* doi:10.1093/jac/dkq213.
- American Society for Microbiology. 2005. *Manual of Antimicrobial Susceptibility Testing*. ASM, New York. Halaman 53-59.
- Anandhi, D., Srinivasan, P. T., Kumar, G. P., dan Jagatheesh, S. 2014. Influence of flavonoids and glycosides from *Caesalpinia coriaria* wild as bactericidal compound. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 3(4): 1043-1051.
- Aniszewski, T. 2007. *Alkaloids-Secret of Life: Alkaloid Chemistry, Biological, Significance, Applications and Ecological Role*. Elsevier, Oxford. Halaman 6-12, 130, dan 187.

- Arora, D. S. dan Bhardwaj, S. K. 1997. Antibacterial activity of some medicinal plants. *Geobios* 24: 127-131.
- diacu dalam Parvez, S., Begum, F., Neela, F. A., dan Alam, M. F. 2015. Screening of MDR-bacteria from fecal specimens of AAD patient and inhibit them using fruits extrats of *Moringa oleifera* Lam. *International Journal of Bioscience* 6(3): 402-409.
- Ayoola, G. A., Coker, H. A. B., Adesegun, S. A., Bello, A. A. A., Obaweaya, K., Ezennia, E. C., dan Atangbayila, T. O. 2008. Phytochemical screening and antioxidanr activities of some selected medicinal plants used for malaria therapy in Southwestern Nigeria. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* 7(3): 1019-1024.
- Baccou, J. C., Lambert, F., dan Sauvaire, Y. 1977. Spectrophotometric method for determination of total steroidal sapogenin. *Analyst* 102: 458-465.
- Barrett, L. 2015. *Olive Leaf Extract: The Mediterranean Healing Herb*. Healthy Living Publications, Summertown. Halaman 1-3.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 2013. *Antibiotic Resistance Threats in the United States 2013*. CDC, Georgia. Halaman 77.
- Clinical Laboratory Standards Institute. 2015. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty Fifth Informational Supplement*, CLSI document M100-S25. Wayne, CLSI. Halaman 44-46 dan 64-66.
- Cushnie, T. P. T., Cushnie, B., dan Lamb, A. J. 2014. Alkaloids: an overview of their antibacterial, antibiotic-enhancing and antivirulence activities. *International Journal of Antimicrobial Agents* 44:377-386.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta. Halaman 2, 7-12, dan 26.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta. Halaman 7-12.
- Drugeon, H. B., Juvin, M. E., Caillon, J., dan Courtieu, A. L. 1987. Assessment of formulas for calculating critical concentration by the agar diffusion method. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 31(6): 870-875.
- Evans, W. C. 2009. *Trease and evans pharmacognosy*. Saunders Elsevier, Edinburgh. Halaman 223, 336-337, dan 543.
- Food and Agriculture Organization of The United Nations (FAO). 2011. *The State of Forest in the Amazon Basin, Congo Basin, and Southeast Asia*. A

Report prepared for the Summit of the Three Rainforest Basins. 13. Halaman 10-11,13, 17, 28-30, dan 47.

Garrity, G. M., Brenner, D. J., Krieg, N. R., dan Staley, J. T. 2009 a. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* Second Edition Volume Two: The *Proteobacteria*. Springer, New York. Halaman 607-623.

Garrity, G. M., Brenner, D. J., Krieg, N. R., dan Staley, J. T. 2009 b. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* Second Edition Volume Three: The *Firmicutes*. Springer, New York. Halaman 392-401.

Glaser, A. N. 2001. *High Yield Biostatistics*. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia. Halaman 42-44, dan 58-61

Harborne, J. B. 1998. *Phytochemical Methods* Third Edition. Thomson Publishing, London. Halaman 4-6, 60-63, 108, 132, 135, 188, 208-209, dan 291.

Harley, J. P. dan Prescott, L. M. 2002. *Laboratory Exercise in Microbiology* Fifth Edition. McGraw-Hill, New York. Halaman 43-47, 76-78, 83-89, 93-94, 110, 126-130, 139-140, 169-170, 201-203, dan 257-260.

Kementerian Negara Riset dan Teknologi. 2015. *Medinilla speciosa*. <http://www.warintek.ristek.go.id>. Diakses pada tanggal 23 Februari 2015.

Maatalah, M. B., Bouzidi, N. K., Bellahouel, S., Merah, B., Fortas, Z., Soulimani, R., Saidi, S., dan Derdour, A. 2012. Antimicrobial activity of the alkaloids and saponin extracts of *Anabasis articulata*. *Journal of Biotechnology and Pharmaceutical Research* 3(3): 54-57.

Madigan, M. T., Martinko, J. M., Bender, K. S., Buckley, D. H., dan Stahl, D. A. 2015. *Brock Biology of Microorganism* Fourteenth Edition. Pearson Education, Boston. Halaman 171-178.

Mazimba, O, Wale, K., Kwape, T. E., Mihigo, S. O., dan Kokengo, B. M. 2015. *Cinnamomum verum*: Ethylacetate and methanol extracts antioxidant and antimicrobial activity. *Journal of Medicinal Plants Studies* 3(3): 28-32.

Meloan, C. E. 1999. *Chemical Separation: Principles, Techniques and Experiment*. John Wiley and Sons, New York. Halaman 93-104.

Niswah, L. 2014. Uji aktivitas antibakteri dari ekstrak buah parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) menggunakan metode difusi cakram. *Naskah Skripsi S-I*. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta, Jakarta.

Omojate, G. C., Enwa, F. O., Jewo, A. O., dan Eze, C. O. 2014. Mechanism of antimicrobial actions of phytochemicals against enteric pathogens: A

review. *Journal of Pharmaceutical, Chemical, and Biological Science* 2(2): 77-85.

Pengelly, A. 2004. *The Constituents of Medicinal Plants* second edition. Allen and Unwin, Crows Nest. Halaman 29-37, 45-53, dan 74-81.

Shanmugam, S., Kumar, T. S., dan Selvam, K. P. 2010. *Laboratory Handbook on Biochemistry*. PHI Learning, New Delhi. Halaman 130-132.

Sinaka, A. 2010. Formulasi tablet hisap ekstrak etanol daun ceremai (*Phyllanthus acidus*) dengan amilum manihot sebagai pengikat serta uji aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*. *Naskah Skripsi-S1*. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.

Smallwood, I. M. 1996. *Handbook of Organic Solvent Properties*. John Wiley and Sons, New York. Halaman 15, 61, 63, 247, dan 249.

Wibowo, H. A., Wasino, dan Setyowati, D. L. 2012. Kearifan lokal dalam menjaga lingkungan hidup (Studi kasus masyarakat di Desa Colo Kecamatan Dawe Kabupaten Kudus). *Journal of Educational Social Studies* 1(1): 25-30.

Wiegand, I., Hilpert, K., dan Hancock, R. E. W. 2008. Agar and broth dilution methods to determine the Minimal Inhibitory Concentration (MIC) of antimicrobial substances. *Nature Protocols* 3(2): 163-175.

Yulianti, L. I. M. 2014. *Biostatistika*. Graha Ilmu, Yogyakarta. Halaman 60 dan 70-76.

Zuhud, E. A. M., Sinroyo, Sandra, E., Hikmat, A., dan Adhiyanto, E. 2014. *Buku Acuan Umum Tumbuhan Obat Indonesia* Jilid VI. Dian Rakyat, Jakarta.