



Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Daging Buah Siwalan (*Borassus flabellifer*) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*

Antibacterial Activity Test of Ethanol Extract of Siwalan (Borassus flabellifer) Flesh Skin Against the Growth of Streptococcus mutans

Mella Aprilia, Ayu Rahmawati Sulistyaningtyas, Muhammad Evy Prastiyanto
Program Studi D3 Analisis Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang
Corresponding author : ayurs@unimus.ac.id

Abstrak

Bakteri *Streptococcus mutans* adalah bakteri patogen penyebab karies gigi. Penggunaan antibiotik yang tidak tepat dalam pengobatan infeksi dapat menyebabkan resistensi, sehingga dibutuhkan antibiotik dari bahan alam yang mempunyai daya kerja optimal dan relatif aman. Kulit daging buah siwalan mengandung bahan aktif saponin, tanin, flavonoid dan terpenoid yang berguna sebagai antibakteri. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui daya hambat ekstrak etanol kulit daging buah siwalan. Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental, penelitian ini menggunakan konsentrasi ekstrak kulit daging buah siwalan 200mg/ml, 400mg/ml, 600mg/ml, 800mg/ml, 1000mg/ml yang diuji dengan bakteri *Streptococcus mutans*. Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu maserasi dengan pelarut etanol 96% dan diuji daya hambat menggunakan metode sumuran, uji Minimum Inhibition Concentration (MIC) serta Minimum Bacterial Concentration (MBC) menggunakan media BAP. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kulit daging buah siwalan dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dengan rata-rata diameter zona hambat 16,86 mm, 17,72 mm, 18,56 mm, 19,4 mm, 20,16 mm, semakin tinggi konsentrasi ekstrak kulit daging buah siwalan maka semakin tinggi daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*.

Kata Kunci : kulit daging buah, MBC, MIC, Siwalan, *Streptococcus mutans*, zona hambat

Abstract

Streptococcus mutans are pathogenic bacteria that cause dental caries. Inappropriate use of antibiotics in the treatment of infections can cause resistance, so antibiotics from natural ingredients are needed that have optimal workability and are relatively safe. Seed coat (soft outer shell) of siwalan contains the active ingredients of saponins, tannins, flavonoids and terpenoids which are useful as antibacterial. This research was conducted to determine the inhibition of siwalan seed coat extract 200mg/ml, 400mg/ml, 600mg/ml, 800mg/ml, 1000mg/ml which was tested with *Streptococcus mutans* bacteria. The extraction method used in this study was maceration with 96% ethanol solvent and tested for inhibition using the well method, Minimum Inhibition Concentration (MIC) test and Minimum Bacterial Concentration (MBC) using BAP. The results showed that the siwalan seed coat extract inhibited the growth of *Streptococcus mutans* bacteria with an average inhibition zone diameter of 16,86 mm, 17,72 mm, 18,56 mm, 19,4 mm, 20,16 mm the higher the concentration of the siwalan seed coat extract the higher the inhibitory power against the growth of *Streptococcus mutans* bacteria

Keywords : fruit flesh peel, MBC, MIC, Siwalan, *Streptococcus mutans*, zone of inhibition



PENDAHULUAN

Indonesia merupakan pusat keanekaragaman hayati paling tinggi di dunia. Salah satu pemanfaatan tumbuhan sebagai bahan baku pengobatan herbal. Sekitar 40.000 spesies tumbuhan obat di dunia, 30.000 di antaranya dikatakan ada di Indonesia. Jumlah ini mewakili 90% tanaman obat yang terdapat di Asia, dimana 25% atau sekitar 7.500 telah ditemukan khasiat herbalnya, namun hanya 1.200 tanaman yang digunakan sebagai bahan baku herbal atau jamu (Salim, 2017).

Salah satu tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai tanaman obat adalah siwalan (*Borassus flabellifer*). Pohon siwalan merupakan tumbuhan yang banyak ditemukan di Kabupaten Tuban, yang menjadi salah satu jenis pohon palem unggulan lokal, karena hanya cocok untuk tumbuh di daerah beriklim tropis (Sukamaludin et al., 2016). Pohon siwalan merupakan tanaman yang multiguna karena hampir seluruh bagiannya dapat dimanfaatkan. Tanaman siwalan telah dibudidayakan sebagai tanaman obat di India.

Aktivitas farmakologis yang terdapat pada tumbuhan siwalan adalah sebagai agen antibakteri (Iksani, 2020). Bagian buah siwalan digunakan sebagai obat infeksi kulit di India. Alamelumangai melakukan penelitian pada kulit daging buah terhadap beberapa patogen manusia pada tahun 2014 yang diketahui bahwa ekstrak kulit daging buah siwalan memiliki aktivitas antibakteri terhadap beberapa patogen manusia, dan dipelajari dalam bentuk bakteri dan jamur. Bahan aktif yang dipercaya memiliki efek antibakteri pada kulit daging buah siwalan adalah saponin, tanin, flavonoid dan terpenoid (Alamelumangai et al., 2014).

Penanganan infeksi yang disebabkan oleh bakteri patogen dapat menggunakan antibiotik (Apriani et al., 2014). Antibiotik dapat menjadi obat yang efektif membunuh mikroorganisme jika digunakan dengan tepat, namun bila penggunaan antibiotik tidak tepat, seperti indikasi penggunaan yang salah, digunakan bebas oleh masyarakat, pemberian dosis dan waktu yang tidak tepat, maka akan timbul masalah baru yaitu bakteri menjadi resisten terhadap antibiotik (Kusumowati et al., 2014). Resistensi antibiotik dapat menyebabkan penyakit serius dan merupakan masalah kesehatan masyarakat yang penting karena nantinya akan menjadi sulit untuk diobati (Konay et al., 2019). Oleh karena itu, perlu adanya alternatif dalam penanganan infeksi, yaitu dengan penggunaan bahan herbal untuk mengobati infeksi tersebut.

Berbagai penelitian telah dilakukan dan terbukti bahwa tumbuhan memang dapat menyembuhkan berbagai macam penyakit, salah satunya penelitian yang dilakukan oleh Alamelumangai et al. pada tahun 2014, ditemukan bahwa ekstrak kulit daging buah siwalan memiliki aktivitas antibakteri terhadap beberapa patogen manusia yang diteliti berupa bakteri dan jamur. *Aspergillus brasiliensis* dan *Bacillus subtilis* menunjukkan tingkat penghambatan paling tinggi dari semua mikroorganisme yang diteliti. (Alamelumangai et al., 2014).

Berdasarkan beberapa uraian di atas, maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian mengenai uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol kulit daging buah siwalan terhadap pertumbuhan *S. mutans*.



METODE

1. Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan adalah seperangkat alat maserasi, mikropipet, autoclave, inkubator, waterbath, rotary evaporator, cork borer, blender, kertas Whatmann No.1, dan standar McFarland 2. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit daging buah siwalan, etanol 96%, aquades, media MHA, media BAP, larutan NaCl fisiologis, HIA miring, media penyubur BHI, strain *S. mutans*.

2. Cara Kerja

a. Sterilisasi Alat

Alat yang terbuat dari gelas sebelum digunakan dicuci terlebih dahulu samai bersih, dikeringkan kemudian dibungkus dengan kertas, di autoclave pada suhu 121°C dengan tekanan 2 atm selama 15 menit. Setelah itu dikeringkan dalam oven suhu 37°C selama 30 menit.

b. Pembuatan Ekstrak Etanol 96% Kulit Daging Buah Siwalan

Kulit daging buah siwalan dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan di bawah sinar matahari langsung. Kulit kemudian diblender dan diayak hingga menghasilkan simplisia. Ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1 : 10. Simplisia direndam 3 x 24 jam disimpan pada suhu ruang. Hasil maserasi disaring lalu diambil filtratnya, kemudian dievaporasi dengan rotary evaporator pada suhu 50°C. Filtrat kemudian dipekatkan di atas waterbath sehingga menghasilkan ekstrak yang kental. Ekstrak kulit daging buah siwalan kemudian ditimbang untuk pembuatan konsentrasi.

c. Persiapan Bakteri Uji

Bakteri *S. mutans* murni dimasukkan media penyubur BHI diinkubasi pada suhu 37°C selama 4-6 jam. Bakteri ditanam pada media penumbuh BAP diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Kemudian membuat stok bakteri yang ditanam pada media HIA miring dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam

d. Persiapan Media Uji

Media MHA dibuat dengan ketebalan 0,6 cm sesuai dengan diameter cawan petri (9 cm) yang digunakan. Kemudian dilakukan perhitungan volume untuk menentukan ukuran tinggi media yang sama yaitu 0,6 cm. Media ditimbang dan disterilkan kemudian dituang pada cawan petri steril dengan ketebalan 0,6 cm, berdiameter 9 cm, dan jari-jari cawan petri (r) 4,5 cm lalu dibiarkan dingin dan memadat.

e. Pengujian Antibakteri

Pengujian dilakukan menggunakan metode sumuran. Disiapkan suspensi bakteri *S. mutans* yang telah disamakan kekeruhannya dengan standart Mc Farland 2. Suspensi diambil menggunakan cutton bud steril, kemudian digoreskan secara merata pada media MHA, lalu didiamkan selama 5-10 menit. Setelah suspensi menyerap, media dilubangi dengan menggunakan cork borer berdiameter 8 mm yang diisi dengan ekstrak etanol kulit daging buah siwalan konsentrasi 200 mg/ml, 400 mg/ml, 600 mg/ml, 800 mg/ml, dan 1000 mg/ml sebanyak 100 µl pada masing-masing sumuran. Selanjutnya, media diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam



f. Minimum Inhibitory Concentration (MIC)

Penentuan MIC metode mikrodilusi menggunakan 12 microwell. Setiap sumuran diisi media MHB masing-masing sebanyak 100 μ l. Sumuran pertama diberi ekstrak kulit daging buah siwalan sebanyak 100 μ l dan dihomogenkan, lalu dilakukan pengenceran bertingkat. Masing-masing sumuran ditambahkan 10 μ l suspensi bakteri *S. mutans* pada setiap sumuran lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 $^{\circ}$ C.

g. Minimum Bacterial Concentration (MBC)

Setiap sumuran ditanam pada media BAP, dalam satu media BAP digunakan untuk 4 sumuran. Media yang sudah ditanami diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 $^{\circ}$ C.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Hasil

a. Aktivitas Antibakteri

Hasil pengamatan aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *S. mutans* dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Zona hambat ekstrak etanol kulit daging buah siwalan (mm)

Pengulangan	Konsentrasi uji (mg/ml)					Kontrol (+) Ampicilin
	200	400	600	800	1000	
1	17	17,8	18,2	19	19,6	
2	17	18	19	20	20,5	
3	16,5	17	18	19	20	19
4	16,8	18	19	20	20,2	
5	17	17,8	18,6	19	20,5	
Rata-rata	16,86	17,72	18,56	19,4	20,16	19

Tabel 1 menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit daging buah siwalan memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *S. mutans* ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar sumuran dapat dilihat pada tabel.

b. Pengujian Nilai MIC dan MBC

Tabel 2. Perhitungan konsentrasi ekstrak etanol kulit daging buah siwalan pada uji MIC dan MBC



Well	Konsentrasi (mg/ml)	MIC	MBC
1	500	-	-
2	250	-	-
3	125	-	-
4	62,50	-	-
5	31,25	-	-
6	15,625	-	-
7	7,813	-	-
8	3,907	+	+
9	1,954	+	+
10	0,977	+	+
11	0,489	+	+
12	0,245	+	+

Hasil uji menunjukkan pada konsentrasi 500 mg/ml, 250 mg/ml, 125 mg/ml, 62,5 mg/ml, 31,25 mg/ml, 15,625 mg/ml, 7,813 mg/ml didapatkan hasil negatif ditandai dengan kejernihan yang terjadi pada sumuran ke-1 sampai sumuran ke-7 dan hasil positif dimulai pada konsentrasi 3,907 mg/ml hingga 0,245 mg/ml, sehingga nilai MIC dan MBC dari ekstrak kulit daging buah siwalan terhadap *S. mutans* sebesar 7,813 mg/ml.

2. Pembahasan

Hasil daya hambat ekstrak etanol kulit daging buah siwalan menunjukkan mampu menghambat pertumbuhan *S. mutans* ditandai dengan adanya zona jernih yang terbentuk di sekitar sumuran. Penelitian ini menunjukkan daya hambat ekstrak kulit daging buah siwalan terhadap pertumbuhan *S. mutans* masuk kategori sensitive. Dikatakan sensitive apabila jarak zona jernih ≥ 17 mm dapat dinyatakan bahwa ekstrak dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Dikatakan resisten jika ≤ 14 mm, dengan kata lain ekstrak tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri (CLSI, 2015).

Uji daya hambat tersebut menunjukkan bahwa ekstrak kulit daging buah siwalan dapat menghambat pertumbuhan *S. mutans* karena di dalam kulit daging buah siwalan terdapat senyawa saponin, tanin, flavonoid dan terpenoid (Alamelumangai et al., 2014). Saponin adalah senyawa antibakteri yang bekerja secara efektif pada bakteri gram positif. Mekanisme kerja antibakteri saponin yaitu dengan meningkatkan permeabilitas membran sel, membuat membran tidak stabil dan menyebabkan hemolisis sel. Kandungan senyawa tanin memiliki efek antibakteri, yaitu terkait dengan kemampuannya untuk menonaktifkan adhesin bakteri, menghambat kerja enzim, dan menghambat transport protein pada selubung sel. Mekanisme kerja tanin sebagai agen antibakteri yaitu, melalui perusakan membran sel bakteri akibat toksisitas tanin. Flavonoid memiliki efek antibakteri melalui tiga mekanisme yaitu: penghambatan sintesis asam nukleat, penghambatan fungsi membran sel dan penghambatan metabolisme energi. Terpenoid merupakan senyawa yang mempunyai mekanisme antibakteri dengan cara menghancurkan membran sel bakteri. Ketika senyawa aktif antimikroba bereaksi dengan sisi aktif membran, atau dengan melarutkan komponen lipid dan meningkatkan permeabilitasnya, maka kerusakan membran sel dapat terjadi (Rahman, et al., 2017).

Pemilihan pelarut dalam proses ekstraksi akan mempengaruhi senyawa aktif yang dapat terlarut dan dapat mempengaruhi hasil uji antibakteri (Sumartha, 2000). Etanol memiliki sifat universal dalam berperan sebagai pelarut, yakni mampu melarutkan analit yang memiliki sifat polar dan nonpolar. Etanol dapat menarik analit berupa alkaloid, steroid, saponin dan flavonoid yang berasal dari tanaman (Laksmijeni et al., 2005).



Penelitian yang dilakukan oleh Lenggu, C. et al. (2020) dengan bakteri uji yang digunakan adalah *Escherichia coli* menggunakan pelarut etanol 70%. Hasil yang diperoleh yaitu ekstrak kulit daging buah siwalan tidak memiliki aktivitas antibakteri pada konsentrasi uji. Namun hasil penelitian ini tidak sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Alamelumangai *et al.*, pada tahun 2014 dan penelitian Iksani, M., pada tahun 2020. Pada penelitian Alamelumangai *et al.*, menggunakan bakteri *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, dan *Bacillus subtilis*, sementara Iksani menggunakan bakteri *Escherichia coli*. Dari hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa terdapat aktivitas antibakteri ekstrak kulit daging buah siwalan terhadap bakteri yang di uji.

Adapun perbedaan daya hambat bisa disebabkan oleh metode pengujian antibakteri. Dalam penelitian yang dilakukan oleh Lenggu metode pengujian antibakteri yang digunakan adalah metode difusi cakram, sementara peneliti menggunakan metode sumuran. Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi ukuran zona hambat dalam penggunaan metode difusi cakram adalah suhu inkubasi, inokulum, kondisi pra-difusi, pra-inkubasi, serta ketebalan medium. Peneliti menggunakan metode sumuran karena pada metode ini ekstrak langsung dimasukkan ke setiap lubang maka efek untuk menghambat bakteri menjadi lebih kuat. Faktor lain terjadi karena pada metode sumuran, setiap lubang diisi dengan konsentrasi ekstrak maka osmolaritas terjadi lebih menyeluruh dan lebih homogen serta konsentrasi ekstrak yang dihasilkan lebih kuat untuk menghambat pertumbuhan bakteri (Bonang, 1992).

Dalam penelitian ini, peneliti menggunakan metode pengeringan kulit daging buah siwalan yang berbeda dengan penelitian Lenggu, dimana peneliti menggunakan pengeringan dari sinar matahari langsung, sementara Lenggu menggunakan oven pada suhu 50°C. Adanya perbedaan teknik mengolah tanaman yang digunakan untuk menghasilkan ekstrak dari kulit daging buah siwalan tersebut dapat menimbulkan adanya perbedaan efektivitas dari ekstrak etanol kulit daging buah siwalan dengan penelitian sebelumnya (Surjowardojo, et al., 2015).

KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini antara lain:

1. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak kulit daging buah siwalan, semakin besar zona hambat terbentuk.
2. Daya hambat ekstrak kulit daging buah siwalan terhadap pertumbuhan *S. mutans* masuk kategori sensitive
3. Pada uji MIC dan MBC ekstrak kulit daging buah siwalan terdapat pada konsentrasi 7,183 mg/ml.

DAFTAR PUSTAKA

- Alamelumangai, M., Dhanalakshmi, J., Mathumitha, M., Renganayaki, R., Muthukumar, P. and Saraswathy, N., 2014. In vitro studies on phytochemical evaluation and antimicrobial activity of *Borassus flabellifer* Linn against some human pathogens. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 7, pp.S182-S185.
- Apriani, D., Amaliawati, N., & Kurniati, E. 2014. Efektivitas berbagai konsentrasi infusa daun salam (*Eugenia polantha* Wight) terhadap daya antibakteri *Staphylococcus aureus* secara in vitro. *Teknologi Laboratorium*, 3 (1).
- Bonang, G. 1992. *Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan* Edisi 16, Jakarta : Buku Kedokteran EGC.



- Iksani, M., 2020. *UJI AKTIVITAS EKSTRAK KULIT BUAH SIWALAN (Borassus flabellifer) TERHADAP BAKTERI Escherichia coli*. Skripsi. FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN AMPEL SURABAYA.
- Lenggu, C., Indriarini, D., & Shinta Amat, A. 2020. UJI AKTIVITAS EKSTRAK ETANOL KULIT DAGING BUAH LONTAR (*BORASSUS FLABELLIFER* LINN) TERHADAP PERTUMBUHAN *Escherichia coli* SECARAIN VIRTO. *Cendana Medical Journal (CMJ)*, 8(2), 96-107.
- Salim Z, Munadi E. 2017. *Info komoditi tanaman obat*. Jakarta: Badan Pengkajian dan Pengembangan Perdagangan Kementerian Perdagangan Republik Indonesia. 1-2,10-11.
- Sukamaluddin, Mulyadi, Dirawan GD, Amir F, Pertiwi N. 2016. Conservation status of lontar palm trees (*Borassus flabellifer* Linn) in Jeneponto District, South Sulawesi, Indonesia. *Journal of Tropical Crop Science*. 3(1):28-33.
- Surjowardojo P, Susilorini TE, Sirait GRB. 2015. Daya hambat dekok kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) Terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas sp*. Penyebab mastitis pada sapi perah. *Ternak Trop*. 16(2):40–8.