

UJI DAYA HAMBAT ANTIMIKROBA EKSTRAK ETANOL DAUN KITOLOD (*Larentialongflora*) TERHADAP PERTUMBUHAN *Pseudomonas aeruginosa*

TESTING THE ANTIMICROBIAL INHIBITION OF KITOLOD LEAF ETHANOL EXTRACT (*Laurentia Longiflora*) ON THE GROWTH OF *Pseudomonas aeruginosa*

Adhitama Asmal¹, Indah Purnamasari Parinding², Hermansyah³

¹ Prodi S1 Ilmu Farmasi STIKES Bhakti Pertiwi Luwu Raya Palopo

E-mail: asmaladhitama33@yahoo.com, indahparinding@gmail.com, hermansyah971@yahoo.co.id

ABSTRAK

Dilakukan penelitian tentang uji daya hambat ekstrak etanol Daun Kitolod (*Laurentia longflora*) terhadap pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa*. Penelitian ini bertujuan menentukan aktivitas antibakteri dari ekstrak daun kitolod (*Laurentia longiflora*) dengan menggunakan metode lempeng (difusi agar), menggunakan medium Nutrien Agar (NA) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Pertama sampel daun kitolod diekstraksi dengan metode meserasi selama 5 hari, berat ekstrak yang diperoleh adalah 2,1 gr. Untuk pengujian daya hambat ekstrak yang diperoleh dibuat 3 variasi konsentrasi yaitu 10%, 20% dan 30% serta amoxicillin sebagai kontrol positif pada medium Nutrien Agar (NA) yang diinkubasikan selama 24 jam dengan suhu 37°C. Hasil pengujian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol Daun Kitolod (*Laurentialongflora*) dapat menghambat pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* dengan rata-rata diameter hambatan konsentrasi 10% adalah 10 mm, konsentrasi 20% adalah 12,33 mm, konsentrasi 30% adalah 14,33 mm dan diameter hambatan rata-rata terbesar dihasilkan oleh kontrol positif (amoxicillin) adalah 20 mm. Hasil analisis statistik dengan metode Analisis of Varian (ANOVA) yang dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dan juga hasil analisa data menggunakan SPSS versi 22 menunjukkan perbedaan efek yang nyata antara kontrol positif amoxicillin dengan ekstrak daun kitolod dengan konsentrasi 10 %, 20 %, 30%. Berdasarkan hasil penelitian ini, maka disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun kitolod (*Laurentia longiflora*) memiliki daya hambat sebagai antimikroba terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* namun tidak seefektif penghambatan amoxicillin (kontrol +).

Kata kunci: Ekstrak, DaunKitolod, *Pseudomonas aeruginosa*, Antimikroba

ABSTRACT

Research was conducted on the inhibitory power test of Kitolod Leaf (*Laurentia longflora*) ethanol extract on the growth of *Pseudomonas aeruginosa*. This study aims to determine the antibacterial activity of kitolod (*Laurentia longiflora*) leaf extract using the plate method (agar diffusion), using Nutrient Agar (NA) medium against *Pseudomonas aeruginosa* bacteria. First, the kitolod leaf sample was extracted using the meseration method for 5 days, the weight of the extract obtained was 2.1 grams. To test the inhibitory power of the extract obtained, 3 variations of concentration were made, namely 10%, 20% and 30% and amoxicillin as a positive control on Nutrient Agar (NA) medium which was incubated for 24 hours at 370C. The results of this test show that the ethanol extract of Kitolod leaves (*Laurentialongflora*) can inhibit the growth of *Pseudomonas aeruginosa* with the average diameter of the 10% concentration being 10 mm, the 20% concentration being 12.33 mm, the 30% concentration being 14.33 mm and the average diameter of the barrier being The largest average produced by the positive control (amoxicillin) was 20 mm. The results of statistical analysis using the Analysis of Variant (ANOVA) method followed by the Least Significant Difference (BNT) test and also the results of data analysis using SPSS version 22 showed a real difference in effect between the positive control amoxicillin and kitolod leaf extract with concentrations of 10%, 20%, 30%. Based on the results of this research, it was concluded that the ethanol extract of kitolod leaves (*Laurentia longiflora*) has antimicrobial inhibitory power against *Pseudomonas aeruginosa* bacteria but is not as effective as inhibiting amoxicillin (control +).

Key words: Extract, Kitolod Leaf, *Pseudomonas aeruginosa*, Antimicrobial.

© 2024 Jurnal Kesehatan Luwu Raya

✉ Correspondence Address:

LP2M STIKes Bhakti Pertiwi Luwu Raya, Kota Palopo Indonesia

Email: lp2mstikesluwuraya@gmail.com

DOI: -

P-ISSN : 2356-198X

E-ISSN : 2747-2655

PENDAHULUAN

Perkembangan ilmu pengetahuan tentang tanaman obat di Indonesia berawal dari pengetahuan tentang adanya tumbuhan asli Indonesia yang sudah sejak dahulu digunakan untuk obat di wilayah atau suku tertentu dan kemudian dikenal sebagai tanaman obat tradisional Indonesia. Masyarakat Indonesia sejak dahulu telah menggunakan tanaman obat tradisional secara turun temurun dikarenakan lebih ekonomis, efek samping minimal, dan dapat diracik sendiri di rumah. Selain itu, tanaman obat mudah didapat karena bisa ditanam di pekarangan rumah atau di kebun dan cara penanaman, perawatan tanaman obat tergolong sangat mudah.(Wijayakusuma,2008).

Salah satu tanaman yang berkhasiat sebagai alternatif pengobatan di Indonesia dan telah digunakan oleh masyarakat Indonesia adalah Kitolod. Kitolod (*Laurentia longiflora*) merupakan tanaman yang berasal dari benua Amerika yakni bagian Amerika Selatan. Bagian tanaman kitolod (*Laurentia longiflora*) yang bermanfaat untuk pengobatan gangguan mata yaitu daun dan bunga. Kitolod (*Laurentia longiflora*) banyak di manfaatkan sebagai obat tradisional khususnya oleh masyarakat Jawa Barat dan Jawa Tengah untuk mengobati gangguan mata, seperti mata gatal, mata merah, bahkan untuk pengobatan katarak (Plantamor, 2012). Penelitian sebelumnya mengenai pengaruh ekstrak daun dan bunga kitolod sebagai antibakteri pada penyakit konjungtivitas menunjukkan hasil positif, dimana daun dan bunga kitolod (*Laurentia longiflora*) mempunyai efek terhadap tikus putih jantan yang diinduksi dengan Methyl Nitroso Urea (MNU) untuk menghasilkan katarak. (Lee, 2010)

Pseudomonas aeruginosa merupakan patogen utama bagi manusia. Bakteri ini kadang-kadang mengkoloni pada manusia dan menimbulkan infeksi apabila fungsi pertahanan inang abnormal. Oleh karena itu, *P.aeruginosa* disebut patogen oportunistik, yaitu

memanfaatkan kerusakan pada mekanisme pertahanan inang untuk memulai suatu infeksi. Dilihat dari cara kerjanya bakteri *P.aeruginosa* ini dapat menyerang hampir setiap jaringan atau lokasi tuuh salah satunya adalah mata. Infeksi mata, *Pseudomonas* bisa menyebabkan koreng pada mata, mencemari lensa mata dan cairan lensa. (Boel,Trelia,2011)

Untuk menetapkan suatu potensi antibakteri secara mikrobiologik dilakukan dengan pengujian potensi antibakteri untuk mengukur efek senyawa tersebut terhadap pertumbuhan mikroorganisme uji yang peka dan sesuai. Efek yang ditimbulkan pada senyawa uji dapat berupa hambatan pertumbuhan. Dengan memperhatikan latar belakang masalah di atas, dapat dirumuskan masalah penelitian sebagai berikut: Apakah ekstrak daun kitolod (*Laurentia longiflora*) memiliki efek antibakteri? dengan tujuan penelitian menentukan aktivitas antibakteri dari ekstrak daun kitolod (*Laurentia longiflora*) dengan menggunakan metode lempeng (difusi agar), menggunakan medium Nutrien Agar (NA) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

TINJAUAN PUSTAKA

Klasifikasi Kitolod (*Laurentia longiflora*) Kitolod merupakan terna tegak dengan tinggi mencapai 60 cm, bercabang dari pangkalnya, serta bergetah putih yang rasanya tajam dan mengandung racun. Daun tunggal, berbentuk lanset, permukaan kasar, ujung runcing, pangkal menyempit, tepi melekuk ke dalam, bergigi sampai melekuk menyirip, panjang 5-17 cm, lebar 2-3 cm, dan berwarna hijau. Bunga tunggal, muncul tegak dari ketiak daun, bertangkai panjang, mahkota berbentuk bintang, dan berwarna putih. Buah kotak berbentuk lonceng, merunduk, merekah menjadi dua ruang, dan berbiji banyak (Plantamor,2012).

Kingdom : Plantae (tumbuhan)

Subkingdom : Tracheobionta (berpembuluh)

Superdivisio	:	Spermatophyta
(menghasilkan biji)		
Divisio	:	Magnoliophyta (berbunga)
Kelas	:	Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)
Sub-kelas	:	Asteridae
Ordo	:	Laurentiales
Familia	:	Lobeliaceae
Genus	:	Laurentia
Spesies	:	Laurentia longiflora (L.) (Peterm Lasmadiwati, E, 2003)

Tanaman ini juga dikenal dengan nama daerah Ki Tolod, daun Tolod, Jarojet (Sunda); Kendali, Sangkobak (Jawa); Bunga bintang. Nama asingnya Melksterretje, Ster van Bethlehem, Mort a cabri, Quebec; Star of bethelem (Inggris); Lidah payau (Melayu). (Kirana Rahardja, 2010)

Kandungan Kimia kitolod (Laurentia longiflora) Tumbuhan ini kaya dengan senyawa alkaloid yaitu lobelin, lobelamin dan isotomin. Daunnya mengandung alkaloid, saponin, flavonoid dan polifenol (Plantamor,2012). **Senyawa Flavonoid** ialah polifenol yang menjadi 15 atom karbon dalam inti dasarnya, yang tersusun dalam konfigurasi C6-C3-C6 yaitu dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh tiga atom karbon yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin ketiga (Markham, 1988). Banyak senyawa dari golongan ini mudah larut air, terutama bentuk glikosidanya, dan oleh karena itu senyawa ini berada dalam ekstrak air tumbuhan. Flavonoid berupa senyawa fenol, karena itu warnanya berubah bila ditambah basa atau ammonia. Flavonoid bagi tumbuhan berperan dalam pembentukan pigmen bunga, sistem pertahanan terhadap serangga dan pengatur tumbuh (Gunawan, D., and Mulyani, S., 2004). **Alkaloid** merupakan golongan zat tumbuhan sekunder yang

terbesar. Pada umumnya alkaloid mencangkap senyawa yang bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen, biasanya dalam gabungan, sebagai bagian dari sistem siklik. Alkaloid sering sekali beracun bagi manusia dan banyak mempunyai kegiatan fisiologi yang menonjol, jadi digunakan secara luas dalam bidang pengobatan. Prazat alkaloid yang paling umum adalah asam amino. Secara kimia alkaloid merupakan suatu golongan heterogen. Fungsi alkaloid dalam tumbuhan masih sangat kabur, meskipun masin-masing senyawa telah dinyatakan terlibat sebagai pengatur tumbuh, atau penghalau atau penarik serangga (Aziz, 2010). **Saponin** ialah senyawa aktif permukaan yang kuat yang dapat menimbulkan busa jika dikocok dalam air dan pada konsentrasi yang rendah sering menyebabkan hemolisis sel darah merah. Pada larutan yang sangat encer, saponin sangat beracun untuk ikan. Pada beberapa tahun terakhir ini saponin tertentu menjadi penting, karena dapat diperoleh dari beberapa tumbuhan dengan hasil yang baik dan digunakan sebagai bahan baku untuk sintesis hormon steroid yang digunakan dalam bidang kesehatan. Beberapa saponin bekerja sebagai antimikroba dan diantara banyak efek yang dilaporkan, efek yang ditunjang dengan baik oleh bukti ialah penghambatan jalur ke steroid anak ginjal, tetapi senyawa ini menghambat juga dehidrogenase jalur prostaglandin. Saponin juga dapat menurunkan kolesterol, dan mempunyai sifat sebagai antioksidan, antivirus dan anti karsinogenik dan manipulator fermentasi rumen (Aziz, 2010).

Manfaat daun Kitolod dipergunakan untuk mengatasi gangguan mata. Hal ini dapat dilihat dari kandungan kimia di dalamnya, yaitu senyawa alkaloid yakni lobelin, lobelamin dan isotomin. Daunnya mengandung alkaloid, saponin, flavonoid, dan polifenol. Getah tanaman mengandung racun, tetapi bagian tanaman lain memiliki efek antiradang (antiflamasi), antikanker

(antineoplasmik), menghilangkan nyeri dan menghentikan pendarahan. Selain itu Ki Tolod juga berkhasiat mengobati sakit gigi, asma, bronchitis, radang tenggorokan, katarak, obat luka, obat tetes mata dan obat kanker (Lasmadiwati, E, 2003).

Uraian Simplisia, Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dinyatakan lain simplisia merupakan bahan yang dikeringkan.

Untuk menjamin keseragaman senyawa aktif, keamanan maupun kegunaannya, maka simplisia harus memenuhi persyaratan minimal, dan untuk dapat memenuhi syarat minimal itu, ada beberapa faktor yang berpengaruh, antara lain adalah: bahan baku simplisia, proses pembuatan simplisia termasuk cara penyimpanan bahan baku simplisia, dan cara pengepakan dan penyimpanan simplisia.

Pemilihan sumber tanaman obat sebagai bahan baku simplisia nabati merupakan salah satu faktor yang sangat berpengaruh pada mutu simplisia, termasuk di dalamnya pemilihan bibit (untuk tumbuhan hasil budidaya) dan pengolahan maupun jenis tahan tempat tumbuh tanaman obat .

Pembuatan simplisia secara umum dapat menggunakan cara-cara sebagai berikut: pengeringan, fermentasi, proses khusus (penyulingan, pengentalan eksudat dll), dan dengan bantuan air (misalnya pada pembuatan pati) .

Tahapan pembuatan simplisia Pengumpulan bahan baku Kadar senyawa aktif dalam suatu simplisia berbeda-beda antara lain tergantung pada: bagian tanaman yang digunakan, umur tanaman atau bagian tanaman pada saat panen, waktu panen, lingkungan tempat tumbuh dan sortasi basah.

Sortasi basah dilakukan untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing lainnya dari bahan simplisia. Misalnya pada

simplisia yang dibuat dari akar suatu tanaman obat, bahan-bahan asing seperti tanah, kerikil, rumput, batang, daun, akar yang telah rusak serta pengotor-pengotor lainnya yang harus dibuang. *Pencucian* dilakukan untuk menghilangkan tanah dan pengotor lainnya yang melekat pada bahan simplisia. Pencucian dilakukan dengan air bersih yang mengalir. *Perajangan* Beberapa jenis bahan simplisia tertentu ada yang memerlukan proses perajangan. Perajangan bahan simplisia dilakukan untuk mempermudah proses pengeringan, pengepakan dan penggilingan. *Pengeringan* Tujuan pengeringan adalah untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu lama. *Sortasi kering* Tujuan sortasi untuk memisahkan benda-benda asing dan pengotor-pengotor lain yang masih ada dan tertinggal pada simplisia kering. *Pengepakan dan penyimpanan Simplisia* dapat rusak, mundur atau berubah mutunya karena faktor luar dan dalam, antara lain cahaya, oksigen, reaksi kimia intern, dehidrasi, penyerapan air, pengotoran, serangga dan kapang. **Maserasi** Ekstraksi yakni dengan penarikan zat pokok yang diinginkan dari bahan mentah obat dengan menggunakan pelarut yang dipilih di mana zat yang diinginkan larut. Ekstrak adalah sediaan yang dapat berupa sediaan yang dapat berupa sediaan kering, kental dan cair, dibuat dengan menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang sesuai, yaitu maserasi, perkolasii, atau penyeduhan dengan air mendidih. Dalam uji ini teknik penyarian yang digunakan adalah proses penyarian sederhana yaitu maserasi-remerasi. Maserasi merupakan metode penyarian sederhana. Maserasi digunakan untuk penyarian simplisia yang mengandung zat aktif yang mudah larut dalam cairan penyari, tidak zat yang mudah mengembang dalam cairan penyari, tidak mengandung benzoin, stirak dan lain-lain. Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah cara pengeraaan dan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan. Sedangkan kerugian cara maserasi adalah pengeraannya lama dan

penyariannya kurang sempurna. Remaserasi dilakukan pengulangan dengan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama (ampas) dan seterusnya. Cairan penyari yang dipilih harus mempertimbangkan banyak faktor yaitu harus memenuhi kriteria-kriteria yang ada, antara lain: murah dan mudah didapat, stabil secara fisika dan kimia, bereaksi netral, tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar, selektif yaitu hanya menarik zat-zat berkhasiat yang dikehendaki dan tidak mempengaruhi zat berkhasiat.

Morfologi *Pseudomonas aeruginosa* berbentuk batang dengan ukuran sekitar $0,6 \times 2$ μm . Bakteri ini terlihat sebagai bakteri tunggal, berpasangan, dan terkadang membentuk rantai yang pendek. *Pseudomonas aeruginosa* termasuk bakteri gram negatif. Bakteri ini bersifat aerob, katalase positif, oksidase positif, tidak mampu memfermentasi tetapi dapat mengoksidasi glukosa/karbohidrat lain, tidak berspora, tidak mempunyai selubung (sheat) dan mempunyai flagel monotrika (flagel tunggal pada kutub) sehingga selalu bergerak. Bakteri ini dapat tumbuh di air suling dan akan tumbuh dengan baik dengan adanya unsur N dan C. Suhu optimum untuk pertumbuhan *P. aeruginosa* adalah 42°C . *Pseudomonas aeruginosa* mudah tumbuh pada berbagai media pembiakan karena kebutuhan nutrisinya sangat sederhana. Di laboratorium, medium paling sederhana untuk pertumbuhannya digunakan asetat (sumber karbon) dan ammonium sulfat (sumber nitrogen). Klasifikasi

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gamma Proteobacteria
Ordo	: Pseudomonadales
Family	: Pseudomonadaceae
Genus	: <i>Pseudomonas</i>
Species	: <i>Pseudomonas aeruginosa</i>

Pseudomonas aeruginosa menimbulkan berbagai penyakit diantaranya yaitu : Infeksi pada luka dan luka bakar menimbulkan nanah hijau kebiruan, Infeksi saluran kemih, Infeksi pada saluran napas mengakibatkan pneumonia yang disertai nekrosis, Otitis eksterna ringan pada perenang Infeksi mata.

Uji potensi antibakteri dan vitamin secara mikrobiologik adalah suatu teknik untuk menetapkan potensi suatu antibakteri atau vitamin dengan mengukur efek senyawa tersebut terhadap pertumbuhan mikroorganisme uji yang peka dan sesuai. Efek yang ditimbulkan pada senyawa uji dapat berupa hambatan pertumbuhan (kalau antibakteri) dan rangsangan pertumbuhan (kalau vitamin). Terdapat dua cara yang umum digunakan dalam uji potensi secara mikrobiologik yaitu (1) metode lempeng atau difusi agar (2) metode tabung atau turbidimetri.

Pada pengujian potensi suatu antibakteri dengan difusi agar, berarti metode ini menggunakan media padat, yang pada permukaannya telah diinokulasikan mikroorganisme uji yang sensitif terhadap antibakteria yang secara merata. Pencadang atau reservoir diletakkan pada permukaan media tersebut dan selanjutnya dipipet senyawa antibakteri yang akan diuji kedalam pencadang dengan volume tertentu. Selama masa inkubasi akan terjadi proses difusi antibakteria ke dalam gel agar dan membentuk daerah hambatan (zone). Zone yang terbentuk inilah yang digunakan sebagai dasar kuantitatif untuk membandingkan potensi antibakteria baku.

Sedangkan pada pengujian atau penetapan secara tabung atau turbidimetri, media yang digunakan adalah media cair yang diinokulasikan dengan mikroorganisme uji yang sensitif dalam tabung-tabung reaksi steril. Selanjutnya dipipet senyawa antibakteria yang diuji dan kemudian diinkubasikan. Pertumbuhan mikroorganisme ditandai dengan terjadinya kekeruhan dalam tabung sesuai dengan tingkat pengenceran dari senyawa yang

diuji dan antibakteria baku. Kekeruhan media setelah masa inkubasi tadi dinyatakan sebagai kerapatan optik media tersebut, tergantung pada kadar larutan senyawa yang diuji di dalam tabung, berbanding terbalik apabila senyawa tersebut adalah antibakteria, sedangkan pada vitamin akan berbanding lurus. (Djide.M.N, 2003)

Metode Difusi adalah proses perpindahan molekul secara acak dari satu posisi ke posisi lain. Pada difusi tersebut, yang perlu diperhatikan adalah dosis, kecepatan dan energi kinetik dari proses tersebut. Beberapa modifikasi metode ini adalah :

1. Cara difusi dengan silinder pipih

Cara ini didasarkan atas perbandingan antara luas daerah hambatan yang dibentuk larutan contoh terhadap tumbuhan mikroba dengan daerah hambatan yang terjadi oleh larutan pembanding.

2. Cara difusi dengan mangkuk pipih

Cara ini sama dengan silinder pipih namun perbedaannya disini menggunakan lubang yang dibuat langsung dari medium.

3. Cara difusi dengan kertas saring

Cara ini menggunakan kertas saring yang dibuat dengan bentuk dan ukuran tertentu, biasanya dengan garis tengah 0,7 - 1 cm yang nantinya akan dicelupkan kedalam larutan contoh dan larutan pembanding. Pengamatan dilakukan dengan masa setelah inkubasi dengan melihat daerah hambatan yang terbentuk

4. Cara difusi Kirby-Bauer

Cara ini menggunakan alat untuk meletakkan kertas saring dan cawan Petri yang digunakan berukuran 150 x 15 mm sehingga langsung dapat diuji dengan berbagai konsentrasi larutan contoh.

5. Cara difusi agar berlapis

Cara ini merupakan modifikasi cara Kirby-Bauer. Perbedaannya pada cara ini menggunakan dua lapis agar, lapisan pertama (base layer) tidak mengandung mikroba sedangkan lapisan kedua (seed layer) mengandung mikroba. B.Metode Lempeng Bujur Sangkar

Cara ini dapat dilakukan pada laboratorium yang lengkap, karena digunakan lempeng yang terbuka, sehingga harus dihindari kontaminasi dari bakteri dari sekitarnya terhadap inokulum dalam lempeng. Hal ini dapat diatasi dengan pemasangan penyaring udara (laminar air flow), udara disterilkan dan aliran secara horizontal atau vertikal pada lempeng bujur sangkar adalah (1) ketebalan medium lebih homogen, (2) kondisi lingkungan yang mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme yang digunakan pada penetapan potensi akan sama, sehingga efek yang diamati hanya semata-mata yang disebabkan oleh jumlah dosis antibakteria yang diuji.

Metode Lempeng pada Cawan Petri

Cara ini dapat dilakukan pada laboratorium yang sederhana, keuntungannya adalah dengan menggunakan beberapa cawan petri untuk menempatkan inokulum, maka kemungkinan kontaminasi akan lebih kecil dibandingkan dengan menggunakan metode bujur sangkar. Disamping itu juga ada kerugian antara lain : dengan adanya variasi inokulum dalam beberapa cawan petri, maka kondisi tiap cawan petri akan berlainan.

Pencadang atau Reservoir

Sebagai pencadang pada lempeng digunakan silinder dari kaca, logam tahan karat, silinder kapiler, merjan tulang ikan, cetak lubang (punche hole), cakram kertas (paper disc), yang masing – masing mempunyai keuntungan dan kerugian. Pencadang tersebut mempunyai ukuran diameter luar 8 mm, diameter dalam 6 mm dan tinggi 10 mm.

Metode Turbidimetri (Metode dilusi)

Prinsip pengujian potensi antibakteria dengan metode ini adalah membandingkan derajat hambatan pertumbuhan mikroorganisme uji oleh dosis antibakteria yang diuji terhadap hambatan yang sama oleh dosis antibakteria baku pembanding dalam media cair.

Dalam metode ini, koefisien difusi antibakteria tidak lagi berperan dalam hambatan pertumbuhan mikroorganisme uji yang digunakan. Yang mempengaruhi keberhasilan uji potensi dengan metode ini adalah lama waktu inkubasi dan keseragaman suhu selama waktu inkubasi. Kurva hubungan dosis respon akan menghasilkan rentang dosis yang dibatasi oleh waktu inkubasi, karena apabila sudah mencapai waktu pertumbuhan yang optimum, dosis dosis larutan yang berbeda – beda tidak akan mempengaruhi kekeruhan media lagi.

BAHAN DAN METODE

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksperimen. Objek dari penelitian ini yaitu potensi antibakteri dari ekstrak daun kitolod (*Laurentia longiflora*) yang diambil di Palopo Sampel yang digunakan adalah ekstrak daun kitolod (*Laurentia longiflora*) yang diambil secara acak sederhana. Alat – alat yang digunakan adalah botol pengenceran, cawan petri, erlenmeyer, hand sprayer, inkubator, jangka sorong, labu takar, lampu spiritus, autoklaf, oven, pencadang, pinset, rak tabung, spoit 1 ml, 3 ml dan 5 ml dan tabung reaksi. Bahan yang digunakan adalah aluminium foil, amoxicillin tablet, aquadest steril, biakan *Pseudomonas aeruginosa*, paper disk, kapas, medium na (nutrien agar), sampel ekstrak daun kitolod (*Laurentia longiflora*) dan etanol. **Cara Kerja** Penyiapan Simplisia Daun kitolod (*Laurentia longiflora*) yang diambil di daerah Mandetek, Makale Tana Toraja, yang diambil daun yang masih berwarna hijau, pengambilan sampel dilakukan pada waktu pagi hari sebelum tanaman melakukan fotosintesis. Setelah dipetik, daun di sortir dan direndam dalam air untuk menghilangkan kotoran dan debu yang menempel, kemudian dibilas hingga

bersih dan ditiriskan. Selanjutnya daun dirajang dengan pisau yang tajam, steril dan bersih dengan lebar irisan 1 cm. Lalu dikeringkan daun kitolod dengan cara diangin-anginkan. Rajangan yang diperoleh lalu diekstraksi dengan metode maserasi.



Pembuatan ekstraksi **Ekstraksi** Adapun cara kerja ekstraksi dengan metode maserasi adalah 200 g simplisia daun kitolod dimasukan ke dalam toples kaca, lalu ditambah dengan penyari etanol sebanyak 2 liter dan diaduk. Maserasi dilakukan selama 5 hari dalam toples kaca tertutup dan dilakukan pengadukan setiap hari (pengadukan selama 30 menit setiap hari pada jam yang sama selama 5 hari). Maserat yang diperoleh, lalu disaring dan maserat diendapkan selama 2 hari. Kemudian maserat dipisahkan dari endapan dengan hati-hati. Maserat diuapkan dalam cawan porselein di atas penangas air lalu diperoleh ekstrak kental dan ditimbang.



Sterilisasi Alat Semua alat yang digunakan melalui tahap sterilisasi yang bertujuan mematikan semua bentuk kehidupan mikroorganisme yang ada pada alat. Khusus alat-alat dari gelas disterilkan dalam oven pada suhu 170°C selama 2 jam sedangkan alat ose dan pinset disterilkan dengan cara pemijaran di atas api spiritus. Alat yang mempunyai ukuran atau berskala disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Pembuatan Media Nutrien Agar (NA) PH 7,0 ± 0,2 pada 25°C

Kadar 20,0 gram/liter

Komposisi :

Pepton from meat	5,0 gram
Meat extract	3,0 gram
Agar	12,0 gram
Air suling ad	1000 ml

Cara pembuatan :

Ditimbang 2 gram Nutrien Agar (NA), kemudian dimasukkan dalam Erlenmeyer, dilarutkan dengan aquadest hingga 100 ml, setelah itu dimasak sampai mendidih, lalu disterilkan dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C.

Penyiapan Bakteri

Peremajaan bakteri uji

Bakteri uji *Pseudomonas aeruginosa* yang berasal dari biakan murni diambil satu ose dan diinokulasikan dengan cara digoreskan pada medium NA miring kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam.

Pembuatan suspensi bakteri uji

Bakteri uji yang telah diremajakan diambil sebanyak satu ose lalu disuspensikan dengan 10 ml larutan garam fisiologis NaCl 0,9% steril lalu dihomogenkan.

Pembuatan Carboxyl Metyl Celulosa (CMC) Kekentalan larutan 1 g dalam 50 ml air Kekentalan timbang seksama 1 g zat yang telah dikeringkan, tambahkan sedikit demi sedikit 40 ml air panas dalam labu mulut lebar yang telah ditara, aduk cepat hingga basah, dinginkan

tambahkan air secukupnya hingga 50 ml, biarkan mendispersi sempurna sambil sekali – sekali diaduk. Ukur kekentalan pada suhu 25°C.

Pengenceran Sampel Ditimbang ekstrak daun kitolod sebanyak 2,1 g kedalam cawan porselin kemudian ditambahkan Carboxyl Metil Celulose (CMC) 7 ml diaduk hingga homogen (30%), kemudian diambil 2 ml dari 7 ml dan ditambahkan dengan CMC 1 ml diaduk hingga homogen (20%), diambil kembali 1 ml dari sisa pengenceran ekstrak daun kitolod kemudian ditambahkan dengan CMC 2 ml diaduk hingga homogen (10%). Pengujian Daya Hambat antiMikroba Medium Nutrien Agar dituang secara aseptik kedalam cawan petri steril sebanyak 10 ml biarkan memadat. Kemudian diolesi suspensi bakteri supaya bakteri terdistribusi secara merata. Kemudian paperdisc dicelupkan kedalam masing-masing larutan sampel uji ekstrak kitolod dengan konsentrasi 10%, 20%, 30% dan kontrol positif. Paperdisc yang telah direndam ke dalam masing-masing sampel uji diletakkan pada permukaan media yang telah memadat secara aseptis dengan menggunakan pinset steril dengan jarak 2-3 cm dari pinggir cawan petri kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam. Daerah hambatan yang terbentuk diukur dengan mistar. Perlakuan ini dilakukan sebanyak 3 kali dan diambil rata-ratanya. Cara Analisis Hasil pengamatan dan pengolahan data dilakukan dengan mengamati setelah masa inkubasi 1 x 24 jam, diukur daerah hambatan dengan jangka sorong lalu dianalisis dengan metode ANOVA (analysis of variance) yang kemudian dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil dan juga hasil analisa data menggunakan IBM SPSS

HASIL PENELITIAN

Hasil penelitian ini berupa pengukuran diameter zona hambatan Ekstrak daun kitolod (*Laurentia longiflora*) terhadap pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* dengan masa inkubasi selama 1 x 24 jam pada suhu 37 °C . Hasil

selengkapnya dapat dilihat pada tabel pengukuran diameter hambatan (mm).

Data diperoleh berdasarkan hasil wawancara langsung kepada responden. Data yang diperoleh kemudian diolah dan disajikan dalam bentuk tabel distribusi dan presentase kemudian dijelaskan dalam bentuk tabel analisis. Adapun hasil penelitian diuraikan sebagai berikut:

Berat Simplisia	Berat Ekstrak
300 gram	2,1 gram

Perhitungan % rendamen

$$= \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat simplisia}} \times 100 \%$$

$$= \frac{2,1 \text{ gr}}{300 \text{ gr}} \times 100 \% = 0,7 \%$$



Hasil pengukuran diameter hambatan Ekstrak Daun kitolod (*Laurentia longiflora*) terhadap pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa*.

Replika si	Diameter zona hambatan (mm)			
	Konsentrasi 10 %	Konsentrasi 20%	Konsentrasi 30%	Kontrol positif (Amoxicillin) 30 ppm
1	10	12	15	22
2	10	13	14	19
3	10	12	14	19
Rata-rata	10	12,33	14,33	20

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini dilakukan uji daya hambat ekstrak daun kitolod terhadap pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* menggunakan metode difusi agar. Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstrak daun kitolod pada tumbuhan kitolod (*Laurentia longiflora*) yang diperoleh dari daerah Mandetek, Makale Tana Toraja. Sampel daun diambil pada pagi hari sebelum tumbuhan melakukan fotosintesis pada saat itu penumpukan senyawa aktif dalam kondisi tinggi sehingga mempunyai mutu yang terbaik. Sampel terlebih dahulu di sortasi basah tujuan dari sortasi basah ini yaitu untuk memisahkan dari daun yang layu atau kering dan membuang kotoran tanah atau kerikil yang masih menempel pada sampel. Kemudian daun dicuci sampai bersih untuk membersihkan sampel dari kotoran yang melekat lalu kemudian daun dirajang dengan pisau. Setelah proses perajangan selesai masuk ke tahap pengeringan dengan cara diangin-anginkan tidak langsung dijemur di bawah matahari, alasan daun tidak langsung dijemur dibawah terik matahari untuk menghindari daun menjadi kering atau layu. Setelah kering sampel tersebut di sortasi kering, hal ini bertujuan untuk membersihkan debu pada sampel atau sampel yang rusak.

Selanjutnya dilakukan ekstraksi, ekstraksi adalah suatu proses penyarian penarikan senyawa kimia yang terdapat didalam bahan alam atau berasal dari dalam sel dengan menggunakan pelarut dan metode yang tepat, tujuan dari proses ekstraksi adalah untuk menarik komponen kimia yang terkandung dalam sampel, metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah meserasi. Merasasi merupakan metode penyarian sederhana. Merasasi digunakan untuk penyarian simplisia yang mengandung zat

aktif yang mudah larut dalam cairan penyari, zat yang mudah mengembang dalam cairan penyari, tidak mengandung benzoin, stirak dan lain-lain. Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah cara pengerjaan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan.

Metode meserasi dilakukan pada penelitian ini karena daun kitolod (*Laurentia longiflora*) memiliki tekstur yang tidak keras. Penggunaan etanol sebagai pelarut adalah karena etanol merupakan pelarut yang dapat menarik komponen-komponen kimia baik yang bersifat polar maupun non polar secara sempurna. Proses meserasi 300 gram daun kitolod (*Laurentia longiflora*) dilakukan selama 5 hari dan ekstrak yang diperoleh kemudian diangin-anginkan selama beberapa hari sampai di dapatkan ekstrak kental.

Ekstrak kental yang diperoleh selanjutnya diuji daya hambatnya dengan metode difusi agar. Uji potensi secara mikrobiologik adalah suatu teknik untuk menetapkan potensi suatu antibakteri atau vitamin dengan mengukur efek senyawa tersebut terhadap pertumbuhan mikroorganisme uji yang peka dan sesuai. Pada pengujian potensi suatu antibakteri dengan difusi agar, berarti metode ini menggunakan media padat, yang pada permukaannya telah diinokulasikan mikroorganisme uji yang sensitif terhadap antibakteria yang secara merata. Pencadang atau reservoir diletakkan pada permukaan media tersebut dan selanjutnya dipipet senyawa antibakteri yang akan diuji kedalam pencadang dengan volume tertentu. Selama masa inkubasi akan terjadi proses difusi antibakteria ke dalam gel agar dan membentuk daerah hambatan (zone). Zone yang terbentuk inilah yang digunakan sebagai dasar kuantitatif untuk membandingkan potensi antibakteria baku.

Langkah-langkah yang harus dikerjakan sebelum melakukan pengujian daya hambat kali ini adalah dimulai dari mensterilisasikan semua alat yang akan digunakan. Yang dimaksud dengan sterilisasi dalam mikrobiologi ialah suatu proses untuk mematikan semua organism yang terdapat pada atau didalam suatu benda.

Langkah pertama dengan cara mencucinya terlebih dahulu setelah itu membungkusnya dengan koran atau kertas kemudian dimasukkan kedalam oven dengan suhu 1600 C – 1800 C selama 2 jam. Sterilisasi alat ini dilakukan dengan alasan agar semua alat yang akan dipakai dalam pengujian benar-benar steril dan bersih dari kotoran maupun bakteri.

Setelah semua alat yang akan digunakan steril, lanjut ke tahap pembuatan medium. Medium yang digunakan pada penelitian ini adalah medium Nutrien Agar (NA). Nutrien Agar (NA) merupakan suatu medium yang berbentuk padat, yang merupakan perpaduan bahan alamiah dan senyawa-senyawa kimia.

Tahapan selanjutnya ada proses peremajaan bakteri, proses ini merupakan pekerjaan memindahkan bakteri dari medium yang lama ke medium yang baru dengan tingkat ketelitian yang sangat tinggi, hal ini agar menghindari terjadinya kontaminasi. Alasan dilakukannya proses ini untuk mengadaptasikan bakteri uji ke medium baru dan menumbuhkannya dari medium yang lama ke medium yang baru. Setelah proses peremajaan dilakukan, masuk ke dalam tahap pengenceran sampel yang akan di uji, proses ini merupakan proses yang dilakukan untuk menurunkan atau memperkecil konsentrasi larutan dengan menambah zat pelarut kedalam larutan sehingga volume larutan menjadi berubah. Proses ini dilakukan dengan alasan untuk melihat perbandingan diameter hambatan yang dihasilkan oleh setiap konsentrasi untuk di bandingkan dengan sediaan pembanding .

Dalam proses pengujian daya hambat antimikroba dengan metode difusi agar hal yang harus dilakukan adalah pertama pembuatan lapisan yang tidak mengandung mikroba (base layer) dan lapisan yang mengandung mikroba (seed layer). Lapisan yang tidak mengandung mikroba (base layer) dalam penelitian ini adalah paper disc yang telah direndam ekstrak kental daun kitolod dengan konsentrasi 10%, 20% dan 30%. Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah Amoxicillin tablet 500 mg

yang telah diencerkan menjadi 300 ppm, alasan dipilih tablet amoxicillin sebagai kontrol positif karena dilihat dari cara kerja obat tersebut adalah memiliki kemampuan berspektrum luas yaitu dapat membunuh bakteri gram positif dan gram negatif. Dan lapisan kedua atau yang mengandung mikroba (seed layer) adalah medium agar (NA) yang telah ditumbuhki bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

Hasil pengukuran diameter zona hambatan memperlihatkan bahwa Ekstrak Daun kitolod (*Laurentia longiflora*) dengan konsentrasi 10%, 20% dan 30% terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dengan masa inkubasi 24 jam menunjukkan bahwa disekitar piper disk yang berisi ekstrak daun kitolod menghasilkan daerah bening. Hal ini berarti bahwa ekstrak daun kitolod (*Laurentia longiflora*) mengandung senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa*.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa zona hambat rata-rata yang terbentuk dari ekstrak daun kitolod dengan konsentrasi 10% adalah 10 mm, 20% diperoleh 12,33 mm, dan 30% diperoleh 14,33 mm dan amoxicillin sebagai kontrol positif diperoleh 20 mm.

Dari data hasil pengujian juga dapat diketahui bahwa ekstrak daun kitolod dengan konsentrasi 10%, 20% dan 30% memiliki efek antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* namun tidak seefektif amoxicillin karena memiliki perbedaan yang besar dengan diameter zona hambatan yang dihasilkan oleh kontrol positif.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun kitolod (*Laurentia longiflora*) memiliki daya hambat sebagai antimikroba terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* namun tidak seefektif penghambatan amoxicillin (kontrol +).

DAFTAR RUJUKAN

Anonym,2006, Ramuan Tradisional Untuk Mengatasi Aneka Buku Kedokteran, Jakarta

Aziz, 2010, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun dan Umbi Bakung Putih (*Crinum asiaticum L.*) Terhadap Bakteri Penyebab Jerawat. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negri Syarif Hidayatullah, Jakarta.

Boel, Trelia, 2004, Psedomonas aeruginosa, <http://library.usu.ac.id>

com/index.pnp?plant=1215), diakses 25 Maret 2015

Dirjen POM RI, 1979. Farmakope Indonesia Edisi III. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta

Dirjen POM RI, 1995. Farmakope Indonesia Edisi IV. Departemen Kesehatan Republik Indonesia : Jakarta.

Djide.M.N, 2003, Mikrobiologi Farmasi, Universitas Hasanuddin, Makassar

Djidje, M.N.,Sartini., 2005. Analisis Mikrobiologi Farmasi. Penerbit Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin : Makassar

Gunawan, D., and Mulyani, S., (2004), Ilmu Obat Alam (Farmakognosi), Jilid I, Cetakan I, Penebar Swadaya, Jakarta

Kirana Rahardja, 2010, Obat-Obat Sederhana Untuk Gangguan Sehari-Hari. Gramedia Jakarta.

Lasmadiwati, E, 2003. Tanaman Liar yang Bermanfaat, Penerbit Swadaya. Jakarta

MH Wijayakusuma. 2008. Rumah Herbal Penurun Kolesterol. Pustaka Bunda Jakarta.

Plantamor, 2012. Klasifikasi Daun Kitolod. (online),(<http://www.plantamor.com>).

Radji, 2011. Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi & Kedokteran. Penerbit Buku Kedokteran EGC : Jakarta

Singgih, Santoso.2008. Panduan Lengkap
Menguasai SPSS 16. Penerbit : PT.
Alex Media Komputindao. Jakarta

T.pratiwi, Sylvia. 2008. Mikrobiologi farmasi.
Erlangga : Yogjakarta

Walpole, Ronald E. 1995. Pengantar
Statistika Edisi ke-3. Penerbit: PT.
Gramedia Pustaka Utama. Jakarta