

Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata*) terhadap *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas aeruginosa*

Antibacterial activity of the sambiloto leaf extracts (*Andrographis paniculata*) to *Bacillus cereus* and *Pseudomonas aeruginosa*

RUTH NOVA MARDIANA, NESTRI HANDAYANI

Prodi Diploma 3 Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret. Jl. Ir. Sutami 36a, Surakarta 57126, Jawa Tengah

Manuskrip diterima: 7 Juli 2015. Revisi disetujui: 28 November 2015.

Abstract. Mardiana RN, Handayani N. 2016. Antibacterial activity of the sambiloto leaf extracts (*Andrographis paniculata*) to *Bacillus cereus* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Biofarmasi* 14: 19-24. The purpose of this research was to evaluate the antibacterial activity of sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees.) extract against bacterial *Bacillus cereus* and *Pseudomonas aeruginosa*. Some research had proven sambiloto leaf extract evident had antibacterial activity to bacteria *Staphylococcus aureus*. The sample of sambiloto leaf was macerated using 70% ethanol, and the extract was concentrated using rotary evaporator. The antibacterial activity was evaluated by diffusion method. Antibacterial potency of the extract was compared with by Amoxicillin made default curve among logarithm concentrates to constraining diameter (mm), then accounted by its equivalence point. Ethanol extract of sambiloto leaf had antibacterial activity to *B. cereus* and *P. aeruginosa*. Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of 12,5% against *B. cereus* and *P. aeruginosa*. The potential antibacterial activity of sambiloto leaf extract was 0,2% for *B. cereus* and 0.3% for *P. aeruginosa*; as compared with Amoxicillin. This, potential antibacterial activity of sambiloto leaf extract to the two tested bacteria was much smaller than that of Amoxicillin synthetic antibiotic.

Keywords: Antibacteria, *Andrographis paniculata*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*

PENDAHULUAN

Hampir setiap orang Indonesia pernah menggunakan tumbuhan obat untuk mengobati penyakit atau kelainan yang timbul pada tubuh selama hidupnya, baik ketika masih bayi, kanak-kanak, maupun setelah dewasa. Dan diakui serta dirasakan manfaat tumbuhan obat ini dalam menyembuhkan penyakit yang diderita atau meredam kelainan yang timbul pada tubuh (Kemala et al. 2003).

Obat tradisional sejak dulu memainkan peranan yang penting dalam menjaga kesehatan, mempertahankan stamina dan mengobati penyakit, oleh karena itu obat tradisional masih berakar kuat dalam kehidupan masyarakat hingga kini. Tumbuhan yang berkhasiat obat banyak sekali di sekitar kita. Ada yang berupa bumbu dapur, tanaman buah, tanaman hias dan tanaman sayur, selain itu juga ada tanaman liar yang tumbuh di sembarang tempat tanpa ada yang memperhatikan (Muhlisah 1995).

Dewasa ini, pemakaian bahan alam sebagai obat tradisional maupun diolah menjadi produk kesehatan telah mengalami kemajuan pesat, karena bahan alami tersebut didukung oleh adanya sifat bakteriostatik yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri tertentu (Sophia 2003). Pemanfaatan *herbal medicine* ramai dibicarakan, termasuk dalam manfaatnya, namun kebanyakan informasi yang ada hanya sebatas bukti empiris belum ada bukti ilmiah. Tanaman sambiloto merupakan salah satu bahan alam yang

semakin banyak peminatnya untuk dijadikan obat karena mengandung senyawa bioaktif berkhasiat.

Tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees), famili Acanthaceae, sangat banyak digunakan sebagai obat tradisional. Kandungan kimia sambiloto yaitu andrografolid, neo-andrografolid, panikulin, mineral (kalium, kalsium, natrium), flavonoid, asam kersik, dan damar. Zat aktif (berkhasiat obat) ialah andrografolid yang rasanya sangat pahit. Kadar andrografolid 2,5-4,6% dari bobot kering. Kadar kalium juga relatif cukup tinggi (Santa 1996). Uji khasiat sambiloto pada hewan dan sebagian dengan darah manusia secara in vitro antara lain sebagai antipiretika, antiinflamasi, antidiabetes, anti-malaria, antibakteri, antifilariasis, diuretika, infeksi saluran kemih, analgetika, diare, menurunkan kontraksi usus dan tekanan darah, aktifitas imunodulator, antiandrogenik dan antispermatogenik, melindungi kerusakan hati dan jantung yang bersifat reversibel (Nuratmi et al. 1996).

Pada penelitian sebelumnya sambiloto telah di uji aktivitas antibakterinya terhadap bakteri *Stapylococcus aureus*, dan terbukti bahwa sambiloto dapat menghambat bakteri *S.aureus* (Arbianti et al. 2008) maka perlu uji antibakteri terhadap bakteri yang lain, disesuaikan dengan khasiatnya. Karena tanaman sambiloto mempunyai banyak khasiat menyembuhkan penyakit yang disebabkan oleh bakteri, sehingga memacu untuk melakukan penelitian tentang kegunaan sambiloto sebagai antibakteri.

Pada penelitian ini dipilih bakteri *Bacillus cereus* karena bakteri ini menyebabkan diare dan k anti-diare; serta *Pseudomonas aeruginosa*, bakteri yang menyebabkan infeksi saluran kemih. Khasiat daun sambiloto sendiri juga sebagai obat infeksi saluran kemih.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak sambiloto terhadap bakteri *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas aeruginosa* dan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak sambiloto terhadap bakteri *B. cereus* dan *P. aeruginosa*; serta mengetahui potensi ekstrak etanol daun sambiloto dibanding dengan Amoksisilin.

BAHAN DAN METODE

Metode

Penelitian dilakukan dengan menggunakan metode eksperimental di laboratorium. Pembuatan ekstrak sambiloto dilakukan dengan metode maserasi dilanjutkan dengan evaporasi. Uji aktivitas ekstrak dilakukan dengan metode difusi dan selanjutnya penentuan KHM (Konsentrasi Hambat Minimum). Uji potensi ekstrak dibandingkan dengan amoksisilin dengan cara membuat kurva standar antara log konsentrasi terhadap diameter hambat (mm).

Waktu dan tempat penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Mei 2011 sampai Juni 2011, di Sub-lab. Biologi, Laboratorium Pusat MIPA, Universitas Sebelas Maret, Surakarta.

Alat dan bahan

Blender elektrik, kertas saring steril, inkubator, seperangkat alat evaporasi, bunsen, jarum ose, dor gabus, pipet, kamera, toples kaca, cawan petri, timbangan, autoklav, LAF (*Laminar Air Flow*), Mikropipet, Teep, dan Alat-alat gelas.

Simplisia sambiloto, aquades, kertas, isolat *Bacillus cereus*, isolat *Pseudomonas aeruginosa*, kapas, aluminium foil, media NA (Natrium Agar), etanol teknis 70%, DMSO (Dimetil Sulfoksida) dan amoksisilin.

Prosedur penelitian

Determinasi bahan

Determinasi tanaman yang digunakan dalam penelitian ini dilakukan di Universitas Setia Budi Surakarta. Determinasi berdasarkan pada pengamatan ciri mikroskopis serbuk daun *Andrographis paniculata* Ness.

Persiapan sampel

Simplisia daun *Andrographis paniculata* Ness yang diperoleh dari Balai Besar Penelitian Dan Pengembangan Obat Dan Obat Tradisional (B2P2TO2T) Tawangmangu Karanganyar, Jawa Tengah yang kemudian diblender kasar.

Pembuatan ekstrak

Ekstraksi yang dilakukan menggunakan metode maserasi selama 24 jam dengan pelarut etanol 70%. Sari yang diperoleh kemudian diperas untuk memisahkan ampas

dengan sari. Ampas dimaserasi kembali selama 24 jam. Sari tersebut kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* sehingga menghasilkan ekstrak kental.

Uji aktifitas antibakteri ekstrak

Sterilisasi alat: Alat yang digunakan untuk aktivitas antibakteri disterilkan dalam autoklav dengan temperatur 121°C selama kurang lebih 20 menit.

Pembuatan media agar miring: Natrium Agar (NA) ditimbang sebanyak 1 gram kemudian dilarutkan dalam 50 mL aquades, dipanaskan diatas *hotplate stirer* sampai mendidih dan terbentuk larutan agar yang berwarna kuning bening. Masukkan ke dalam tabung reaksi masing-masing 5 mL. Tutup tabung reaksi dengan kapas serta aluminium foil. Tabung reaksi yang berisi agar disterilisasi pada suhu 121°C selama 20 menit. Selanjutnya ditempatkan pada rak miring dan diakan sampai padat pada suhu kamar.

Pembuatan biakan bakteri: Sebanyak 1 ose isolat bakteri digoreskan pada media miring agar NA dengan pola zig-zag, masing-masing bakteri dibuat 3 biakan bakteri. Proses ini dilakukan dalam keadaan steril pada ruang isolasi dengan sinar UV. Biakan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam.

Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun sambiloto: Natrium agar (NA) ditimbang sebanyak 3 gram kemudian dilarutkan dalam 150 mL air aquades, dipanaskan, *distirer* diatas *hotplate* sampai mendidih sehingga terbentuk larutan agar yang berwarna kuning bening. Tabung reaksi disiapkan, masing-masing diisi dengan 3 mL aquades dan ditutup rapat dengan kapas dan aluminium foil untuk membuat suspensi bakteri dengan catatan 1 tabung 1 bakteri. NA yang telah dididihkan, aquades dalam tabung reaksi, cawan petri yang telah dibungkus kertas dan alat-alat yang akan digunakan dalam uji antibakteri disterilisasi pada suhu 121°C selama 20 menit. ditumbuhkan dalam media NA miring masing-masing diambil 1 ose dan dimasukkan kedalam aquades steril. Agar pertumbuhan bakteri merata, sebelumnya satu ose bakteri dicampur dalam tabung reaksi difortex terlebih dahulu. Setelah itu 20 mL NA steril dan 100 µL suspensi bakteri dituang dalam cawan petri dan diputar membentuk angka delapan agar media dan bakteri tercampur rata, tunggu sampai padat. Untuk uji antibakteri, bakteri yang telah ditumbuhkan dicetak dengan bor gabus ukuran diameter 6 mm. Kemudian dimasukkan ekstrak etanol dengan konsentrasi 100%, 75%, 50% dan 25% sebanyak 20 µL dengan menggunakan mikropipet. Cawan kemudian di inkubasi di dalam inkubator suhu 37°C selama 18-24 jam.

Pengamatan hasil: Pengamatan zona hambat sampel terhadap pertumbuhan bakteri uji dilakukan dengan mengukur diameter zona bening di sekitar sumuran yang merupakan diameter zona penghambat sampel.

Penentuan KHM: Ekstrak konsentrasi 100% yang menunjukkan adanya penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri, dibuat variasi konsentrasi secara menurun yang selanjutnya dilakukan uji aktivitas antibakteri dari masing-masing konsentrasi 100%, 75%, 50% dan 25% tersebut untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum.

Penentuan nilai banding: Sebagai pembanding digunakan standar dengan perlakuan yang sama seperti uji.

Standar yang digunakan adalah amoksisilin. Dari hasil yang diperoleh kemudian dibuat kurva standar antara log konsentrasi terhadap DDH diameter hambatan (mm). Kurva ini digunakan sebagai pembanding bagi sampel yang memiliki aktivitas antibakteri tertinggi dengan cara menarik garis lurus yang memotong kurva standar dan diameter hasil pengamatan sehingga diperoleh harga log konsentrasi dan kemudian dihitung antilognya untuk mendapatkan konsentrasi yang sebenarnya. Nilai banding sampel terhadap baku amoksisilin dapat dihitung dengan persamaan:

$$\text{Nilai banding} = \frac{\text{konsentrasi sampel dari kurva} \times 100\%}{\text{konsentrasi sampel sebenarnya}}$$

Analisis data

Dari uji antibakteri dengan metode difusi akan didapat nilai diameter zona hambat pertumbuhan bakteri dan kemudian akan dibandingkan dengan zona hambat antibiotik sintesis

Penentuan nilai banding penentuan nilai banding antibakteri ekstrak dibanding amoksisilin dilakukan dengan cara dibuat kurva standar antara log konsentrasi terhadap diameter hambat (mm). Kurva ini digunakan sebagai sampel pembanding bagi sampel yang memiliki aktivitas antibakteri tertinggi dengan cara menarik garis lurus yang memotong kurva standar dan diameter hasil pengamatan sehingga diperoleh konsentrasi. Nilai banding sampel terhadap baku amoksisilin dapat dihitung dengan persamaan:

$$\text{Nilai banding} = \frac{\text{konsentrasi sampel dari kurva} \times 100\%}{\text{konsentrasi sampel sebenarnya}}$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi bahan

Hasil determinasi sampel tanaman yang dilakukan oleh laboratorium Taksonomi Tumbuhan, Universitas Setia Budi, Surakarta, Jawa Tengah menyatakan bahwa sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah benar daun *Andrographis paniculata* Nees atau sambiloto.

Persiapan sampel

Daun sambiloto yang telah dibersihkan dan dicuci kemudian dikeringkan selama \pm 3 hari pada suhu kamar dan tidak boleh terkena matahari langsung. Tujuan dari pengeringan ini untuk mengurangi kadar air dalam daun sambiloto sehingga bakteri dan jamur tidak tumbuh selama penyimpanan. Daun sambiloto tidak boleh terkena sinar matahari secara langsung karena akan menyebabkan kehilangan kandungan zat aktif nya (Ketaren 1985).

Ekstraksi daun sambiloto

Serbuk simplisia sebanyak 50 gram diekstraksi dengan metode maserasi (perendaman bahan) etanol sebanyak 1x24 jam untuk mendapatkan senyawa-senyawa kimia sambiloto. Proses maserasi dipilih karena prosesnya lebih

mudah pada teknik maserasi menggunakan pelarut etanol 70%, dikarenakan pelarut etanol merupakan pelarut universal yang dapat melarutkan hampir sebagian besar komponen senyawa yang terkandung dalam ekstrak (Palleros 1993). Remaserasi dilakukan untuk memaksimalkan jumlah senyawa dalam simplisia yang dapat tersari. Proses maserasi yang disertai pengadukan berkala bertujuan untuk menghindari memadatnya serbuk, jika serbuk memadat maka pelarut sulit menembus bahan dan sulit mengambil senyawa-senyawa aktifnya. Selain itu pengadukan dapat menyempurnakan kontak antara pelarut dan sampel. Cairan penyari akan menembus dinding sel yang mengandung zat aktif, zat aktif tersebut akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang ada diluar sel, maka larutan yang terpekat di desak keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan diluar sel dan di dalam sel.

Maserat yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* hingga tidak ada pelarut yang tertinggal dan dihasilkan ekstrak sebanyak 13 gram dengan rendemen 26% (b/b). Untuk mengetahui ekstrak etanol mempunyai antibakteri terhadap bakteri *B.cereus* dan *P.aeruginosa* atau tidak maka dilakukan pengujian aktivitas antibakteri.

Uji antibakteri

Uji antibakteri ekstrak daun sambiloto

Metode yang digunakan dalam uji antibakteri ekstrak etanol daun sambiloto ini adalah metode difusi dengan teknik sumuran dimana bakteri yang digunakan yaitu bakteri gram positif *B. cereus* dan gram negatif *P. aeruginosa* yang merupakan bakteri yang bersifat patogen pada manusia. Uji antibakteri ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan ekstrak etanol daun sambiloto dalam menghambat pertumbuhan bakteri dan mengetahui Kadar Hambat Minimum (KHM) suatu antibakteri. Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sambiloto dilakukan pada konsentrasi 100%, 75%, 50%, 25%.

Metode difusi dipilih karena pada metode ini bakteri dapat teramati dengan jelas, sehingga dapat memudahkan dalam pengamatan bakteri uji. Diameter hambat pertumbuhan bakteri ini ditandai dengan adanya daerah bening disekitar sumuran, sedangkan warna keruh pada media menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri. Sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun sambiloto positif menghambat pertumbuhan bakteri *B. cereus* dan *P. aeruginosa*. Pengujian antibakteri ini juga dilakukan pada kontrol negatif yang berupa pelarut dari sampel yaitu dimetil sulfoksida (DMSO) karena DMSO tidak mempunyai efek antibakteri sehingga tidak mempengaruhi hasil uji antibakteri (Ristiningsih 2009). Yuliani (2001) telah membuktikan bahwa DMSO tidak aktif sebagai anti bakteri.

Menurut Elganjar (2006) kekuatan antibakteri digolongkan menjadi tiga, yaitu kuat jika menghasilkan diameter zona hambat lebih dari 8 mm, aktivitas sedang jika menghasilkan diameter zona hambat 7-8 mm, dan aktivitas lemah jika memiliki diameter zona hambat kurang dari 7 mm. Hasil uji diatas menunjukkan bahwa ekstrak

etanol mempunyai aktivitas antibakteri yang kuat karena zona hambatnya lebih dari 8 mm.

Konsentrasi ekstrak meningkat maka kadar bahan aktif antibakterinya semakin besar sehingga kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan bakteri juga semakin besar. Kemampuan suatu bahan antimikroba dalam menghambat maupun membunuh mikroorganisme tergantung pada konsentrasi bahan antimikroba (Schlegel dan Schmidt 1994).

Zat antibakteri menyebabkan membran sel berada dalam lingkungan yang hipertonik. Suatu keadaan hipertonik dapat menyebabkan penghambatan pembentukan dinding sel sehingga sel hanya dibatasi oleh membran sel yang tipis (Jawetz et al. 2005). Membran sel bakteri gram negatif tersusun atas lapisan peptidoglikan yang tipis, sedangkan lapisan fosfolipid lebih tebal. Senyawa antibakteri dapat melisis membran sel dengan melarutkan lapisan fosfolipid dari membran sel bakteri (Kusumaningrum 2002).

Dilihat dari data aktivitas penghambatan ekstrak etanol daun sambiloto pada bakteri gram positif relatif lebih kecil daripada gram negatif. Perbedaan nyata dalam komposisi dan struktur dinding sel antara bakteri gram positif dan gram negatif menyebabkan respon keduanya terhadap berbagai perlakuan dan bahan, seperti pewarnaan gram dan antibiotik-antibiotik tertentu. Bakteri gram negatif mengandung lipid, lemak, atau substansi seperti lemak dalam prosentase lebih tinggi daripada yang dikandung bakteri gram positif. Dinding sel bakteri juga lebih tipis daripada dinding bakteri gram positif (Pelczar dan Chan, 1986). Bagian terluar dinding sel bakteri gram negatif adalah membran luar. Struktur membran luar terdiri dari fosfolipid (lapisan dalam) dan lipopolisakarida (bagian luar) (Purwoko 2007).

Permeabilitas dinding sel bakteri dipengaruhi oleh tebal tipisnya lapisan peptidoglikan dalam dinding sel. Perbedaan permeabilitas diantara dua kelompok dinding sel bakteri juga menyebabkan perbedaan daya hambat antara bakteri antara bakteri gram positif dan gram negatif. Dinding sel bakteri gram negatif mengandung peptidoglikan jauh lebih sedikit, dan peptidoglikan ini mempunyai ikatan silang yang jauh kurang ekstensif dibandingkan dengan yang dijumpai pada dinding bakteri gram positif (Pelczar dan Chan 1986). Sehingga permeabilitas bakteri gram positif lebih rendah dibandingkan permeabilitas bakteri gram negatif. Dengan permeabilitas yang rendah maka zat aktif dari ekstrak akan mengalami kesulitan untuk menembus membran sel bakteri gram positif sehingga efek bakterinya kurang optimal. Dengan terganggunya sistesis peptidoglikan maka pembentukan dinding sel tidak sempurna karena tidak mengandung peptidoglikan sehingga sel hanya dilapisi oleh membran sel. Keadaan ini menyebabkan sel bakteri mudah mengalami lisis karena tekanan osmotik yang menyebabkan sel bakteri mati (Prihnowati 2009).

Jika dilihat dari Tabel 1 menunjukkan bahwa setiap konsentrasi menyebabkan perbedaan nyata terhadap diameter hambat pada masing-masing bakteri uji. Aktivitas antibakteri ekstrak daun sambiloto pada konsentrasi 100% > 75% > 50% > 25%. Hal ini sesuai dengan Ajizah (2004)

dimana semakin kecil konsentrasi maka semakin sedikit jumlah zat aktif yang terkandung didalamnya, sehingga semakin rendah kemampuan dalam menghambat pertumbuhan suatu bakteri. Menurut Pelczar dan Chan (1986) semakin besar konsentrasi zat yang terdapat pada cakram akan memperbesar kemampuan difusi zat tersebut pada media sehingga mempermudah penetrasi zat dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Maka, aktivitas antibakteri ekstrak daun sambiloto tergantung dari konsentrasi yang digunakan. Zat aktif yang terkandung dalam daun sambiloto yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri adalah flavonoid (Cushnie dan Lamb 2005).

Penentuan KHM ekstrak daun sambiloto

Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) merupakan konsentrasi terendah antibakteri yang masih mampu menghambat pertumbuhan bakteri (Lay, 1994). Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak daun sambiloto positif menghambat pertumbuhan bakteri kemudian dilanjutkan uji untuk mengetahui nilai KHM dengan bervariasi konsentrasi ekstrak hingga didapat konsentrasi ekstrak yang sudah tidak menghambat pertumbuhan bakteri lagi. Variasi konsentrasi yang digunakan mulai dari konsentrasi 12,5% sampai 0,3%. Nilai KHM dari ekstrak daun sambiloto dapat dilihat pada Tabel 2. Dari Tabel 2, diketahui bahwa pada *B.cereus* dan *P.aeruginosa* nilai KHMnya sama yaitu 12,5% dengan diameter hambat masing-masing adalah 8,13 dan 8,34 mm atau sekitar 2,13 dan 2,34 mm dari tepi sumuran. Pada konsentrasi dibawah 6,25% sudah tidak terdapat zona bening disekitar sumuran, sehingga dapat dikatakan pada konsentrasi tersebut ekstrak sudah tidak dapat menghambat bakteri.

Penetapan KHM amoksisilin dan uji potensi antibakteri daun sambiloto

Uji potensi antibakteri ekstrak sambiloto dilakukan terhadap antibiotik amoksisilin. Pemilihan amoksisilin ini dikarenakan amoksisilin merupakan antibiotik yang berspektrum penghambatan yang luas sehingga dapat digunakan untuk semua bakteri uji. Selain itu, meskipun amoksisilin mempunyai aktivitas yang sama dengan ampisilin akan tetapi respon lebih lengkap dan pesat dengan kadar darah dua kali lipat (Tjay dan Rahardja 2008).

Amoksisilin dapat berfungsi sebagai antibakteri karena dapat menghambat tahap akhir sintesis dinding sel bakteri. Amoksisilin dapat menghambat kerja enzim transpeptidase dengan cara mengikat enzim melalui ikatan kovalen sehingga mencegah pembentukan dinding sel bakteri. Akibatnya dinding sel menjadi lemah dan karena adanya tekanan turgor dari dalam, dinding sel akan pecah atau lisis sehingga bakteri mati (Siswandono dan Soekardjo 2000). Selain itu amoksisilin merupakan pengasilasi kuat, dimana reaksi asilasi menyebabkan kekuatan dinding sel bakteri menjadi lemah dan mudah terjadi lisis sehingga bakteri mengalami kematian (Jawetz et al. 2005).

Tabel 1. Data Diameter Daerah Hambat ekstrak etanol daun sambiloto

Konsentrasi ekstrak etanol (b/v)	Rata-rata DDH (mm)	
	<i>B. cereus</i>	<i>P. aeruginosa</i>
100%	14,75	15,69
75%	12,37	13,60
50%	11,49	12,66
25%	10,68	10,49

Keterangan : Rata-rata hasil 3x pengujian, Diameter lubang = 6 mm, DDH = Diameter Daya Hambat (mm)

Tabel 2. Nilai KHM ekstrak daun sambiloto terhadap bakteri uji

Konsentrasi (v/b)	Rata-rata DDH	
	<i>B.cereus</i>	<i>P.aeruginosa</i>
12,5%	8,13*	8,34*
6,25%	6,00	6,00
3,125%	6,00	6,00
1,5%	6,00	6,00
0,7%	6,00	6,00
0,3%	6,00	6,00

Keterangan: Rata-rata hasil 3x pengujian. Diameter lubang = 6mm. DDH= Diameter Hambat Minimum. *= nilai KHM dari bakteri

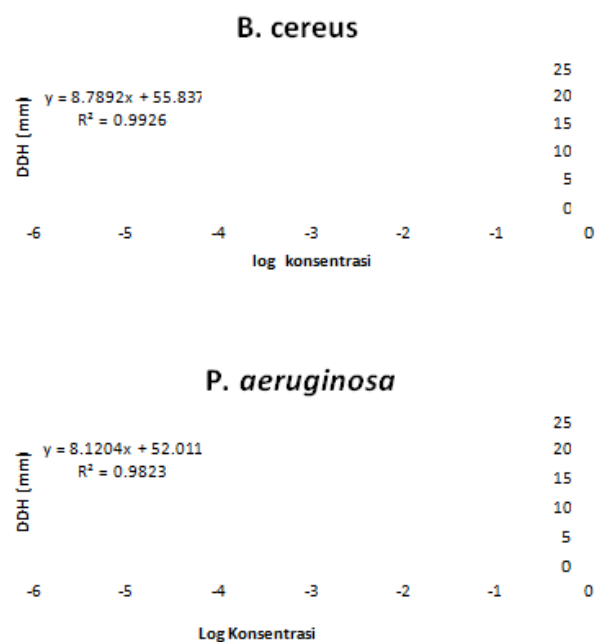
Tabel 3. Hasil pengujian KHM amoksisilin

Konsentrasi amoksisilin % (b/v)	Rata-rata DDH (mm)	
	<i>B.cereus</i>	<i>P.aeruginosa</i>
1×10^{-4}	20,37	18,82
5×10^{-5}	18,22	17,13
$2,5 \times 10^{-5}$	15,19	15,29
1×10^{-5}	12,53	12,35
5×10^{-6}	9,58*	8,61*
$2,5 \times 10^{-6}$	6,00	6,00

Keterangan: Rata-rata hasil 3x pengujian, Diameter lubang = 6 mm, DDH = Diameter Daya Hambat (mm), * = nilai KHM

Pengujian aktivitas antibakteri terhadap amoksisilin dilakukan dengan variasi konsentrasi 1×10^{-4} %, 5×10^{-5} %, $2,5 \times 10^{-5}$ %, 1×10^{-5} %, 5×10^{-6} % dan $2,5 \times 10^{-6}$ %. Hasil pengujian aktivitas KHM amoksisilin dapat dilihat pada Tabel 3. Nilai KHM amoksisilin terhadap semua bakteri uji adalah sama yaitu 5×10^{-6} % tetapi DDH bakteri uji tersebut berbeda-beda. DDH dari *B.cereus* sebesar 9,58 mm dan *P.aeruginosa* sebesar 8,61 mm. Penetapan nilai banding bertujuan untuk mengetahui potensi ekstrak sebagai antibiotik alami dibandingkan dengan amoksisilin sebagai antibiotik sintetis. Konsentrasi ekstrak yang digunakan untuk menetapkan nilai banding adalah 100% yang merupakan konsentrasi tertinggi untuk penentuan KHM.

Penentuan nilai banding ekstrak daun sambiloto dilakukan dengan menggunakan kurva hubungan antara logaritma konsentrasi amoksisilin (% b/v) dengan rata-rata DDH (mm) untuk setiap bakteri uji (Gambar 1). Dari grafik didapat persamaan garis untuk masing-masing bakteri uji. Persamaan garis tersebut digunakan untuk menetapkan nilai banding ekstrak terhadap amoksisilin. Diameter

**Gambar 1.** Konsentrasi amoksisilin (mg/ μ L) vs DDH (mm) amoksisilin bakteri *B. cereus* dan *P.aeruginosa***Tabel 4.** Potensi ekstrak sambiloto terhadap amoksisilin

Bakteri	Nilai banding
<i>B. cereus</i>	0,2%
<i>P. aeruginosa</i>	0,3%

Daerah Hambat (DDH) rata-rata ekstrak daun sambiloto pada masing-masing bakteri dimasukkan ke persamaan garis linier dari grafik amoksisilin sehingga akan dapat harga x. Harga x ini kemudian dicari anti log x-nya. Dari harga antilog x ini dapat dicari nilai banding ekstrak daun sambiloto terhadap amoksisilin. Nilai perhitungan potensi ekstrak dibanding amoksisilin dapat dilihat pada Tabel 4. Dari nilai banding ternyata ekstrak daun sambiloto sebagai antibakteri mempunyai potensi yang relatif kecil terhadap bakteri *B. cereus* dan *P. aeruginosa* dibanding dengan antibiotik sintetis (amoksisilin).

KESIMPULAN

Ekstrak etanol daun sambiloto mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *B.cereus* dan *P.aeruginosa* dengan nilai KHM sebesar 12,5% b/v terhadap kedua bakteri. Potensi ekstrak daun sambiloto dibanding amoksisilin untuk masing-masing bakteri adalah *B.cereus*

sebesar 0,2% dan *P. aeruginosa* sebesar 0,3%, hal ini menunjukkan bahwa potensi antibakteri ekstrak daun sambiloto jauh lebih kecil dibandingkan dengan antibiotik amoksisilin.

DAFTAR PUSTAKA

- Ajizah A. 2004. Sensitivitas Salmonella tyhimurium terhadap ekstrak daun *Psidium guajava* L. Journal Bioscientiae 1 (1):-.
- Arbianti R, Surya T, Hermansyah H, Widyasari A. 2008. Ekstraksi daun sambiloto dengan metode sonikasi dan pengaruhnya pada kenaikan indeks biasanya dan daya hambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*. Jurnal Teknologi Proses 7 (2): 161-166.
- Cushnie TPT, Lamb A J. 2005. Antimicrobial Activity of Flavonoids, Intl J Antimicrob Agents 26 (5): 343-356.
- Elganjar. 2006. Dalam Prosiding Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia tahun 2006. Identifikasi dan Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Bunga Legetan (*Spilanthes paniculata* Wall). Departemen Perindustrian RI dan Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. 1980. Review of Medical Microbiology. 14 th ed. Lange Medical Publications. Los Altos, CA
- Kemala S, Sudiarto ER, Yuhono JT, Nurhayati H. 2003. Studi Serapan, Pasokan dan pemanfaatan Tanaman Obat di Indonesia. Laporan Teknis Penelitian Bagian Proyek Penelitian Tanaman Rempah dan Obat APBN 2003, Jakarta.
- Ketaren S. 1985. Pengantar Teknologi Minyak Atsiri. Balai Pustaka, Jakarta
- Kusumaningrum GD. 2002. Aktivitas Penghambatan Minyak atsiri dan Ekstrak Kasar Biji Pala terhadap Pertumbuhan Bakteri *Xanthomonas campestris* Oammel. [Skripsi]. FMIPA UNS, Surakarta.
- Muhlisah F. 2005. Tanaman Obat Keluarga. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Nuratmi B, Adjirni DL, Paramita. 1996. Beberapa Penelitian Farmakologi Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees). Warta Tumbuhan Obat Indonesia 3: 1-24
- Palleros DR. 1993. Experimental Organic Chemistry. John Willey and Sons, Singapore.
- Pelczar MJ, Chan ECS. 1986. Dasar-dasar Mikrobiologi. UI Press, Jakarta.
- Prihnowati TW. 2009. Isolasi, identifikasi komponen kimia dan uji aktivitas antibakteri minyak atsiri daun lampes (*Ocimum sanctum* L.) pada *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli*. Jurusan Kimia. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Purwoko C. 2007. Fisiologi Mikroba. Edisi I. PT Bumi Akasara, Jakarta.
- Ristiningsih T. 2009. Uji Antibakteri Komponen Bioaktif Daun Lobak (*Raphanus sativus* L. var. *hortensis* Back.) Terhadap *Staphylococcus aureus* rosenbach dan Profil Kandungan Kimianya. [Skripsi]. Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Santa IGP. 1996. Studi Taksonomi Sambiloto *Andrographis paniculata* Nees. Warta Tumbuhan Obat Indonesia 3: 14-15.
- Siswandono, Soekardjo B. 2000. Kimia Medisinal. Edisi 2. Airlangga University Press, Surabaya.
- Sophia D. 2003. Antioksidan dan Radikal Bebas. Kimia Indonesia, Jakarta.
- Tjay TH, Rahardja K. 2008. Obat-Obat Penting, Khasiat, Penggunaan dan Efek-Efek Sampingnya. Edisi Keenam. Penerbit PT. Elex. Media Komputindo, Jakarta.
- Yuliani S. 2001. Prospek Pengembangan Obat Tradisional Menjadi Obat *Fitofarmaka*. Jurnal Litbang Pertanian Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat 20 (3):-.