

POTENSI EKSTRAK DAUN TERATAI (*Nymphaea pubescens* L.) DALAM MENGHAMBAT *Staphylococcus aureus*

Alfia Sabban¹, D. Rumahlatu², Th. Watuguly²

¹ Mahasiswa Program Studi Pendidikan Biologi

² Staf Dosen Program Studi Pendidikan Biologi

E-mail: alfia_sabban@gmail.com

Abstract

Background: The lotus (*Nymphaea pubescens* L.) is one of the ornamental plants that many people in demand because it has varieties, shapes, and color of flowers are diverse. The lotus has the potential to be developed as an antibacterial. This study aims to determine the use of lotus leaf extract as anti-bacterial *Staphylococcus aureus*.

Method: This study included the making of extraction using maceration method using ethanol, phytochemical testing of lotus leaf extract and testing of anti bacterial activity was done by diffusion method agar by observing and measuring the inhibition zone diameter formed on Muller Hinton (MHA) media. Then done by giving lotus leaf extract with 3 treatment of concentration that is 5%, 10%, 20%, positive control (ampicillin) and negative control (aquades). With an incubation period of 1 x 24 hours.

Result: The result of phytochemical test showed that lotus leaf extract contain alkaloid compound, triterpenoid, steroid, flavonoid, phenolic and saponin. Anti-bacterial activity test results showed that the concentration given was not able to inhibit the growth of test bacteria.

Conclusions: Bacteriostatic tests with a 60% extract concentration indicating that at 10⁻⁵ to 10⁻⁹ dilutions there were no bacterial colonies growing.

Keywords: Lotus Leaves (*Nymphaea pubescens* L.), Anti bacteria, *Staphylococcus aureus*.

Abstrak

Latar Belakang: Teratai (*Nymphaea pubescens* L.) merupakan salah satu tanaman hias yang banyak diminati masyarakat karena memiliki jenis, bentuk, dan warna bunga yang beranekaragam. Teratai memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui penggunaan ekstrak daun teratai sebagai anti bakteri *Staphylococcus aureus*.

Metode: Penelitian ini meliputi pembuatan ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan etanol, pengujian fitokimia ekstrak daun teratai dan pengujian aktivitas anti bakteri dilakukan menggunakan metode difusi agar dengan mengamati dan mengukur diameter zona hambat yang terbentuk pada media *Muller Hinton* (MHA). Kemudian dilakukan pemberian ekstrak daun teratai dengan 3 perlakuan konsentrasi yaitu 5%, 10%, 20%, kontrol positif (ampisilin) dan kontrol negatif (aquades). Dengan masa inkubasi yang dipakai 1 x 24 jam.

Hasil: Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak daun teratai mengandung senyawa alkaloid, triterpenoid, steroid, flavonoid, fenolik dan saponin. Hasil uji aktivitas anti bakteri menunjukkan bahwa konsentrasi yang diberikan tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji.

Kesimpulan: Pengujian bakteriostatik dengan konsentrasi ekstrak 60% yang menunjukkan bahwa pada pengenceran 10⁻⁵ sampai 10⁻⁹ sudah tidak terdapat koloni bakteri yang tumbuh.

Kata Kunci: Daun Teratai (*Nymphaea pubescens* L.), Anti bakteri, *Staphylococcus aureus*.

PENDAHULUAN

Negara Indonesia adalah negeri yang kaya akan keanekaragaman hayati yang dimiliki oleh hewan dan tumbuhannya. Khusus untuk tumbuhan, ada begitu banyak spesies yang beranekaragam di sekitar kita yang bisa dimanfaatkan untuk dijadikan sebagai bahan makanan, maupun sebagai bahan obat-obatan. Pemanfaatan tanaman sebagai obat akhir-akhir ini semakin populer di masyarakat, karena obat kimia yang beredar memiliki harga yang relatif lebih mahal dan disamping itu juga memberi efek samping yang berbahaya (Ngajow, dkk, 2013).

Teratai (*Nymphaea pubescens L.*) adalah tanaman yang belum dimaksimalkan manfaatnya sebagai tanaman obat. Sejauh ini, yang terkenal dari tanaman ini adalah keelokan bentuk, dan warna bunganya yang beranekaragam. Tetapi teratai juga memiliki manfaat untuk menyembuhkan berbagai penyakit. Hampir semua bagian dari tanaman ini dapat dimanfaatkan (Darlimartha, 2006). Sudah ada beberapa penelitian mengenai kandungan dan manfaat yang terdapat pada biji dan umbinya sehingga telah banyak kandungan dan manfaat yang diketahui melalui penelitian tersebut. Tetapi untuk bagian daunnya belum ada penelitian mengenai kandungan dan manfaat yang terdapat pada tanaman teratai.

Secara umum, tanaman teratai mengandung tannin dan alkaloid yang berpotensi sebagai antibakteri. Antibakteri merupakan zat yang dapat menghambat atau membunuh bakteri penyebab infeksi. Infeksi disebabkan oleh bakteri atau mikroorganisme yang patogen, dimana mikroba masuk ke dalam jaringan tubuh dan berkembang biak di dalam jaringan. Bakteri merupakan mikroorganisme yang tidak dapat dilihat dengan mata telanjang, tetapi hanya dapat dilihat dengan bantuan mikroskop (Radji, 2011). Salah satu bakteri yang dapat menyebabkan infeksi adalah *Staphylococcus aureus*. Bakteri ini termasuk dalam bakteri Gram positif yang dapat mengakibatkan infeksi kerusakan pada kulit atau luka pada organ tubuh jika bakteri ini mengalahkan mekanisme pertahanan tubuh (Melki, dkk, 2011).

MATERI DAN METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Dasar dan Laboratorium Mikrobiologi, FMIPA Universitas Pattimura Ambon pada tanggal 09 Januari 2017 sampai dengan tanggal 23 Maret 2017.

Prosedur Penelitian

Tahap Persiapan

Sterilisasi

Semua peralatan yang akan dipakai, dicuci dengan detergen dan dibilas dengan air hingga bersih. Kemudian dikeringkan pada suhu ruang dan dibungkus dengan kertas kopi. Peralatan yang sudah dibungkus dimasukkan ke dalam autoklaf untuk disterilkan selama 15 menit, pada tekanan 1 atm dan suhu 121°C. Semua peralatan yang sudah disterilkan dengan autoklaf di masukan ke dalam oven untuk disimpan pada suhu 170°C.

Preparasi Sampel

Sampel utama dari penelitian ini adalah daun teratai yang diambil sebanyak 1000 gram. Kemudian dicuci bersih dengan air yang mengalir dan dikeringkan pada suhu ruangan sampai kering, setelah itu diremas dan dihaluskan sampai menjadi serbuk menggunakan blender.

Ekstraksi.

Daun teratai yang telah menjadi serbuk diambil 500 gram dimasukkan dalam erlenmeyer lalu ditambah pelarut etanol 96% kemudian diaduk dan ditutup rapat dengan aluminium foil. Maserasikan selama 3x24 jam, kemudian lakukan pemisahan ampas dan filtratnya dengan cara disaring menggunakan kertas saring. Hasil penyaringan dievaporasi dengan rotary evaporator dengan suhu 40-50°C untuk memisahkan antara ekstrak cair daun teratai dengan pelarut etanol 96%.

Tahap Pelaksanaan

Analisis fitokimia.

Menurut Harborne (1987), langkah-langkah analisis fitokimia adalah sebagai berikut:

a. Analisis senyawa alkaloid

Uji senyawa alkaloid menggunakan pereaksi Meyer. Pereaksi Meyer dibuat dengan melarutkan 0,2 gram HgCl₂ dengan

6 ml aquades dan sebanyak 0,5 gram KI dilarutkan dalam 1 ml aquades. Kedua larutan tersebut dicampur.

Cara uji alkaloid yaitu: sampel dilarutkan dengan asam klorida 0,1N kemudian dimaserasi selama 2 jam. Hasil maserasi tersebut ditambahkan 2-3 tetes pereaksi Meyer. Adanya warna kuning menunjukkan positif alkaloid.

b. Analisis senyawa triterpenoid dan steroid

Sebanyak 2 gram sampel tumbuhan yang telah dihaluskan, ditempatkan pada plat tetes dan ditambahkan asam asetat anhidrat sampai sampel terendam semuanya, dibiarkan selama kira-kira 15 menit, enam tetes larutan dipindahkan ke dalam tabung reaksi dan ditambah 2-3 tetes asam sulfat pekat. Adanya triterpenoid ditunjukkan dengan terjadinya warna merah, jingga atau ungu, sedangkan adanya steroid ditunjukkan dengan adanya warna hijau.

c. Analisis senyawa flavanoid

Sebanyak 2 gram sampel tumbuhan yang telah diekstrak dengan 5 ml etanol, dipanaskan selama lima menit di dalam tabung reaksi. Selanjutnya ditambah beberapa tetes HCl pekat. Kemudian ditambahkan 0,2 gram bubuk Mg. Hasil positif ditunjukkan dengan timbulnya warna merah dalam waktu 3 menit.

d. Analisis senyawa saponin

Sebanyak 2 gram sampel kasar diekstrak dengan dietil eter dan fraksi yang larut dalam dietil eter dipisahkan. Sisa residu yang tidak larut dalam dietil eter ditambahkan 5 ml aquades lalu dikocok kuat-kuat. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang stabil selama 15 menit.

e. Analisis senyawa fenolik

Sampel dikocok kuat dengan kloroform lalu ditambahkan aquades, kemudian larutan dikocok dan biarkan sampai terbentuk dua lapisan. Lapisan air yang terbentuk dimasukkan beberapa tetes dalam tabung reaksi lalu ditambahkan larutan besi III klorida, jika timbul warna hijau sampai ungu menandakan positif fenolik.

Pengujian Antibakteri

Pembuatan Media

1) Media *Muller Hinton Agar* (MHA):

Timbang media MHA sebanyak 8,84 gram kemudian masukkan ke dalam erlenmeyer 500 ml dan tambahkan aquades sebanyak 260 ml. Panaskan hingga mendidih dan gunakan magnetic stirrer agar homogen. Setelah mendidih tutup mulut erlenmeyer dengan menggunakan kapas dan alumunium foil, kemudian bungkus dengan plastik wrap agar media tidak terkontaminasi. Setelah itu media disterilkan dalam autoklaf selama 15 menit, pada tekanan 1 atm dan suhu 121°C. Setelah steril tuang media ke dalam cawan petri, biarkan hingga mengeras. Setelah mengeras tutup mulut cawan petri dengan plastik wrap.

2) Media *Muller Hinton Broth* (MHB)

Timbang media MHB sebanyak 1,26 gram kemudian masukkan ke dalam erlenmeyer 250 ml dan tambahkan aquades sebanyak 60 ml. panaskan hingga mendidih dan gunakan magnetic stirrer agar homogen. Setelah mendidih tuang media MHB ke dalam erlenmeyer 100 ml sebanyak 30 ml, dan tuang lagi pada 2 erlenmeyer 100 ml masing-masing sebanyak 15 ml. Tutup mulut erlenmeyer dengan menggunakan kapas dan alumunium foil, kemudian bungkus dengan plastik wrap agar media tidak terkontaminasi. Setelah itu media disterilkan dalam autoklaf selama 15 menit, pada tekanan 1 atm dan suhu 121°C.

3) Larutan NaCl

Timbang NaCl sebanyak 1,08 gram kemudian masukkan ke dalam erlenmeyer 250 ml dan tambahkan aquades sebanyak 120 ml. Aduk dengan menggunakan spatula hingga homogen. Setelah larut masukkan larutan NaCl ke dalam 2 tabung reaksi, masing-masing sebanyak 9 ml. Dan masukkan larutan NaCl dalam 10 tabung reaksi, masing-masing sebanyak 9,9 ml. Setelah itu tutup mulut tabung reaksi dengan menggunakan kapas dan alumunium foil, kemudian bungkus dengan plastik wrap agar media tidak terkontaminasi. Setelah itu larutan disterilkan dalam autoklaf selama 15 menit, pada tekanan 1 atm dan suhu 121°C.

a. Penyiapan Bakteri

1) Peremajaan Kultur Murni Bakteri

Masing-masing bakteri uji berupa biakan murni *Staphylococcus aureus*, diambil satu ose kemudian diinokulasi pada media MHA. Selanjutnya di-inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

2) Pembuatan Suspensi Bakteri Untuk Bakteriostatik

Bakteri uji yang sudah diremajakan, disuspensikan dengan cara diambil satu ose masukkan ke dalam media MHB 30 ml. Kemudian diinkubasi shaker pada suhu 37°C selama 24 jam.

b. Pembuatan Konsentrasi Ekstrak

Ekstrak dari daun teratai diencerkan dengan aquades. Stok konsentrasi ekstrak daun teratai yang akan divariasikan adalah mulai dari 5%, 10%, dan 20% untuk uji zona hambat dan 60% untuk uji bakteriostatik dengan cara:

- 1) Konsentrasi 60%: 6 ml ekstrak daun teratai + 4 ml aquades
- 2) Konsentrasi 20%: 1 ml ekstrak daun teratai + 4 ml aquades
- 3) Konsentrasi 10%: 0,5 ml ekstrak daun teratai + 4,5 ml aquades
- 4) Konsentrasi 5% : 0,25 ml ekstrak daun teratai + 4,75 ml aquades
- 5) Kontrol pelarut : 0 ml ekstrak daun teratai + 5 ml aquades
- 6) Kontrol positif: 0 ml ekstrak daun teratai + 5 ml ampicillin

Tahap Pengujian

3.1. Penentuan Diameter Hambat Dilakukan Dengan Metode Difusi Agar, Dengan Menggunakan Teknik Sumuran. Langkah-langkahnya sebagai berikut:

- a. Gores biakan murni *S. aureus* pada media *Muller Hinton Agar* (MHA) dengan menggunakan cottun bud hingga merata dipermukaan media secara aseptis di dalam laminar air flow.
- b. Kemudian buat sumuran dengan menggunakan tabung silinder dengan diameter 6 mm. Setiap cawan petri yang telah berisi media, dibuat 3 sumuran dengan jarak yang sama untuk tiga kali ulangan.
- c. Tiap sumuran ditetesi dengan larutan ekstrak yang telah disiapkan konsentrasinya sebanyak 0,1 ml.

Sumuran yang berfungsi sebagai kontrol negatif hanya ditetesi aquades steril dan untuk kontrol positif digunakan antibiotik ampicillin. Perlakuan ini dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan.

d. Kemudian kultur diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam di dalam inkubator.

e. Ukur diameter zona hambat menggunakan mistar.

Setelah diameter zona hambat diukur maka dapat ditentukan sensitivitas klinik dari bakteri berdasarkan klasifikasi respon hambat pertumbuhan bakteri. Penentuan zona hambat menggunakan rumus:

$$\frac{(D1 - DS) + (D2 - DS)}{2}$$

(Sumber: Saimima, 2017)

Keterangan:

D1 : Diameter Vertikal

D2 : Diameter Horizontal

DS : Diameter Sumuran.

Berdasarkan hasil pengukuran diameter zona hambat tersebut, kemudian ditentukan sensitivitas dari bakteri dengan menggunakan klasifikasi respon hambatan pertumbuhan bakteri. Menurut Davis dan Stout (1971) dalam Kumesan dkk. (2013), klasifikasi daya hambat pertumbuhan dibagi atas: sangat kuat (>20 mm), kuat (10-20 mm), sedang (5-10 mm) dan lemah (<5mm).

Tahapan Pengujian Bakteriostatik.

Menurut Saimima (2017), langkah-langkah pengujian bakteriostatik adalah sebagai berikut:

- a. Masukkan konsentrasi ekstrak 60% ke dalam media *Muller Hinton Broth* (MHB) 15 ml (1) dan diberi label (+) ekstrak sedangkan media MHB 15 ml (2) diberi label (-) ekstrak.
- b. Pipet suspensi bakteri dari media MHB 30 ml sebanyak 1,5 ml, masukkan ke media MHB 15 ml (+) ekstrak dan MHB 15 ml (-) ekstrak kemudian diencerkan pada larutan NaCl 10⁻¹, 10⁻³, 10⁻⁵, 10⁻⁷, dan 10⁻⁹. Selanjutnya homogenkan dengan menggunakan vortex, kemudian ambil 0,1 ml dari masing-masing pengenceran masukkan ke dalam cawan petri yang telah berisi media MHA.

- c. Gunakan batang penyebar untuk menyebarkan bakteri pada media MHA tersebut. Pada setiap cawan petri yang telah berisi media diberi label masing-masing untuk (+) ekstrak dan (-) ekstrak.
- d. Kemudian kultur diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dalam inkubator.
- e. Kemudian hitung jumlah koloni yang tumbuh pada setiap cawan petri.

Biakan bakteri yang tumbuh dihitung menggunakan *colony counter*. Biakan yang dihitung diambil koloni yang tumbuh sesuai dengan standar plat count yaitu 30-300 koloni per cawan. Adapun cara menghitung koloni (Rosana, 2015) adalah sebagai berikut:

- a. Satu koloni dihitung 1 koloni
- b. Dua koloni yang bertumpuk dihitung 1 koloni
- c. Beberapa koloni yang berhubungan dihitung 1 koloni
- d. Dua koloni yang berhimpitan dan masih dapat dibedakan dihitung 2 koloni

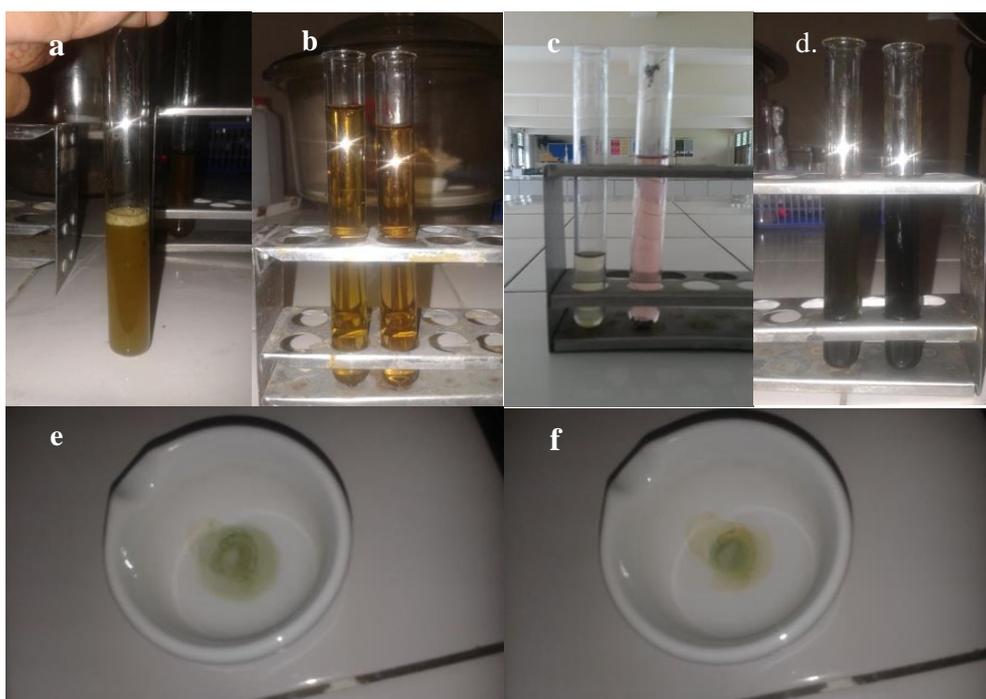
- e. Satu kumpulan koloni besar dimana jumlah koloninya diragukan dihitung sebagai 1 koloni
- f. Satu koloni yang membentuk satu deretan atau rantai dan terlihat sebagai satu garis tebal dihitung sebagai 1 koloni.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Data Pengujian Fitokimia Hasil Ekstrak Daun Teratai (*Nymphaea pubescens L.*)

Pengujian fitokimia ekstrak daun teratai dilakukan sesuai Harborne (1987). Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam daun teratai. Hasil pengujian fitokimia dapat dilihat pada gambar 4.1.



Gambar 1. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Daun Teratai. Ket. Gambar: a) pengujian alkaloid, b) pengujian fenolik, c) pengujian flavonoid, d) pengujian saponin, e) pengujian triterpenoid, f) pengujian steroid.

Berdasarkan gambar 1 ekstrak daun teratai mengandung senyawa alkaloid, triterpenoid, steroid, flavonoid, fenolik dan saponin yang disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Profil Fitokimia Ekstrak Daun Teratai

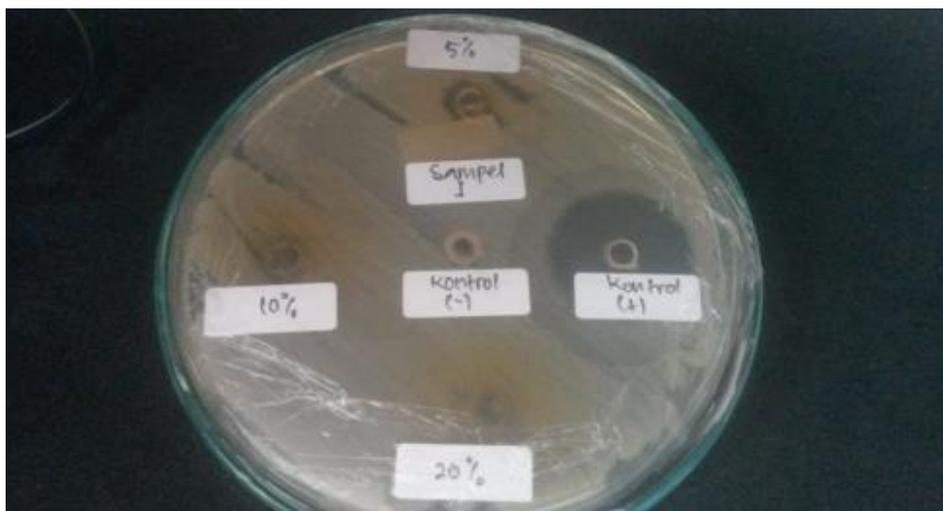
No.	Kandungan Kimia Ekstrak Daun Teratai	Ciri-ciri yang Teramati	Hasil
1.	Alkaloid	Berwarna kuning	+
2.	Triterpenoid	Berwarna jingga	+
3.	Steroid	Berwarna hijau	+
4.	Flavonoid	Berwarna merah	+
5.	Fenolik	Berwarna biru	+
6.	Saponin	Terbentuk buih	+

Sumber: Data Penelitian (2017)

Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Teratai.

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun teratai terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dilakukan dengan menggunakan metode difusi sumuran dengan diameter 6 mm. Pengujian ini

dilakukan dengan tujuan melihat kemampuan ekstrak daun teratai dengan variasi konsentrasi dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus* yang dilihat dari zona bening yang terbentuk. Hasil pengujian zona hambat ekstrak daun teratai dapat dilihat pada gambar 4.2.



Gambar 2. Hasil Uji Zona Hambat Yang Ditunjukkan Ekstrak Daun Teratai Dengan 3 Kosentrasi dan 2 Kontrol Terhadap Pertumbuhan *S. aureus*.

Ket. Gambar: a) konsentrasi 5%, b) konsentrasi 10%, c) konsentrasi 20%, d) kontrol positif, e) kontrol negatif.

Berdasarkan gambar 4.2 hasil uji zona hambat ekstrak daun teratai menunjukkan bahwa zona bening yang terbentuk hanya pada perlakuan kontrol positif, sedangkan

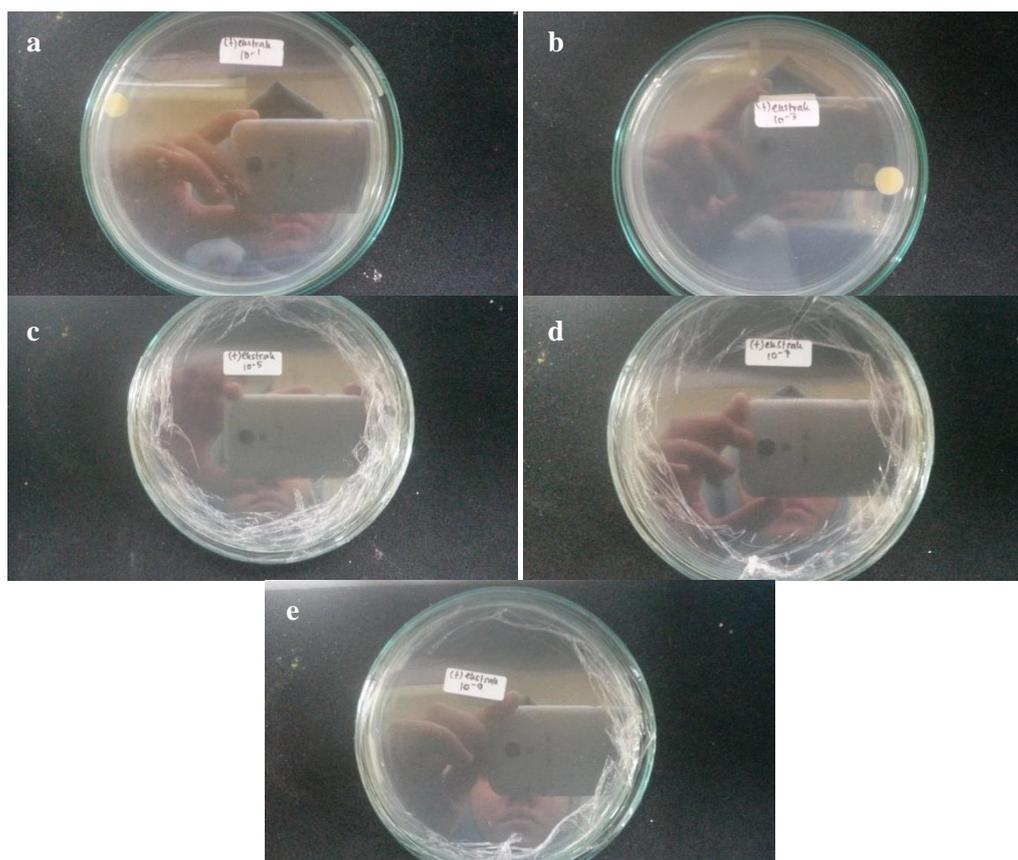
perlakuan konsentrasi yang diberikan yaitu 5%, 10% dan 20% tidak terbentuk zona bening. Hasil pengukuran luas zona hambat ekstrak daun teratai terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada tabel 4.2.

Tabel 2. Data Hasil Pengukuran Rata-rata Diameter Zona Hambat Ekstrak Daun Teratai (*Nymphaea pubescens* L.) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.

No.	Konsentrasi (%)	Rata-rata Diameter Zona Hambat (mm)	Respon Hambat Pertumbuhan
1.	5%	0	Tidak ada
2.	10%	0	Tidak ada
3.	20%	0	Tidak ada
4.	Kontrol (+)	16	Kuat
5.	Kontrol (-)	0	Tidak ada

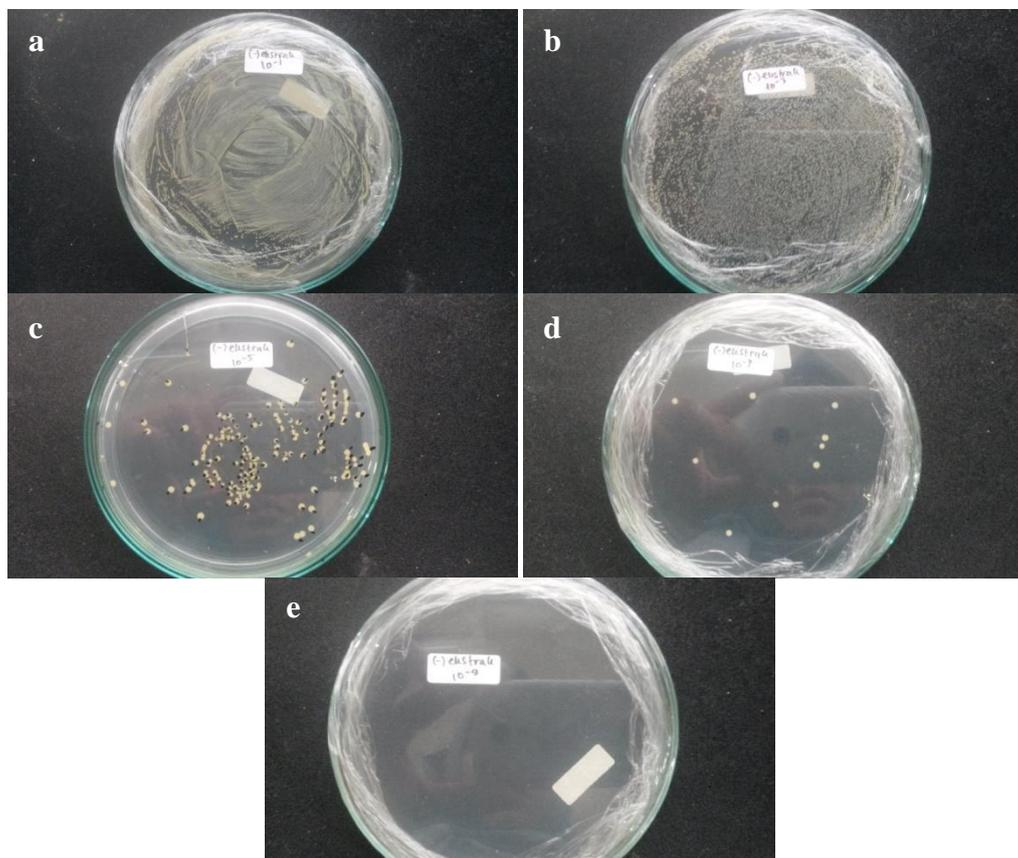
Data Penelitian, 2017.

Berdasarkan tabel 2 pemberian ekstrak daun teratai terhadap *S. aureus* dengan perlakuan konsentrasi 5%, 10%, dan 20% menunjukkan bahwa ekstrak daun teratai tidak memiliki respon hambat pada pertumbuhan *S. aureus*. Oleh karena itu, dilakukan penelitian lanjut dengan metode uji bakteriostatik terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* dengan membedakan hasil jumlah koloni yang tumbuh pada pengenceran media yang diberi tambahan ekstrak daun teratai (gambar 4.3) dan yang tidak diberi tambahan ekstrak daun teratai (gambar 4.4). Pada pengujian bakteriostatik konsentrasi ekstrak yang digunakan ditingkatkan menjadi 60%.



Gambar 3. Hasil Uji Bakteriostatik Pada Pengenceran Media Dengan Ekstrak 10^{-1} – 10^{-9} . Ket. Gambar: a) + ekstrak 10^{-1} , b) + ekstrak 10^{-3} , c) + ekstrak 10^{-5} , d) + ekstrak 10^{-7} , e) + ekstrak 10^{-9} .

Berdasarkan gambar 3 dapat dilihat pada pengenceran 10^{-1} dan 10^{-3} masih terdapat koloni bakteri yang tumbuh, sedangkan pada pengenceran 10^{-5} sampai 10^{-9} sudah tidak terdapat koloni bakteri yang tumbuh. Hasil jumlah koloni bakteri yang tumbuh dapat dilihat pada tabel 3.



Gambar 4. Hasil Uji Bakteriostatik Pada Pengenceran Media Tanpa Ekstrak 10^{-1} – 10^{-9} . Ket. Gambar: a) - ekstrak 10^{-1} , b) - ekstrak 10^{-3} , c) - ekstrak 10^{-5} , d) - ekstrak 10^{-7} , e) - ekstrak 10^{-9} .

Hasil uji bakteriostatik pada gambar 4 menunjukkan penurunan pertumbuhan koloni bakteri pada pengenceran 10^{-1} sampai 10^{-7} , tetapi pada pengenceran 10^{-9}

sudah tidak terdapat pertumbuhan koloni bakteri. Hasil jumlah koloni bakteri yang tumbuh dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 4.3. Data Hasil Jumlah Pertumbuhan Koloni Pengujian Bakteriostatik

Perlakuan	Pengenceran	Jumlah koloni (CFU/ml)	Rata-rata (CFU/ml)
Dengan Ekstrak	10 ⁻¹	1 x 10 ²	0,1 x 10 ³
	10 ⁻³	2 x 10 ⁴	20 x 10 ³
	10 ⁻⁵	-	-
	10 ⁻⁷	-	-
	10 ⁻⁹	-	-
Rata-rata			10,05 x 10³
Tanpa Ekstrak	10 ⁻¹	TBUD	TBUD
	10 ⁻³	TBUD	TBUD
	10 ⁻⁵	133 x 10 ⁶	13,3 x 10 ⁷
	10 ⁻⁷	9 x 10 ⁸	90 x 10 ⁷
	10 ⁻⁹	-	-
Rata-rata			51,65 x 10⁷

Keterangan: TBUD: Tidak bisa untuk dihitung

Berdasarkan tabel 3 pengujian bakteriostatik pada media pengenceran dengan ekstrak pada pengenceran 10⁻¹ dan 10⁻³ masih terdapat bakteri yang tumbuh dengan masing-masing rerata jumlah koloni 0,1 x 10³ CFU/ml dan 20 x 10³ CFU/ml dan pada pengenceran 10⁻⁵ sampai 10⁻⁹ sudah tidak terdapat koloni bakteri yang tumbuh. Sedangkan pada media pengenceran tanpa ekstrak pada pengenceran 10⁻¹ dan 10⁻³ menunjukkan pertumbuhan koloni bakteri yang melebihi *standar plat count* sehingga dinyatakan TBUD. Pada pengenceran 10⁻⁵ masih terdapat koloni yang tumbuh tetapi rerata jumlah koloni yang tumbuh sebesar 13,3 x 10⁷ lebih sedikit dari pengenceran 10⁻¹ dan 10⁻³, sedangkan pada pengenceran 10⁻⁷ pertumbuhan koloni bakteri meningkat sebanyak 90 x 10⁷ dan pada pengenceran 10⁻⁹ sudah tidak terdapat pertumbuhan koloni bakteri.

Pembahasan

Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder dalam sampel uji sehingga memperkuat gagasan penulis bahwa daun teratai memiliki potensi sebagai antibakteri karena menurut Cowan (1999) dalam Ngajow dkk. (2013), senyawa golongan fenolik memiliki efektifitas yang tinggi sebagai agen antibakteri. Hasil pengujian fitokimia pada gambar 4.1 menunjukkan bahwa ekstrak daun teratai (*Nymphaea pubescens L.*) mengandung senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid yang ditandai dengan terjadinya warna kuning dengan pereaksi Meyer, triterpenoid

ditunjukkan dengan terjadinya warna jingga, steroid ditunjukkan dengan adanya warna hijau, flavonoid ditunjukkan dengan timbulnya warna merah, fenolik ditunjukkan dengan terbentuknya warna biru tua, dan adanya kumpulan buih yang stabil selama 10 menit pada sampel ekstrak uji yang menunjukkan positif saponin. Lathifah (2008), menyatakan bahwa senyawa-senyawa metabolit sekunder tersebut diduga berpengaruh dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun teratai terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* yang dilakukan dengan metode difusi sumuran pada gambar 2 menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak daun teratai yang diberikan yaitu 5%, 10%, dan 20% tidak terbentuk zona bening. Berdasarkan tabel 2 terlihat bahwa pemberian ekstrak daun teratai terhadap *S. aureus* dengan konsentrasi 5% tidak memiliki respon hambat pertumbuhan, dengan nilai pengukuran rata-rata diameter zona hambat sama dengan 0. Hal yang sama ditunjukkan pada konsentrasi 10% dan 20% juga tidak memiliki respon hambat pertumbuhan dengan rata-rata diameter zona hambat sama dengan 0. Pada penentuan aktivitas antibakteri dari ekstrak daun teratai, digunakan sebagai pembanding adalah antibiotik standar yang biasa digunakan dalam pengobatan sebagai kontrol positif yaitu ampisilin. Respon yang diberikan oleh *S. aureus* terhadap ekstrak dan ampisilin berbeda. Bakteri uji lebih efektif dihambat oleh ampisilin dengan luas

zona hambat yang dihasilkan sebesar 16 mm dan mempunyai respon hambat pertumbuhan yang kuat, dibandingkan dengan ekstrak daun teratai. Kumesan dkk. (2013) dalam Henaulu (2016), menyatakan bahwa apabila zona hambat yang terbentuk pada uji difusi berukuran kurang dari 5 mm, maka aktivitas penghambatannya dikategorikan lemah. Apabila zona hambat berukuran 5-10 mm dikategorikan sedang, 10-20 mm dikategorikan kuat dan 20 mm atau lebih dikategorikan sangat kuat.

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh konsentrasi 5%, 10%, 20% ekstrak daun teratai tidak bersifat bakterisidal, maka dilakukan penelitian lanjut dengan metode uji bakteriostatik terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* dengan membedakan hasil jumlah koloni yang tumbuh pada pengenceran media yang diberi tambahan ekstrak daun teratai 60% dan yang tidak diberi tambahan ekstrak daun teratai. Pengujian bakteriostatik dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui ekstrak daun teratai dapat menghambat dan menekan pertumbuhan bakteri dengan menghitung jumlah koloni yang tumbuh. Jumlah bakteri dihitung dengan mengalikan jumlah koloni yang tumbuh pada media dengan pengenceran. Pengenceran dilakukan setelah inkubasi, agar koloni yang terbentuk pada cawan tersebut dapat dihitung. Dimana jumlah terbaik adalah antara 30-300 koloni per cawan. Prinsip pengenceran adalah menurunkan jumlah bakteri sehingga semakin tinggi pengenceran yang dilakukan semakin rendah jumlah mikroba begitupun sebaliknya.

Pengenceran yang dilakukan pada penelitian ini adalah pengenceran berseri dengan cara memindahkan kultur bakteri dari pengenceran 10^{-1} ke pengenceran 10^{-3} dan seterusnya hingga pengenceran 10^{-9} . Setelah kultur bakteri di pindahkan, diambil 1 ml suspensi bakteri dari 10^{-1} dimasukkan ke dalam cawan petri yang berisi media MHA dan di beri label 10^{-1} kemudian digunakan batang penyebar untuk menyebarkan sel-sel mikroba secara merata pada media.

Larutan yang digunakan untuk pengenceran harus memiliki sifat osmotik yang sama dengan keadaan lingkungan asal mikroba untuk menghindari rusaknya sel, selain itu juga harus dijaga agar tidak terjadi perbanyakan sel selama pengenceran.

Larutan yang digunakan untuk pengenceran pada penelitian ini adalah NaCl, hal ini untuk menghindari kerusakan sel akibat perbedaan tekanan osmotik (Fardiaz, 1992).

Berdasarkan tabel 3 pengujian bakteriostatik pada media pengenceran dengan ekstrak pada pengenceran 10^{-1} dan 10^{-3} masih terdapat bakteri yang tumbuh dengan masing-masing rerata jumlah koloni $0,1 \times 10^3$ CFU/ml dan 20×10^3 CFU/ml dan pada pengenceran 10^{-5} sampai 10^{-9} sudah tidak terdapat koloni bakteri yang tumbuh. Sedangkan pada media pengenceran tanpa ekstrak pada pengenceran 10^{-1} dan 10^{-3} menunjukkan pertumbuhan koloni bakteri yang melebihi standar plat count sehingga dinyatakan TBUD. Pada pengenceran 10^{-5} masih terdapat koloni yang tumbuh tetapi rerata jumlah koloni yang tumbuh sebesar $13,3 \times 10^7$ lebih sedikit dari pengenceran 10^{-1} dan 10^{-3} , sedangkan pada pengenceran 10^{-7} pertumbuhan koloni bakteri meningkat sebanyak 90×10^7 dan pada pengenceran 10^{-9} sudah tidak terdapat pertumbuhan koloni bakteri. Hal ini menunjukkan ekstrak daun teratai 60% mempunyai respon hambat pada bakteri *S. aureus* yang ditandai dengan semakin tinggi pengenceran yang dilakukan, pertumbuhan bakteri semakin rendah. Maka dapat di jelaskan bahwa dalam pengujian bakteriostatik ini, ekstrak daun teratai bersifat bakteriostatik terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Menurut Mycek (2001), bahwa suatu antimikroba bersifat bakteriostatik jika senyawa antimikroba tersebut hanya mampu menghambat pertumbuhan bakteri jika pemberian senyawa terus dilakukan dan jika dihentikan atau habis, maka pertumbuhan dan perbanyakan dari bakteri akan kembali meningkat yang ditandai dengan berkurangnya diameter zona hambatan pada masa inkubasi kedua. Sebaliknya bersifat bakteriosida jika diameter zona hambatan meningkat pada masa inkubasi kedua, hal ini disebabkan karena senyawa ini mampu membunuh dan menghentikan aktivitas fisiologis dari bakteri, meskipun pemberian senyawa tersebut dihentikan.

Pada penelitian-penelitian sebelumnya, belum ditemukan penelitian terkait yang spesifik mengenai antibakteri dari daun teratai terhadap bakteri *Staphylococcus*

aureus. Namun ada penelitian dari bagian lain dari tanaman teratai yaitu biji teratai terhadap bakteri *S. aureus*. Nuraini (2007) melaporkan bahwa, ekstrak etanol biji teratai mempunyai aktivitas antibakteri pada konsentrasi 30% terhadap *Staphylococcus aureus* dengan diameter sebesar 7.53 ± 0.13 mm. Sedangkan menurut penelitian yang dilakukan Widya dkk, tentang pengujian aktivitas ekstrak metanol biji teratai menunjukkan hambatan pertumbuhan antibakteri pada bakteri *S. agalactiae* adalah sebesar 7,82 mm pada konsentrasi 80%. Pada penelitian ini ekstrak daun teratai dengan konsentrasi 5% sampai dengan konsentrasi 20%, tidak mempunyai aktivitas antibakteri pada *S. aureus*, sedangkan pada konsentrasi 60% ekstrak daun teratai mempunyai aktivitas antibakteri pada bakteri uji yang ditandai jumlah koloni yang tumbuh semakin menurun dengan meningkatnya konsentrasi yang diberikan. Menurut Pelczar dan Chan (1988), semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka senyawa aktif antibakteri yang terkandung semakin banyak sehingga kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri semakin tinggi pula. Yanti dkk. (2014), juga menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin besar pula penghambatannya terhadap bakteri uji sehingga pada konsentrasi tinggi total koloni semakin sedikit.

Aktivitas antibakteri pada ekstrak daun teratai terjadi akibat adanya senyawa-senyawa metabolit pada daun teratai. Hal ini dapat dilihat pada pengujian fitokimia ekstrak daun teratai yang telah dilakukan memberikan hasil positif keberadaan senyawa alkaloid, flavonoid, fenolik, saponin, triterpenoid dan steroid. Menurut Ajizah (2004), senyawa fitokimia tersebut memiliki aktivitas antibakteri. Mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri yaitu mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Rika, 2014).

Senyawa flavonoid disintesis oleh tanaman sebagai sistem pertahanan dan dalam responsnya terhadap infeksi oleh mikroorganisme, sehingga tidak mengherankan apabila senyawa ini efektif sebagai senyawa antimikroba terhadap

sejumlah mikroorganisme (Parubak, 2013). Senyawa flavonoid yang berperan langsung sebagai antibakteri bekerja dengan mendenaturasikan protein sel bakteri dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki lagi (Pelczar dan Chan, 1988).

Mekanisme senyawa fenol sebagai antibakteri pada konsentrasi rendah adalah dengan merusak membran sitoplasma dan dapat menyebabkan kebocoran inti sel, sedangkan pada konsentrasi tinggi senyawa fenol berkoagulasi dengan protein seluler. Aktivitas tersebut sangat efektif ketika bakteri dalam tahap pembelahan dimana lapisan fosfolipid di sekeliling sel sedang dalam kondisi yang sangat tipis sehingga fenol dapat dengan mudah merusak isi sel (Volk dan Wheller, 1984).

Mekanisme triterpenoid sebagai antibakteri adalah bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri yang akan mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (Cowan, 1999).

Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri adalah menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar (Nuria dkk., 2009). Menurut Cavalieri *et al.* (2005), senyawa ini berdifusi melalui membran luar dan dinding sel yang rentan, lalu mengikat membran sitoplasma dan mengganggu dan mengurangi kestabilan itu. Hal ini menyebabkan sitoplasma bocor keluar dari sel yang mengakibatkan kematian sel.

Penelitian ini menggunakan perlakuan kontrol positif dan kontrol negatif sebagai pembanding terhadap respon hambat dari ekstrak daun teratai. Pada perlakuan kontrol positif digunakan antibiotik ampisillin, yang memperlihatkan rerata zona hambat yang lebih besar dibandingkan dengan sampel uji. Hal ini terjadi karena ampisillin merupakan antibiotik yang termasuk golongan penisilin yang bersifat bakterisidal. Mekanisme kerja dari ampisillin yaitu menghambat sintesis dinding sel bakteri dengan cara

menghambat pembentukan mukopeptida, karena sintesis dinding sel terganggu maka bakteri tersebut tidak mampu mengatasi perbedaan tekanan osmosa di luar dan di dalam sel yang mengakibatkan bakteri mati (Wasitaningrum, 2009). Hal tersebut dibuktikan dengan hasil penelitian yang menunjukkan respon hambat pertumbuhan kuat pada bakteri uji. Sedangkan perlakuan kontrol negatif digunakan aquades karena merupakan senyawa netral yang tidak berefek terhadap pertumbuhan bakteri. Hal tersebut dibuktikan dengan tidak adanya respon hambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* yang ditetesi aquades, maka dapat di jelaskan bahwa aquades dinyatakan aman sebagai pelarut pada pengencer konsentrasi ekstrak daun teratai.

KESIMPULAN

Berdasarkan pada hasil penelitian dan pembahasan yang telah dikemukakan, maka dari hasil penelitian ini dapat diambil kesimpulan bahwa hipotesis H_1 diterima dan hipotesis H_0 ditolak. Ekstrak daun teratai (*Nymphaea pubescens* L.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, namun bersifat bakteriostatik. Hal ini ditandai dengan tidak bentuknya *clear zone* pada pengujian dengan metode difusi. Namun, hasil pengujian bakteriostatik menunjukkan bahwa pada pengenceran 10^{-5} sampai 10^{-9} sudah tidak terdapat koloni bakteri yang tumbuh.

Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak daun teratai (*Nymphaea pubescens* L.) mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, flavonoid, fenolik, saponin, triterpenoid dan steroid.

DAFTAR PUSTAKA

Ajizah, A. 2004. Sensitivitas *Salmonella typhimurium* Terhadap Ekstrak Daun *Psidium guajava* L. *Jurnal Bioscientiae*. 1: 31-38.

Cavaliere, S.J., Rankin I.D., Harbeck R.J., Sautter R.S., McCarter Y.S., Sharp S.E., Ortez J.H., dan Spiegel C.A. 2005. *Manual of Antimicrobial Susceptibility Testing*. USA: American Society for Microbiology.

Cowan, M.M. 1999. *Plant Products as Antimicrobial Agents*. *Clinical Microbiology Reviews*. 12: 564 – 582.

Darlimartha, S. 2006. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 4*. Jakarta: Puspa Swara, Anggota Ikapi.

Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pangan*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.

Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Terjemahan Padmawinata dan Sudiro. Bandung. Institut Teknologi Bandung.

Henaulu, A. 2016. *Uji Aktifitas Antibakteri Ekstrak Daun Kecipir (Psophocarpus tetragonolobus L.) terhadap Pertumbuhan Escherichia coli dan Staphylococcus aureus*. Skripsi tidak diterbitkan. Ambon: FMIPA Universitas Pattimura.

Kumesan, Y.A.N, Yamlean, V.P, Supriati, H.S. 2013. Formulasi dan Uji Aktifitas Gel Antijerawat Ekstrak Umbi Bakung (*Crinum asiaticum* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara in Vitro. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. Manado: Program Studi FMIPA. Unsrat. 2(02):18-26

Lathifah, Q.A. 2008. *Uji Efektifitas Ekstrak Kasar Senyawa Antibakteri Pada Buah Belimbing Wuluh (Everrhoa bilimbi L.) Dengan Variasi Pelarut*. Skripsi, tidak dipublikasikan. Malang: Fakultas Sains Dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Malang.

Melki, Ayu, E.P., Wike, dan Kurniati. 2012. *Uji Antibakteri Ekstrak Gracialaria sp (Rumpu laut) Terhadap Bakteri E. coli dan S. aureus*. Indralaya: FMIPA Universitas Sriwijaya.

Mycek, M.J. 2001. *Farmakologi: Ulasan Bergambar Edisi 2*. Jakarta: Widya Medika.

Ngajow, M., Abidjulu, J., dan Kamu, V.S. 2013. Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia Pinnata*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Secara in Vitro. *Jurnal Mipa Unsrat Online* 2 (2) 128-132. Manado.

Nuraini. 2007. *Ekstraksi Komponen Antibakteri dan Antioksidan dari Biji Teratai (Nymphaea pubescens)*. Skripsi tidak diterbitkan. Bogor: Departemen Ilmu Dan Teknologi Pangan Fakultas

- Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor.
- Nuria, M.C., Faizatun, A., dan Sumantri. 2009. Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, dan *Salmonella typhi* ATCC 1408. *Jurnal Ilmu-ilmu Pertanian*. 5: 26–37.
- Parubak, A.S. 2013. Senyawa Flavonoid yang Bersifat Antibakteri dari Akway (*Drimys beccariana* Gibbs). Korespondensi. Jurusan Kimia, FMIPA. Universitas Negeri Papua. 1(1):1-4.
- Pelczar, M.J. dan Chan, E.C.S. 1988. *Dasardasar Mikrobiologi Jilid 1*. Jakarta: UI Press.
- Radji, M. 2011. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Rika, P.R. 2014. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mangga (Mangifera foetida L.) Terhadap Staphylococcus aureus Secara In Vitro*. Skripsi tidak diterbitkan. Pontianak: Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura.
- Rosana, I.R. 2015. *Aktivitas Antibakteri Jamu "Empot Super" Terhadap Bakteri Staphylococcus saprophyticus dan Echerichia coli*. Skripsi tidak diterbitkan. Malang: Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Saimima, P.C. 2017. *Uji Aktifitas Antibakteri Ekstrak Daun Kecipir (Psophocarpus tetragonolobus L.) terhadap Pertumbuhan Salmonella typhosa*. Skripsi tidak diterbitkan. Ambon: FMIPA Universitas Pattimura.
- Volk dan Wheeler. 1988. *Mikrobiologi Dasar Edisi Kelima*. Jakarta: Erlangga.
- Wasitaningrum, I.D.A. 2009. *Uji Resistensi Staphylococcus aureus dan Echerichia coli dari Isolat Susu Sapi Segar Terhadap Beberapa Antibiotik*. Skripsi tidak diterbitkan. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah.
- Widya, D.R., Suryanto, D., Desrita. Tanpa Tahun. *Aktivitas Antimikroba Biji Teratai (Nymphaea pubescens L.) Terhadap Bakteri Aeromonas hydrophila, Streptococcus agalactiae dan Jamur Saprolegnia sp.* Sumatera Utara: Program Studi Manajemen Sumberdaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Sumatera Utara.
- Yanti, A.H., Anita, A., dan Khotimah, S. 2014. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Benalu Jambu Air (Dendrothoe pentandra (L.) Miq) Terhadap Pertumbuhan Salmonella thypi*. *Jurnal Biologi*. Vol. 3.