Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Karuk (*Piper sarmentosum* Roxb) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus pyogenes*

Dewi Peti Virgianti*, Rochmanah Suhartati, Resty Rosyani
STIKes Bakti Tunas Husada Tasikmalaya, Jl.Cilolohan No.36 Kota Tasikmalaya
Tlp.(0265)334740, Fax.(0265)327224
Email: dewivirgianti@gmail.com

Abstrak

Daun karuk merupakan tanaman semak famili Piperaceaeyang biasa digunakan sebagai obat tradisional untuk obat batuk dan asma. Di Indonesia, penelitian mengenai daun karuk masih belum banyak dilakukan, terutama terhadap sifat antibakteri yang dimilikinya. Tujuan dari penelitian ini yaituuntuk menguji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun karuk (*Piper sarmentosum Roxb*) terhadap pertumbuhan bakteri penyebab radang tenggorokan dan batuk, *Streptococcus pyogenes.*
Penelitian dilakukan dengan metode eksperimen terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes* menggunakan metode Kirby-Bauer. Konsentrasi pengenceran ekstrak etanol daun karuk yang diteliti mulai dari konsentrasi 10% sampai konsentrasi 100% dengan kepadatan bakteri 0,5 McFarland.
Dari hasil penelitian diperoleh bahwa ekstrak etanol daun karuk (*Piper sarmentosum Roxb*) dapat menghambat bakteri *Streptococcus pyogenes*dari konsentrasi 10% dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar 5,65 mm, 20% sebesar 6,00 mm, 30% sebesar 6,30 mm, 40% sebesar 7,45 mm, 50% sebesar 10,10 mm, 60% sebesar 10,25 mm, 70% sebesar 11,85 mm, 80% sebesar 12,25 mm, 90% sebesar 16,85 mmdan 100% sebesar 18,95 mm.
Berdasarkan hasil penelitian dan analisis data yang telah dilakukan dapat ditarik kesimpulan bahwa ekstrak etanol daun karuk (*Piper sarmentosum Roxb*) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus pyogenes.*
Kata kunci : *Piper sarmentosum* Roxb, *Streptococcus pyogenes*, antibakteri

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu pusat keanekaragaman hayati dunia, dari Sabang sampai Merauke tersebar sekitar 40.000 jenis tumbuhan yang mengandung berbagai jenis bahan kimia yang berpotensi sebagai bahan pangan, kosmetika dan obat-obatan (Agusta, 2000). Sejalan dengan semakin berkembangnya industri jamu dan obat herbal maka penggunaan bahan alami sebagai obat semakin diminati masyarakat.

Tanaman karuk telah dikenal oleh masyarakat Indonesia, dan banyak ditanam di pekarangan rumah. Tumbuhan ini termasuk salah satu suku Piperaceae yang sampai sekarang belum banyak diteliti orang, khususnya di Indonesia. Dibeberapa bagian negara di Asia, tumbuhan ini telah dikenal sebagai tumbuhan berkhasiat obat, di antaranya air rebusan tumbuhan ini digunakan untuk mengobati sakit gigi, asma, batuk, nyeri tulang, dan infeksi jamur serta untuk membersihkan vagina (Kasahara dan Seizaburo, 1995). Pada mulanya alasan penggunaan tumbuhan ini hanya berdasarkan pengalaman secara turun-temurun. Setelah dilakukan penelitian, dilaporkan bahwa ekstrak tumbuhan *Piper sarmentosum* memiliki aktivitas antimikroba (Masuda, 1991), efek *hipoglycemic* (Hussan *et al*, 2013), menghilangkan nyeri otot (Ridtidtid, 1998), dan antimalaria (Rahman, 1999).Dalam pengobatan tradisional di Indonesia daun karuk telah digunakan untuk mengurangi rasa sakit, batuk dan asma. Dapat pula digunakan sebagai

obatsakit gigi (akarnya), dan anti panas. Kandungan kimia daun karuk diantaranya adalahsaponin, polifenol, flavonoid dan minyak atsiri (Winarto, 2007).

Berdasarkan Penelitian Shinta (2002) bahwa daun karuk (*Piper sarmentosum Roxb*) memiliki aktivitas antimikroba terhadap jamur *Candida albicans*, bakteri *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, dan *Pseudomonas aeruginosa*, pada konsentrasi 1250 mg/ml senyawa tersebut memberikan diameter daerah hambat sebesar 31 mm untuk *Candida albicans*, dan 23 mm untuk *Escherichia coli* serta *Bacillus sublilis* dan untuk *Pseudomonas aeruginosa*, konsentrasi optimum ditemukan pada 1000 mg/ml dimana diameter daerah hambat yang diberikan sebesar 22 mm.

Penelitian tentang uji antibakteri daun karuk (*Piper sarmentosum Roxb*) terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes* belum pernah dilakukan, sedangkan Syahrurachman (1994) menyatakan bahwa manusia termasuk salah satu makhluk yang paling rentan terhadap infeksi Streptococcus dan tidak ada bagian tubuh atau jaringan dalam tubuhnya yang betul-betul kebal.

Streptococcus pyogenes merupakan patogen utama pada manusia yang menimbulkan invasi lokal dan sistemik dan kelainan imunologi paska infeksi streptokokus (Brook, 2007). *Streptococcus pyogenes* adalah bakteri penyebab sakit tenggorokan septik, tonsillitis, demam scarlet dan beberapa infeksi piogenik dan septikemik lainnya pada manusia dan hewan (Supardi dan Sukamto, 1999).

Berdasarkan uraian di atas maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian mengenai uji aktivitas antimikroba daun Karuk (*Piper sarmentosum Roxb*) terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes.*

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan Autoclave, batang pengaduk kaca, blender, botol semprot plastic, bulp karet, cawan petri, clinipet (10µl, 100µl dan 1000µl), corong gelas, dry sterilisator, Erlenmeyer, gelas ukur, gelas kimia, inkubator mikrobiologi (Memmert BE 400), jangka sorong, kaca arloji, lampu spirtus kaca, neraca elektrik

(Toledo 1502), ose bulat, oven, pinset stainless, pipet tetes, pipet ukur, rak tabung, swab kapas lidi, tabung reaksi, turbidimeter (Eutech TN-100), *Laminar Air Flow*, *rotary evavorator* . Bahan-bahan yang digunakan adalahdaun karuk, aquadest, BaCl2, H2SO4, kertas cakram, Muller-Hinton Agar (Difco), NaCl fisiologis, etanol 70%. Bakteri uji yang digunakan adalah bakteri *Streptococcus pyogenes* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Prodi Analis Kesehatan STIKes BTH Tasikmalaya.

Pembuatan Ekstrak etanol daun karuk

Daun karuk kering yang telah dihaluskan ditimbang sebanyak 50 gram dan dimasukkan ke dalam gelas kimia.Ditambahkan etanol 70% sebanyak 500 ml kedalam gelas kimia tersebut,

kemudian dimaserasi selama 24 jam.Maserat yang dihasilkan dipisahkan dengan cara filtrasi. Proses penyarian diulangi sebanyak dua kali dengan jenis dan jumlah pelarut yang sama.Semua maserat yang dihasilkan dikumpulkan, kemudiandiuapkan dengan *rotary epavorator* dengan suhu rendah (<65^{0}C) sampai didapatkan ekstrak kental 100% lalu dibuat berbagai konsentrasi ekstrak 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, dan 100%.

Membuat Suspensi Bakteri Uji

Sebelum pembuatan suspensi bakteri terlebih dahulu perlu dibuat standar Mc. Farland 0,5 yaitu 9,95 ml H_2SO_4 1% ditambahkan 0,05 ml BaCl 1% (McFarland, 1907). Setelah pembuatan standar Mc. Farland, baru dibuat suspense bakteri yang dijelaskan oleh Departemen Kesehatan (1989), yaitu disediakan satu tabung reaksi yang bersih dan steril lalu diisi dengan 10 ml NaCl 0,85% steril.Suspensi dibuat dari koloni strain murni *Streptococcus pyogenes* dengan cara diambil beberapa koloni menggunakan ose bulat. Kemudian dicampurkan pada tabung sampai kekeruhan sama dengan Mc. Farland 0,5 yang diukur dengan turbidimeter.Suspensi yang telah dibuat tersebut diperkirakan terdapat bakteri 1,5x10^8/ml. Untuk memastikannya diukur kekeruhannya menggunakan alat turbidimeter.

Uji Aktivitas Antibakteri

Isolat fungi yang diperoleh dikarakterisasi Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol 70% daun karuk terhadap *Streptococcus pyogenes* dengan metode Kirby-Bauer yang dijelaskan oleh Lay, Bibiana W (1994) dan Soemarno (1987), yaitu Muller-Hinton Agar suhu 45 ^{0}C yang masih cair dituangkan sebanyak 12 ml (ketebalan ± 4-5 mm) ke dalam cawan petri yang steril, goyangkan dan biarkan dingin dan membeku.Suspensi bakteri *Streptococcus pyogenes* dengan kepadatan bakteri 1,5x10^8/ml disebarkan dengan Swab steril kedalam media Muller Hinton yang sudah beku sebanyak 0,1 ml. Lempengan agar dibiarkan mengering selama 5 menit. Kemudian letakan kertas cakram diatas agar yang sudah ditanami bakteri. Ke dalam kertas cakram tersebut diteteskan ekstrak etanol daun karuk sebanyak 20µl dengan berbagai konsentrasi pada kertas cakram menggunakan clinipette kemudian diinkubasi pada suhu 37 ^{0}C selama 24 jam.Selain pengerjaan sampel, dilakukan pula pembuatan control positif (Media Muller Hinton + Suspensi bakteri), Kontrol negatif (Media Muller-Hinton), dan Kontrol ekstrak (Media Muller-Hinton + ekstrak etanol daun karuk). Setelah diinkubasi maka diamati adanya daerah hambatan berupa zona jernih disekitar kertas cakram.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembuatan ekstrak etanol dilakukan dengan tahapan penyediaan daun karuk segar yang dibeli dari daerah Pamalayan Ciamis, kemudian dilanjutkan dengan pembuatan simplisia dengan melakukan pengeringan terhadap daun segar yang

telah dibersihkan. Pengeringan daun tersebut dilakukan selama tiga hari dengan melakukan penjemuran tetapi tidak terkena langsung sinar matahari agar senyawa aktif yang terkandung dalam daun tidak rusak (Gambar 5.1).

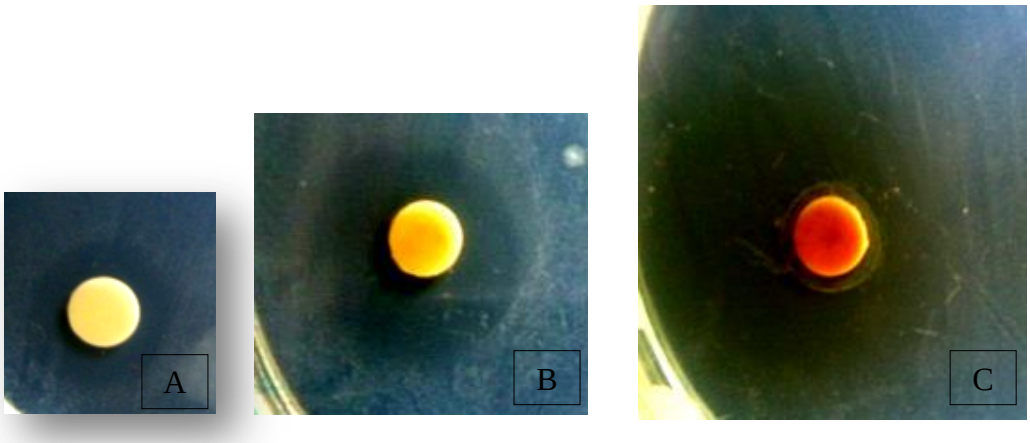
Setelah daun kering sempurna lalu dibuat serbuk dengan mesin *blender*, setelah menjadi serbuk kemudian dilakukan proses maserasi dengan melakukan perendaman menggunakan pelarut etanol 70% sebanyak 500 mL terhadap 500 Gr simplisia serbuk, diaduk sesekali selama 24 jam. Proses perendaman dilakukan kontinyu dengan mengganti larutan perendam setiap 24 jam dengan pelarut baru sebanyak 3 kali berturut-turut sehingga rendemen ekstrak yang dihasil akan optimal.

Perolehan ekstrak didapatkan dengan melakukan proses evaporasi terhadap larutan hasil rendaman simplisia tersebut, sebanyak 1,5 L pelarut dimasukkan ke dalam *rotary evapotator* yang dipanaskan dengan suhu 40 ˚C sampai didapatkan ekstrak kasar, pemanasan pada suhu tersebut dilakukan untuk menjaga agar senyawa aktif pada ekstrak tidak rusak.

Dari total simplisia kering 500 Gr didapatkan ekstrak kasar sebanyak 4,75 Gr. Selain proses pembuatan ekstrak kasar, dilakukan pula peremajaan bakteri uji yang telah dibeli, yaitu dengan tahap melakukan transfer isolat pada Agar Darah untuk melihat tipe hemolisisnya, selain itu dilakukan pula pewarnaan Gram terhadap koloni yang tumbuh dan uji katalase untuk memastikan bahwa isolate yang digunakan adalah *Streptococcus pyogenes* (β hemolitik).

Tabel 1. Diameter zona hambat ekstrak etanol daun karuk terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes*

No	Konsentrasi (%)	Disc (mm)	Diameter Zona Keseluruhan (mm)		Diameter Zona Hambat (mm)		Rata-rata (mm)
			Uji 1	Uji 2	Uji 1	Uji 2	
1	100	6	24,5	25,4	18,5	19,4	18,95
2	90	6	22,7	23,0	16,7	17,0	16,85
3	80	6	18,0	18,5	12,0	12,5	12,25
4	70	6	17,7	18,0	11,7	12,0	11,85
5	60	6	16,0	16,5	10,0	10,5	10,25
6	50	6	16,0	16,2	10,0	10,2	10,10
7	40	6	13,3	13,6	7,3	7,6	7,45
8	30	6	12,5	12,1	6,5	6,1	6,30
9	20	6	12,1	11,9	6,1	5,9	6,00
10	10	6	11,8	11,5	5,8	5,5	5,65



Gambar 4. Diameter zona hambat yang terbentuk pada pengujian aktivitas antibakteri daun karuk (*Piper sarmentosum* Roxb) terhadap *Streptococcus pyogenes*, dengan konsentrasi 10% (A), 50% (B) dan 100% (C)

Berdasarkan hasil pengamatan diperoleh hasil bahwa ekstrak etanol daun karuk (*Piper sarmentosum Roxb*) dapat menghambat pertumbuhan *Streptococcus pyogenes* dengan kepadatan 1,5 x 10^8 sel bakteri/ ml. Hal tersebut terbukti dengan adanya zona jernih di sekitar cakram pada media agar yang ditetesi 10µl ekstrak daun karuk (*Piper sarmentosum Roxb*) yang tidak ditumbuhi oleh bakteri karena adanya zat antimikroba dari ekstrak daun karuk (*Piper sarmentosum Roxb*) yang diberikan sehingga secara difusi menyebar pada media.

Berdasarkan analisa pengukuran zona hambat bahwa konsentrasi 10% ekstrak etanol daun karuk dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes* dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar 5,65 mm, diikuti dengan konsentrasi 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, dan 100%. Apabila melihat rata-rata hasil yang diperoleh dari tabel 1 semakin besar konsentrasi ekstrak daun karuk, maka semakin besar pula zona jernih yang terbentuk. Hal ini menunjukan semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun karuk, semakin kuat daya hambat terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes.* Hal tersebut diduga ada hubungannya dengan kandungan zat aktif yang terkandung dalam daun karuk yang berperan penting terhadap reaksi hambatan pada pertumbuhan bakteri. Zat aktif yang terkandung dalam daun karuk adalah saponin, flavonoid, polifenol, dan minyak atsiri.

Senyawa saponin dapat melakukan mekanisme penghambatan dengan cara membentuk senyawa kompleks dengan membran sel melalui ikatan hidrogen (Cannell, 1998), sehingga dapat menghancurkan sifat permeabilitas dinding sel dan akhirnya dapat menimbulkan kematian sel (Noer, dkk., 2006).

Senyawa polifenol dan flavonoid merupakan senyawa golongan dari fenol (Karou et al., 2005). Menurut Singh (2005), senyawa fenol memiliki mekanisme kerja dalam menghambat

pertumbuhan bakteri dengan cara inaktivasi protein (enzim) pada membran sel. Menurut Susanti (2008), fenol berikatan dengan protein melalui ikatan hidrogen sehingga mengakibatkan struktur protein menjadi rusak. Dimana sebagian besar struktur dinding sel dan membran sitoplasma bakteri mengandung protein dan lemak. Ketidakstabilan pada dinding sel dan membran sitoplasma bakteri menyebabkan fungsi permeabilitas selektif, fungsi pengangkutan aktif, pengendalian susunan protein dari sel bakteri menjadi terganggu, yang akan berakibat pada lolosnya makromolekul, dan ion dari sel. Sehingga sel bakteri menjadi kehilangan bentuknya, dan terjadilah lisis. Selain itu flavonoid bersifat polar sehingga lebih mudah menembus lapisan peptidoglikan yang juga bersifat polar pada bakteri Gram positif daripada lapisan lipid yang non polar, di samping itu pada dinding sel Gram positif mengandung polisakarida yang merupakan polimer yang larut dalam air yang berfungsi sebagai transfor ion positif untuk keluar masuk. Sifat larut inilah yang menunjukan bahwa dinding sel Gram positif bersifat lebih polar. Aktivitas penghambatan dari ekstrak daun karuk pada bakteri *Streptococcus pyogenes* menyebabkan terganggunya fungsi dinding sel sebagai pemberi bentuk sel dan melindungi sel dari lisis osmotik, dengan terganggunya dinding sel akan menyebabkan lisis pada sel (Dewi, 2010)

Minyak atsiri yang terdapat dalam daun karuk dapat menghambat pertumbuhan bakteri yaitu dengan cara merusak dinding sel bakteri, karena bakteri memiliki lapisan luar yang disebut dinding sel yang dapat mempertahankan bentuk bakteri dan melindungi membran protoplasma di bawahnya. Selain itu, minyak atsiri juga memiliki kemampuan merubah molekul protein dan asam nukleat. Minyak atsiri dapat mengubah keadaan ini dengan mendenaturasikan protein dan asam-asam nukleat sehingga merusak sel tanpa dapat diperbaiki lagi. Setiap enzim yang ada di dalam sel bakteri merupakan sasaran potensial bagi bekerjanya suatu penghambat, Penghambatan ini dapat mengakibatkan terganggunya metabolisme atau matinya sel (Suryaningrum.S , 2009).

Menurut Arora dan Bhardawaj (1997) penentuan kategori daya hambat suatu bahan alam terhadap bakteri dinyatakan bahwa bila diameter zona hambat yang terbentuk <6 mm maka dikategorikan lemah, bila 9-12 mm dikategorikan sedang dan bila >12 mm dikatakan tinggi. Sedangkan berdasarkan kekuatan antibiotik terstandar untuk pengobatan infeksi *Streptococcus pyogenes* yaitu Penisilin G, ukuran zona hambatannya dapat dinyatakan sensitive apabila sama dengan atau melebihi 29mm dan dinyatakan resisten apabila sama dengan atau kurang dari 28 mm (Aarestrup & Schwarz 2006).

Berdasarkan zona hambat yang terbentuk dari pengujian menggunakan ekstrak daun karuk, maka berdasarkan kategori Arora dan Bardawaj (1997)

ekstrak dengan konsentrasi sama dengan atau lebih dari 80% sudah termasuk kategori kuat, sedangkan bila dibandingkan dengan kekuatan Penisilin G (benzil penisilin), maka zona hambat semua konsentrasi ekstrak daun karuk (*Piper sarmentosum Roxb*) terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes* adalah masuk dalam rentang Resisten. Dengan demikian, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun karuk mempunyai aktivitas antibakteri sehingga berpotensi untuk dikembangkan sebagai obat herbal pencegahan dan pengobatan infeksi *Streptococcus pyogenes.*

UCAPAN TERIMAKASIH

Peneliti mengucapkan terimakasih kepada SIMLITABMAS DIKTI selaku penyandang dana penelitian dan kepada tim laboratorium Mikrobiologi yang telah banyak membantu terlaksananya penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Aarestrup FM, Schwarz S. 2006. *Antimicrobial Resistance in Bacteria of Animal Origin*. ASM Press. Washington DC.

Agusta. 2008. *Minyak Atsiri Tumbuhan Tropika Indonesia*. ITB. Bandung.

Arora DS dan Bhardwaj. 1997. Antibacterial Activity of Some Medicinal Plants. Geo. Bios. 24: 127-131.

Brook, GF. 2007. *Melnick Jawet dan AdelbergMikrobiologi Kedokteran*. EGC. Jakarta.

Cannell, R.J.P. 1998. *Natural Products Isolation*. Human Press, New Jersey.

Departemen Kesehatan. 1989. *Bakteriologi Umum.* Pusat Pendidikan Tenaga Kesehatan. Jakarta.

Dewi F K. 2010. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mengkudu Terhadap Bakteri Pembusuk Daging Segar*. Skripsi.Surakarta: Jurusan Biologi MIPA, Univ. Sebelas Maret.

Supardi, H. I. dan Sukamto. 1999. *Mikrobiologi Dalam Pengolahan dan Keamanan Pangan*. Alumni. Bandung.

McFarland, J. 1907. The Nephelometer. JAMA. 49:1176.

Karou, D., M.H. Dicko, J. Simpore, and A.S. Traore. 2005. *Antioxidant and Antibacterial Activities of Polyphenols From Etnomedicinal Plant Of Burkina Faso*. African Journal Of Biotecnology. Vol. 4 (8) : 823-828.

Kasahara, S and Seizaburo H. 1995. *Medical Herb Index in Indonesia*. Edisi-2. PT. Esai Indonesia. Jakarta.

Lay, Bibiana W. 1994.*Analisis Mikroba di Laboratorium*. Raja Grafindo Persada. Jakarta.

Masuda, T., Inazumi, A., Yamada, Y., Padolina, W. G., Kikuzaki, H., Naktani, N. 1991. *Antimicrobial*

Phenylpropanoid from Piper sarmentosum. Phytochemistry.30 (10): 3227-3228.

Noer, I.S. dan L. Nurhayati.2006. *Bioaktivitas Ulva reticulata Forsskal.Asal Gili Kondo Lombok Timur Terhadap Bakteri*. Jurnal Biotika. Vol. 5 (1) : 45-60.

Hussan, F., Nazilah, N., Ramdzi, M., Choun Y.S., Adibah, N., Lin, T. S. 2013. Pipper sarmentosum Water Extract Attenuates Diabetic Complication in Streptozotocin Diabetic Spraque-Dawley Rats. Sains Malaysiana. 42(11): 1605-1612.

Rahman, N.N.N.A., Furuta, T., Kojima, S., Takane, K., Mohd, M.A. 1999. *Antimalaria Activity of Extract of Malaysia Medical Plant.J. of Ethnopharmacology.*64 (3): 249-259.

Ridtidtid, W., Rattanaprom, W., Thaina, P., Chittrakara, S., Sunbhanich, M. 1998. *Neuromoscular Blocking Activity of Metanol Ekstract* of *Piper sarmentosum* Leaves *in Rat Phrenic Nerve-Hemidiaphragm Prepadation*. *J.of Ethnopharmacology*. 61(2) : 135-142.

Shinta. 2002. *Isolasi dan Identifikasi senyawa aktif antimikroba dari daun tumbuhan Piper Sarmentosum Roxb.*Tesis Magister.Institut Teknologi Bandung.

Soemarno. 1987. *Penuntun Praktikum Bakteriologi*.Jogjakarta.

Suryaningrum, S. 2009. *Uji Aktivitas Tentang Anti Bakteri Minyak Atsiri Buah Jeruk Purut (Citrus hystrix D. C) Terhadap Staphylococcus aureus dan Eschericia coli*. Skripsi. Fakultas Farmasi. Universitas Muhammadiyah Surakarta.

Susanti, A. 2008. *Daya antibakteri ekstrak etanol daun beluntas (Pluchea indica less) terhadap Escherichia coli secara in vitro*. Fakultas Kedokteran Hewan. Jurnal Universitas Airlangga.journal.unair.ac.id/filerPDF/6.%20daun%20beluntas(Beres).doc.

Syahrurachman Agus. 1994. *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi Revisi. Jakarta : Bina Rupa Aksara.

Winarto, W.P. 2007. *Tanaman Obat Indonesia* . Untuk Pengobatan Herbal, Jilid 3, Karya Sari Herba Media.