Jurnal Vitek Bidang Kedokteran Hewan Vol.13 No.2, November 2023

DAUN BINAHONG SEBAGAI BAKTERIOSTATIK

Sampurna Arya B, P1, Widhowati2*, Hidayah, N3

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Wijaya Kusuma Surabaya

email: dyahwidho@gmail.com

Received: 4 November 2023 Accepted: 10 November 2023 Published: 21 November 2023

Abstract

This study aims to determine the sensitivity of binahong leaf (Anredera cordifolia) extract against *Salmonella sp.* with 5 treatments, namely concentrations of 60%, 80% and 100%. The positive control was chloramphenicol and the negative control was blank disk. Susceptibility test against bacteria was carried out using the disk diffusin method (Kirby-bauer). The results of this study indicated that binahong leaf extract at concentrations of 60%, 80% and 100% is able to reduce the growth of *Salmonella sp*, The phytochemical of Binahong leaf extract contain antibacterial active ingredients include Saponins, alkaloids, tannins, phenol . The inhibition zone from Binahong leaf extract was smaller than that of antibiotic chlorampenicol

Keywords: Binahong Leaf Extract, Salmonella sp, Chlorampenicol, Inhibitory Zone, Phytochemicals.

PENDAHULUAN

Salmonellosis masih menjadi penyakit yang angka kematian tertinggi pada unggas (46,6%) dan menyebabkan kerugian ekonomi di dunia perunggasan (Xinghua, et al., 2017). Menurut Pui C.F., et. al (2011), salmonellosis tidak hanya menyerang pada unggas, dapat juga menyerang pada manusia yang penularannya melalui olahan pangan asal hewan. Disebutkan angka kematian akibat infeksi Salmonella sp. pada manusia akibat dari olahan pangan asal hewan sekitar 93.8 juta kasus.

Cara pencegahan Salmonellosis pada hewan menggunakan cara menyemprotkan biosecurity pembersihan kandang atau menyemprotkan desinfektan di seluruh sudut kandang.

Kasus penyakit yang disebabkan oleh Salmonella sp. pada ayam petelur atau pedaging penanganan sering menggunakan antibakteri spectrum luas yang seharusnya dihindari pemakaiannya. Salah satu contoh antibakteri yang sering digunakan pada kasus infeksi Salmonellosis adalah antibiotik jenis golongan beta lactam, Aminoglikosida dan fluorokuinolon untuk mengendalikan infeksi usus atau mengobati penyakit infeksira sistemik (Rafael A, et,al.,2016).

Timbulnya resistensi terhadap suatu antibiotic pada tahun terkini menunjukkan peningkatan, keadaan ini terjadi akibat dari pemakaian penggunaan antibiotik yang kurang bijak. Efek dari resistensi adalah infeksi bakteri yang akan diobati antibiotika tidak menimbulkan kemajuan kearah kesembuhan (Pratiwi, 2017).

Binahong yang bahasa latinya adalah Anredera cordifolia., adalah tanaman yang sudah dikenal lama di Indonesia sebagai tanaman yang yang dapat menyembuhkan demam tiphoid, enteritis, stomatitis,

pembesaran hati dan jantung. (Hesti dkk., 2015). Jenis senyawa yang terkandung pada daun binahong adalah alkaloid, polifenol, flavonoid, saponin dan antrakuinon. Senyawa – senyawa diatas sudah diketahui bahwa bersifat bakteriotsatik (Ade dan Nurul, 2019)

Adanya kandungan antibakteri pada daun binahong perlu dilakukan penelitian potensi ekstrak binahong sebagai bakteriostatik alami terhadap bakteri penyebab *Salmonellosis*

MATERI DAN METODE

Lokasi Dan Waktu

Uji kepekaan dilakukan tanggal 1 Mei – 25 Mei 2022, yang sebelumnya diawali dengan pembuatan ekstrak daun binahong, dilanjutkan uji kwalitatif kandungan fitokimia dan uji sensitivitas. Pelaksanaan uji-uji tersebut di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Sidoarjo

Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan meliputi: autoklaf, incubator, spektrofotometri, vortex, jangka sorong, mikropipet dan yellow tip, petridish, *spreader glass*, tabung reaksi dan rak tabung reaksi, tabung erlenmeyer, ose, bunsen, pipet, spuit 1 ml, aluminium foil, laminar flow, masker dan sarung tangan

Bahan yang digunakan yaitu: koloni *Salmonella* sp., ekstrak daun binahong, media uji kepekaan bakteri *Mueller-Hinton Agar* (MHA), Media *Pepton water*, standard larutan Mc. Farland 0,5, *Natrium karboksilmetil selulosa* (CMC - NA), antibiotik kloramfenikol 30µg dan cakram disk, aquadest steril

Metode Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan 5 perlakuan masingmasing yaitu perlakuan menggunakan ekstrak daun binahong dengan konsentrasi 60% (P1), konsentrasi 80% (P2), dan konsentrasi 100% (P3) dan kontrol positif menggunakan antibiotik kloramfenikol, sedangkan kelompok kontrol negatif menggunakan blank disk. Lima perlakuann tersebut kemudian diulang sebanyak 5 kali ulangan, sehingga total ada 25 sampel. Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL)

Sampel Penelitian

Bakteri yang dipergunakan sebagai sampel adalah koloni *Salmonella* sp. yang sudah disetarakan dengan Mc.Farland 0,5, kemudian diisolasi dipermukaan media *Mueller Hinton Agar* (MHA). Bakteri tersebut ditantang dengan ekstrak daun binahong dengan metode difusi kertas cakram (*Kirby-bauer*) untuk melihat kepekaan terhadap lima perlakuan (ekstrak daun binahong konsentrasi 60%,80%, 100%, Kloramfenikol dan blank disk) dan masing masing dulang lima kali.

Ekstrak Daun Binahong

Pembuatan larutan ekstrak daun binahong.terdiri dari:

- a. Konsentrasi ekstrak daun binahong 60% yaitu, 0,6 gr ekstrak daun binahong ditambah dengan pelarut CMC- NA sampai 1 ml
- Konsentrasi ekstrak daun binahong 80% yaitu, 0,8 gr ekstrak daun binahong ditambah dengan pelarut CMC- NA sampai 1 ml
- Konsentrasi ekstrak daun binahong 100% yaitu, 1 gr ekstrak daun binahong ditambah dengan pelarut CMC – NA sampai 1 ml

Uji kepekaan antibakteri Isolat bakteri *Salmonella sp* :

Isolat *Salmonella* sp. yang sudah diuji kemurniannya dengan mengkultur dalam media selektif *Salmonella Shigella Agar* (SSA) kemudian inkubasi suhu 37 derajat Celsius, selama 24 jam. Kemudian dilanjut dengan pewarnaan Gram dan uji biokimia (TSIA, SIM, Urease, SCA, MR/VP). Setelah dipastikan isolate murni dilanjukan pembuatan suspense

Suspensi Salmonella sp. setara dengan Mc.Farland 0.5:

Isolat murni bakteri sampel dikultur selama 24 jam pada media *Pepton Water*, diinkubasi pada suhu 37°C selama 6 jam. Kemudian suspense *Salmonella sp* dalam pepton water disetarakan kekeruhannya dengan standart Mc Farland 0,5 (10⁵-10⁸/ml) menggunakan spektrofotometer. Bakteri yang terkandung dalam suspensi kurang lebih 1- 10 juta sel bakteri.

Metode Difusi Cakram (Kirby-Bauer)

Tujuan dari metode difusi cakram ini adalah untuk melihat zona hambat yang terbentuk dari suspensi bakteri yang ditantang oleh beberapa perlakuan tersebut diatas, yaitu dengan cara suspense bakteri diteteskan di media MHA, diratakan menggunakan spreader glass sampai rata dipermukaan media dan didiamkan hingga kering. Kemudian menempelkan cakram disk kontrol positif yaitu Kloramfenikol, control negatif dengan blank disk dan cakram disk yang direndam oleh ekstrak daun binahong konsentrasi 60%, 80%, 100%. Penempelan cakram disk pada media sebaiknya diberi ruang diantara masing masing cakram MHA. Selanjutnya media yang berisi bakteri tantang dan berbagai cakram disk perlakuan di masukkan dalam incubator dengan suhu 37°C selama ±24 jam, Pelaksanaan uji diffuse tersebut diulang lima kali pada setiap perlakuan. Zona hambat yang terbentuk berupa zona bening di sekeliling cakram disk. Zona bening di amati dan diukur dengan jangka sorong..

Parameter Penelitian

Kandungan fitokimia kualitatif dari ekstrak daun binahong dan pembentukan zona hambat berfungsi sebagai parameter penelitian. Zona hambat di sekitar kertas cakram disk merupakan kepekaan bakteri terhadap bahan yang diuji .

Suatu bahan dikatakan mempunyai aktivitas antibakteri apabila diameter hambatan yang terbentuk lebih besar sama dengan 6 mm (Warbung, 2013)

Analisis Data

Untuk mengetahui kepekaan ekstrak daun binahong sebagai antibakteri terhadap Salmonella sp. digunakan analisis Rancangan Acak Lengkap (RAL). Hasil data yang didapat dilanjutkan dengan ANOVA (analysis of varian) dan taraf kepercayaan yang digunakan dalam penelitian ini α = 0,05.

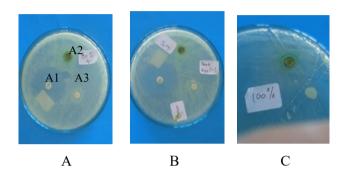
HASIL

Tabel 1. Kandungan fitokimia secara kualitatif ekstrak daun binahong

Parameter	Hasil	Keterangan
Alkaloid	+	positif

Flavonoid + positif lemah Fenolik + positif lemah Saponin ++ positif sedang Tanin + positif

Hasil pengujian kepekaan ekstrak daun binahong dengan tiga macam konsentrasi (60%,80%, 100%) terhadap *Salmonella* sp. dengan metode difusi cakram (*Kirby-bauer*) ditunjukkan pada gambar 1:



- A. Kloramfenicol (kiri), Konsentrasi 60% (atas), *blank disk* (kanan)
- B. Kloramfenicol (kiri) ,Konsentrasi 80%(atas), *blank disk* (kanan)
- C. Konsentrasi 100%(atas), Kontrol(-) blank disk (kanan)

Gambar 1. Uji kepekaan konsentrasi ekstrak daun binahong 60%, 80%, 100% terhadap pertumbuhan *Salmonella* sp, Kloramfenikol, dan blank disk

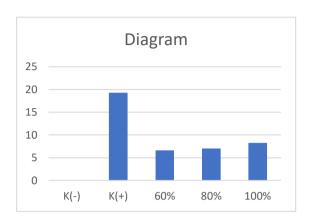
Tabel 2. Diameter Zona Hambat pertumbuhan *Salmonella* sp.

Perlakuan	Diameter ± SD	
	(mm)	
P0- (Blank disk)	$6\pm0^{\mathrm{a}}$	
P0+(Kloramfenikol)	$19,30 \pm 3,23^{b}$	
P1 60%	$6,37 \pm 0,34^{\mathrm{ac}}$	
P2 80%	$7,03 \pm 0,66$ ac	
P3 100%	$8,24 \pm 0,69^{c}$	

Hasil uji ANOVA dari terbentuk zona hambat pada perlakuan blank disk, kloramfenikol dan tiga macam konsentrasi ekstrak daun binahong ditunjukkan dengan superskrip yang berbeda yaitu a, b, ac,ac dan d.

Jika superskrip menunjukkan huruf yang tidak sama diartikan berbeda nyata (P<0,05)

dan jika huruf nya sama diartikan tidak berbeda nyata (P>0,05).



Gambar 2. Diagram rata-rata luas zona bening (mm) kelompok kelompok perlakuan

PEMBAHASAN

penelitian Hasil dan analisis data menunjukkan bahwa zona hambat yang terbentuk dari kloramfenikol berbeda nyata dengan ekstrak daun binahong antara 60 %, 80%, dan 100%. Interpretasi zona hambat yang terbentuk oleh kloramfenikol 30ug sebagai kontrol positif adalah sensitif karena diameter yang terbentuk sebesar 19,30 mm. Zona hambat vang terbentuk dari ekstrak daun binahong konsentrasi 60% (6,37 mm), 80% (7,03 mm), (8,24 mm) adalah termasuk resisten menurut standart zona hambat yang terbentuk pada kloramfenikol (CLSI, 2018).

Menurut Rahmawati (2015), zona hambat yang terbentuk dari antibakteri alami, dinilai kategori daya hambat kuat jika ukuran zona hambat adalah 10 – 20 mm, zona hambat kategori sedang jika ukuran zona hambat sebesar 5 -10 mm,

Berdasar pada ukuran zona hambat tersebut diatas, zona hambat yang terbentuk oleh ekstrak daun binahong 60% sebeasar 6,37 mm dinilai sebagai antibakteri alami yang daya hambatnya sedang. Ekstrak daun binahong 80% yang terbentuk 7,03 mm berarti juga daya hambatnya sedang. Konsentrasi 100% ekstrak daun binahong 100% termasuk sedang karena ukuran zona 8,24 mm. (Rahmawati, 2015)

Kandungan antibakteri dalam daun binahong antara lain saponin, flavonoid, fenolik, alkaloid dan tannin mempunyai potensi sebagai antibakteri meskipun hasil zona hambat 6,36 – 8,23 mm (Kurniawan, 2015).

Saponin mengandung zat yang membentuk komplek polisakarida pada dinding sel yang mekanisme kerjanya adalah menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri, berakibat terjadinya gangguan permeabilitas membrane sehingga menyebabkan sel protein dan enzim yang berada dalam sel mengalir keluar sel, mengakibatkan sel bakteri mengalami lisis (Ernawati, 2015).

Alkaloid mengandung komponen kimia berupa Antrakuinon glikosida dan resin yang mampu menembus dinding sel dan bersifat menghambat replikasi DNA pada inti sel, sehingga merusak sel bakteri (Mesy *et al.*, 2023)

Tanin merupakan salah satu senyawa aktif metabolit yang mampu mengikat radikal bebas dengan melarutkan lemak pada sel dan jaringan serta menyebabkan denaturasi protein dan DNA pada inti sel bakteri sehingga sel bakteri menjadi lisis (Venila M., et al., 2020)

Flavonoid sebagai salah satu bahan anti bakteri, merupkan turunan dari phenol yang mempunyai peran mampu menembus sel bakteri dengan cara absorbsi dan setelah berada dalam sel bakteri berpotensi mendenaturasi protein bakteri, menghambat fungsi enszim dalam sel bakteri mengganggu metabolism bakteri sehingga bakteri mengalami lisis. (Gulfraz et al., 2014; Purwantiningsih, dkk., 2019),

Hipotesa dalam penelitian ini diterima, karena ekstrak daun binahong 60%,80% dan 100% mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella sp.*, ditandai dengan terbentuknya zona hambat pada media MHA. Potensi antibakteri ekstrak daun binahong dengan konsentrasi 60%, 80%, 100% yang ditantang dengan *Salmonella* sp., semakin tinggi konsentrasinya, semakin besar ukuran zona hambat yang dihasilkan, akan tetapi ukurannya lebih kecil jika dibandingkan dengan antibiotik Kloramfenikol sebagai kontrol positif.

KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah bahwa ekstrak daun binahong mempunyai potensi sebagai antibakteri alami karena mempunyai kemampuan dalam hambatan pertumbuhan bakteri . Konsentrasi ekstrak daun binahong yang menghasilkan zona hambatnya terbesar adalah 100%, diikuti 80% dsn yang terkecil adalah 60%.

REFERENSI

- Ade, Nurul H., 2019. Pemilihan Prioritas Pemanfaatan Daun Binahong (*Psidium guajava L.*) terhadap *Salmonella pullorum* secara invitro. Jurnal Ilmiah Ibnu Sina. Vol 3 (2): 353-360
- Clinical and Laboratory Standards Institute. 2014. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Second Informational Supplement. West Valley (US): Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Ernawati dan Kumala S., 2015. Kandungan Senyawa Kimia dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Alpukat (*Persea Americana P. Mill*) terhadap Bakteri Vibrio alginolyticus. Jurnal Kajian Veteriner 3 (2): 203-211
- Gulfraz, M., M. Imran and S. A. Khaam. 2014. Comparative study of antimicrobial and antioxidant activities of garlic (Allium sativum L) extract in various localities in Pakistan. Africa Journal Plant Science 8(6):298–306.
- Hesti, Fajar U, .2015 Kualitas Daun Binahong (Anredera cordifolia) pada Suhu Pengeringan Berbeda. Jurnal Biologi 4 (2) : 51-59
- Kurniawan B., Wayan Ferly A., 2015. Binahong (Cassia Alata L.) as inhibitor of Escherichia coli growth. Medical Journal of Lampung University. 4 (4): 100-104
- Merino, L., Procura, F., Trejo, F.M., Bueno, D.J. and Golowczyc, M.A., 2019. *Biofilm formation by Salmonella sp. in the poultry industry: Detection, control and eradication strategies*. Food Research International, 119, pp.530-540.
- Mesy M., Linda, A., Violita, Moralita C. 2023. Karakteristik dan Fungsi Senyawa Alkaloid sebagai antifungi pada tumbuhan. Serambi Biologi.ppj.unp.ac.id vol.8 No.2 pp.231-236
- Pratiwi, R.H., 2017. Mekanisme pertahanan bakteri patogen terhadap antibiotik. Jurnal *Pro-Life*: Jurnal Pendidikan Biologi,

- Biologi, dan Ilmu Serumpun, 4(3), pp.418-429.
- Purwatiningsih, T. I., A. Rusae, dan Z. Freitas. 2019. *Uji in vitro antibakteri ekstrak bawang putih sebagai bahan alami untuk menghambat bakteri Staphylococcus aureus dan Escherichia coli*. Jurnal Sains Peternakan. 17(1):1-4.
- Pui C.F., Wong W.C., Chai L.C., Tunung R., Jeyaletchumi P., Noor H.M.N., Ubong A., Farinazleen M.G., Cheah Y.K. and Son R., A foodborne pathogen Int. Food Res J., 18(1):465-473
- Rafael A. et al. 2016. Antimicrobial susceptibility of Salmonells gallinarum and Salmonella pullorum isolated from ill poultry in Brazil. Journal Microbiology. 46(3):513-518
- Rachmawaty, D.U. 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol, Etil Asetat Dan Petroleum Rambut Jagung Manis (Zea Mays Ssaccharata Sturt) Terhadap Bakteri Bakteri Staphylococcus Aureus dan Escherichia Coli. Skripsi.Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Venila M., Fatimawali, Gerald R., 2020.
 Analisis Senyawa Tanin dan Aktifitas
 Antibakteri Fraksi Buah Sirih (Piper betle
 L.) terhadap Streptococcus mutans. Jurnal
 MIPA. Vol 9 (2) 75-80.
 https://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/jmu
 o/index
- Warbung Y. Y., V.N.S. Wowor dan J.Posangi.2013. Daya Hambat Ekstrak Spon Laut Callyspongia sp. terhadap Pertumbuhan Staphylococcus aureus. Ejurnal 1(2): 1-12 [https://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/egi gi/article/view/3151]
- Xinghua Li, et. al. 2018. Evaluation of genetic resistance to Salmonella pullorum in three chicken lines. Journal Puoltry Science 97: 764-769.