

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN INSULIN
(*Smallanthussonchifolius*) TERHADAP BAKTERI *Bacillus cereus*
ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF INSULIN LEAF ETHANOL EXTRACT
(*Smallanthussonchifolius*) AGAINST *Bacillus cereus***

^{1*}Kesaktian Manurung, ¹Ahmad Ghazali, ¹Ahmad Hafizullah, ¹Ulfayani Mayasari
¹Program Studi S1 Farmasi, Universitas Sari Mutiara Indonesia

Korespondensi penulis: Universitas Sari Mutiara
Email: kesaktianmanurung56@gmail.com

Abstrak. Daun insulin dikenal sebagai salah satu bahan obat tradisional. Daun insulin mengandung zat potensial seperti Tanin, Alkaloid, Flavonoid, Saponin, dan Terpenoid yang memiliki kemampuan anti bakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas ekstrak etanol daun insulin sebagai anti bakteri. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang meliputi pengumpulan dan pengolahan sampel daun insulin, pemeriksaan karakteristik Simplisia, penapisan fitokimia, pengujian metode difusi antibakteri dengan menggunakan disk paper brace dan menggunakan metode analisis One Way Anova. Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak etanol dapat menghambat pertumbuhan bakteri pada konsentrasi 50 - 60% dengan potensial resistor rata-rata mencapai 14,8 – 17,83 mm sedangkan Ampisilin sebagai kontrol pembandingan rata-rata 33,62 mm. Sehingga ekstrak etanol daun insulin efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* dengan konsentrasi resistensi minimal 60 mg/ml.

Kata kunci : Antibakteri, *Bacillus cereus*, Ekstrak daun insulin

Abstract. *Insulin leaves are known as one of the ingredients of traditional medicine. Insulin leaves contain potential substances such as tannins, alkaloids, flavonoids, saponins, and terpenoids which have antibacterial abilities. This study aims to determine the effectiveness of insulin leaf ethanol extract as an antibacterial. This research is an experimental study that includes the collection and processing of insulin leaf samples, examination of the characteristics of Simplisia, phytochemical screening, testing of the antibacterial diffusion method using a disk paper brace, and using the One Way ANOVA analysis method. The test results showed that the ethanol extract could inhibit bacterial growth at a concentration of 50 - 60% with an average resistor potential of 14.8 - 17.83 mm while Ampicillin as a comparison control averaged 33.62 mm. So that the ethanol extract of insulin leaves was effective in inhibiting the growth of *Bacillus cereus* bacteria with a minimum resistance concentration of 60 mg/ml.*

Keywords: Antibacterial, *Bacillus cereus*, insulin leaf extract

PENDAHULUAN

Daun insulin mempunyai banyak khasiat yaitu sebagai obat penguat hati, sebagai anti microbial untuk ginjal dan infeksi kandung kemih, sebagai antioksidan dan kemudian dapat menurunkan kadar gula darah serta dapat meningkatkan efek insulin, kemudiandaun insulin juga memiliki banyak manfaat lainnya seperti mengatasi mencegah konstipasi, mengurangi resiko kanker usus. Akar insulin telah digunakan sebagai obat tradisional untuk mengobati hiperglikemia, masalah ginjal dan peremajaan kulit [1]. Daun Insulin berasal dari Mexico, nama lokal untuk tanaman ini yaitu rondo semoyo, kembang bulan, kayupaik, kipait, yakon dan harsaga. Tanaman ini jarang sekali dibudidayakan dengan sengaja melainkan hanya digunakan sebagai tanaman pagar. Tanaman yg dikenal dengan Mexican Sunflower ini memiliki ciri-ciri berdaun menjari, batang berkayu dengan tinggi 1 meter dan memiliki bunga menyerupai bunga matahari. Diluar negeri tanaman ini biasa digunakan sebagai anti diabetes oleh masyarakat. Taiwan sedangkan dinegara Kenya tanaman ini digunakan untuk mengatasi gangguan pencernaan, sementara di Nigeria, tanaman daun insulin inibiasa di gunakan oleh masyarakat untuk obat malaria, liver, dan radang tenggorokan [2]. Menurut penelitian menunjukkan bahwa daun insulin kaya akan protein dan senyawa fenolik selain itu, daun insulin memiliki aktivitas anti bakteri terhadap bakteri *Salmonella thypimurium*, dengan waktu jam 28 dan 40 memiliki zona hambat 14 mm dan 15,50 mm [3]. Metode perkolasi memberikan rendemen ekstrak dan kadar fenolik total yang lebih tinggi dari soxhletasi dan maserasi, yang berarti

metode perkolasi dapat mengekstraksi metabolit sekunder lebih maksimal. Berdasarkan latar belakang tersebut, maka dilakukan penelitian determinasi total flavonoid, total fenolik, dan aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun insulin [4].

BAHAN DAN METODE

Alat

Autoklaf (hirayama), aluminium foil, kapas, lampu spritus (local), gelasukur (iwaki), timbangan analitik, gelas beaker, hot place, incubator (memmert), korek api, oven (memmert), pisau, kaca arloji, tabung reaksi, volume pipet, pinset, pipet tetes, batang pengaduk, penan gas air, corong,erlemeyer (iwaki), ose steril, water bath (GFL), cawan petri, vial, penggaris, jangka sorong, micro pipet.

Bahan

Bahan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol daun-daun insulin (*Smallanthussonchifolius*), *Nutrient Agar* (NA), *Muller Hinton Agar* (MHA), biakan bakteri (*Bacillus cereus*), DMSO 10%, FeCl₃ 5%, Magenesium (Mg), amil alcohol, klorahidrat, HCL Pekat, H₂SO₄ pekat, kloroform, pereaksi mayer, dragendorf, bouchardat, alcohol, etanol 70%, NaCL 10%, spritus, serta bahan kimia lainnya

Prosedur Penelitian

1. Ekstraksi

Sebanyak 600 gr serbuk daun-daun insulin ditimbang dimaserasi dengan 4,5 L etanol 70% pada suhu kamar selama 5 hari, lalu disaring. Kemudian ampas direm aserasi dengan 1,5 mL etanol 70% pada suhu kamar selama 2 hari, lalu disaring dan filtrate dikumpulkan. Filtrat dipekatkan dengan rotary evaporator pada suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak yang masih mengandung pelarut dalam volume yang kecil. Penguapan pelarut ekstraksi dilanjutkan dengan menggunakan oven pada suhu 40 °C hingga diperoleh ekstrak kental[5].

2. Pembuatan Media

Media *Muller Hinton Agar* (MHA) sebanyak 23 gram dimasukkan kedalam erlemeyer lalu dilarutkan dengan menambahkan 1 L akuades, kemudian dipanaskan hingga mendidih di atas *shot plate* sambil dihomogenkan dengan menggunakan *magnetic stirrer*. Sebanyak 37gram serbuk NA ditimbang kemudian dilarutkan dalam 1 L air suling steril dan dipanaskan di waterbath sampai semua bahan terlarut sempurna, kemudian disterilkan di autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

3. Pembuatan Media Agar Miring

Kedalam tabung reaksi yang steril dimasukkan 3 ml media nutrient agar steril, didiamkan pada temperature kamar sampai membeku pada posisi miring membentuk suhu 45°C. Kemudian disimpan pada lemari pendingin pada suhu 45°C [5].

4. Larutan Standar Mc Farland No. 05

Komposisi: Larutan BaCl₂ 0,048 M sebanyak 0,5 ml, larutan H₂SO₄ 0,18 M sebanyak 99,5 ml. kedua larutan dicampurkan dalam tabung reaksi steril, dikocok sampai homogen dan ditutup. Apabila kekeruhan hasil suspensi bakteri sama dengan kekeruhan suspensi standar berarti konsentrasi bakteri 10⁸ CFU/ml [6].

5. Pemiakan Stok Kultur Bakteri

Satu koloni bakteri diambil dengan menggunakan jarum osekecil, lalu diinokulasi pada permukaan media *Nutrient Agar* (NA) miring dengan cara menggores dengan bentuk zig-zag, kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam [7].

6. Pembuatan Inokulum Bakteri

Koloni bakteri diambil dari stok kultur bakteri yang telah tumbuh pada media *Nutrient agar* miring diambil dengan menggunakan jarum ose steril. Koloni bakteri tersebut kemudian disuspensikan kedalam tabung yang berisi 10 ml larutan NaCl steril diinkubasi hingga didapat kekeruhan yang sama dengan standar 0,5 Mc Farland yaitu 10^8 CFU/ml, kemudian dilakukan pengenceran suspensi bakteri dengan memipet 0,1 inokulum bakteri lalu dimasukkan kedalam tabung reaksi yang telah berisi larutan NaCl sebanyak 9 ml dan divortex hingga homogen, maka didapat konsentrasi suspensibakteri 10^6 CFU/ml [8].

7. Pembuatan Larutan Uji Ekstrak Etano l Daun insulin dengan Berbagai Konsentrasi

Ekstrak daun insulin dilakukan pengenceran dengan berbagai konsentrasi yaitu 10%, 20%, 30%, 40%, dan 50%. Bahan pengencer yang digunakan adalah DMSO 10%. Pembuatan konsentrasi 20% (20g/100 ml atau 2g/10 ml). Ekstrak etanol daun sawo manila ditimbang sebanyak 2 g kemudian dicukupkan dengan DMSO 10% hingga 10 ml, begitu seterusnya untuk konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40%, dan 50%. Kontrol positif menggunakan Ampicillin dilarutkan dengan DMSO 10%. Kontrol negatif menggunakan DMSO 10%.

8. Pengujian Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun insulin Terhadap Bakteri *Bacillus cereus*

Sebanyak 0,3ml inokulum dimasukkan ke dalam cawan petri steril, setelah itu dituang media MHA yang telah dicairkan sebanyak 20 ml dengan suhu 45-50°C dihomogenkan dan dibiarkan sampai media memadat. Pada media yang telah padat diletakkan kertas cakram dengan diameter 5 mm yang telah direndam selama 10-15 menit terlebih dahulu didalam suspense control positif, suspensi control negatif dan larutan bahan uji ekstrak daun insulin dengan konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40%, dan 50% di inkubasi pada suhu $35 \pm 2^\circ\text{C}$ selama 18-24 jam. Selanjutnya diukur diameter daerah hambat di sekitar larutan bahan uji dengan menggunakan jangka sorong dan dilakukan pengulangan sebanyak lima kali.

HASIL DAN PEMBAHASAN

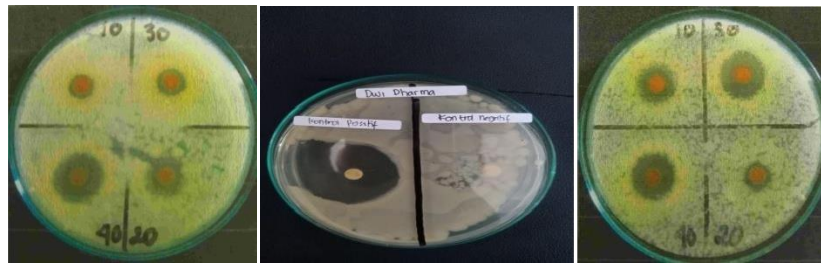
Berdasarkan hasil penelitian uji skrining fitokimia dengan pereaksi yang berbeda menunjukkan bahwa ekstrak daun insulin (*Smallanthussonchifolius*) mengandung golongan senyawa metabolit sekunder, hasil uji fitokimia dapat dilihat pada **Tabel 1**. Golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak etanol daun insulin (*Smallanthussonchifolius*) terdiri dari flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin. Hal ini dapat dilihat dari perubahan yang terjadi pada ekstrak etanol daun insulin (*Smallanthussonchifolius*) yang telah diberikan larutan pereaksi.

Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia Pada Ekstrak daun insulin.

No	Senyawa Metabolit Sekunder	Hasil
1	Alkaloid	+
2	Flavonoid	+
3	Saponin	+
4	Tanin	+
5	Glikosida	-
6	Triterpenoid	-
7	Steroid	-

Keterangan : (+) = mengandung golongan senyawa ; (-) = tidak mengandung golongan senyawa

Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun-daun insulin (*Smallanthussonchifolius*) terhadap bakteri *bacillus cereus* menunjukkan adanya zona hambat. Uji ini dilakukan terhadap beberapa perlakuan konsentrasi ekstrak etanol daun sawo manila yaitu 10%, 20%, 30%, 40% dan 50%, control positif (+) Ampicillin dan control negatif (-) DMSO 10%.

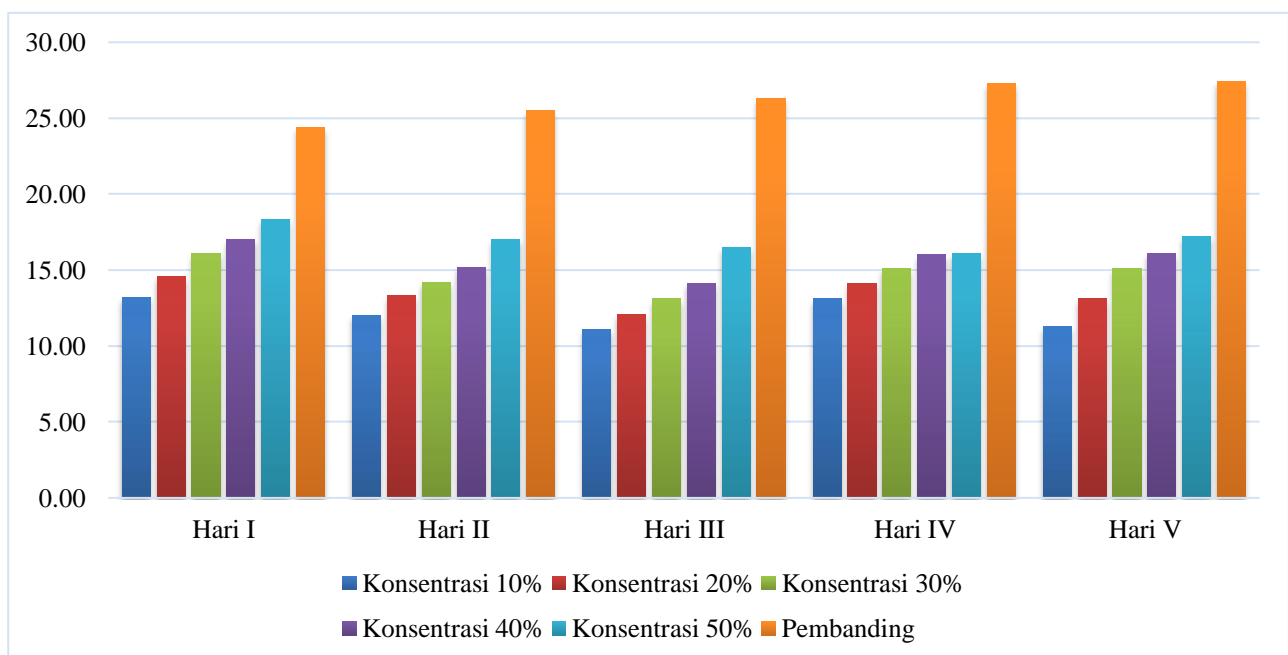


Gambar 1. Zona Hambat Ekstrak daun insulin (*Smallanthussonchifolius*) Terhadap Bakteri *Bacillus cereus*

Tabel 2. Nilai Rata-Rata Diameter Zona Hambat Ekstrak daun insulin (*Smallanthussonchifolius*) Terhadap Bakteri *Bacillus cereus*

No	Pengulangan					Konsentrasi (%) 10%
	(Hari)	10%	20%	P4	(Hari)	
1	I	13,20	14,60	1	I	13,20
2	II	12,00	13,30	2	II	12,00
3	III	11,10	12,10	3	III	11,10
4	IV	13,10	14,10	4	IV	13,10
5	V	11,30	13,10	5	V	11,30
Kontrol Positif						

Hasil uji Tukey menyatakan bahwa perbedaan masing-masing konsentrasi ekstrak yang diujikan pada bakteri *Bacillus cereus* menunjukkan hasil yang berbeda nyata. Konsentrasi ekstrak 10% dan 20% menunjukkan hasil yang berbeda nyata begitu selanjutnya dengan konsentrasi 30%, 40% dan 50% memiliki hasil yang berbeda dengan masing-masing konsentrasi. Syarat daerah hambat efektif apabila menghasilkan batas daerah hambatan dengan diameter lebih kurang 14 mm sampai 16 mm. Kriteria kekuatan daya hambat anti bakteri sebagai berikut diameter zona hambat 5 mm atau kurang dikategorikan Lemah, zona hambat 5-10 mm dikategorikan Sedang, zona hambat 10-20 mm di kategorikan Kuat dan zona hambat >20 mm dikategorikan Sangat kuat. Jadi pada penelitian ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi 10% (11,30 mm), 20% (13,10 mm), 30% (15,10 mm), 40% (16,12 mm), 50% (17,23 mm) di katogorikan zona hambatkuat. Zona hambat yang paling efektifadalah pada konsentrasi 20%, 30%, 40%, 50%.



Gambar 2. Grafik zona hambat bakteri *Bacillus cereus*

Pembahasan

Aktivitas penghambatan *Bacillus cereus* oleh ekstrak etanol daun insulin (*Smallanthussonchifolius*.) dapat disebabkan oleh adanya pengaruh senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak tersebut. Pengujian fitokimia pada ekstrak etanol daun insulin (*Smallanthussonchifolius*.) menunjukkan hasil yang positif untuk golongan senyawa tanin, flavonoid, alkaloid, dan saponin. Kandungan metabolit sekunder yang terdapat dalam tumbuhan berbeda-beda karena dipengaruhi oleh faktor lingkungan. Daun sawo manila mengandung senyawa flavonoid yaitu naringin, hesperidin, rutin, nobiletin, dan tangeretin. Flavonoid merupakan golongan terbesar dari senyawa polifenol yang dapat bekerja sebagai antioksidan dan juga sebagai antibakteri dengan mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak sel bakteri yang tidak dapat diperbaiki lagi. Selain itu flavonoid menghambat sintesis asam nukleat bakteri, menghambat fungsi membran sitoplasma bakteri dengan melakukan permeabilitas dinding sel bakteri dan menghambat energi metabolisme sel bakteri[9]. Mekanisme kerja tanin sebagai bahan antibakteri antara lain melalui perusakan membran sel bakteri karena toksisitas tanin dan pembentukan ikatan kompleks ion logam dari tanin yang berperan dalam toksisitas tanin. Bakteri yang tumbuh dalam kondisi aerob memerlukan zat besi untuk berbagai fungsi, termasuk reduksi dari prekursor ribonukleotida DNA, adanya ikatan antara tanin dan besi akan menyebabkan terganggunya berbagai fungsi bakteri. Mekanisme kerja saponin sebagai anti bakteri adalah menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar. Senyawa ini berdifusi melalui membran luar dan dinding sel yang rentan, lalu mengikat membran sitoplasma dan mengganggu dan mengurangi kestabilan sistem tersebut[9]. Hasil uji aktivitas anti bakteri ekstrak etanol daun insulin (*Smallanthussonchifolius*.) Dengan variasi konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40%, dan 50% dan kontrol positif menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Bacillus cereus* yang ditandai terbentuknya zona hambat disekitar kertas cakram. Analisa statistik yang digunakan dalam penelitian ini merupakan analisa data ANOVA (*one wayanova*), sebelum dilakukan uji anova data harus berdistribusi normal dan data varians bersifat homogeny merupakan salah satu syarat untuk melakukan uji anova. Data diameter daya hambat pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* pada variasi konsentrasi ekstrak daun insulin menggunakan analisis uji Kolmogorov-Smirnov menunjukkan nilai signifikan sebesar 0,265, 0,910, 0,814, 0,873, 0,776, 0,550 ($p > 0,05$) yang menunjukkan bahwa data berdistribusi normal dari nilai signifikan ($p > 0,05$) yang menunjukkan bahwa data variasi bersifat normal sehingga dapat dilakukan uji anova yaitu yang dimana menunjukkan nilai signifikan sebesar 0,000 ($p < 0,005$) menunjukkan bahwa ekstrak daun insulin memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Bacillus cereus* dan untuk nilai signifikan ($< 0,005$).

KESIMPULAN

Penelitian uji aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol daun insulin (*Smallanthussonchifolius*) diatas dapat disimpulkan Ekstrak etanol daun insulin (*Smallanthussonchifolius*) memiliki aktivitas terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus*. Dan ekstrak etanol insulin (*Smallanthussonchifolius*) memiliki aktivitas anti bakteri pada konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40%, dan 50%. Uji statistik *One way ANOVA* didapatkan nilai $p < 0,05$ sehingga dapat disimpulkan bahwa seluruh konsentrasi menunjukkan perbedaan diameter hambat yang signifikan antar seluruh kelompok perlakuan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan banyak terimakasih kepada Universitas Sari Mutiara Indonesia yang telah memberikan dukungan terhadap penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Baroni, *et al.* Effect of leaves of *Smallanthussonchifolius* (*Yakon*) on glycemia in diabetic rats: Revista Brasileira de Ciencias Farmaceuticas. 2018.
- [2] Hidayat, Syamsul dan Rodame M. Napitupulu. 2015. *Kitab Tumbuhan Obat*. Jakarta: Agriflo
- Ngantung, Daniel. 2012. Indonesia beresiko jadi juara penyakit diabetes terparah dunia tahun 2030.

-
- [3] Adindaputri, Z 2013, Pengaruh ekstrak kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* swingle) konsentrasi 10% terhadap aktivitas enzim glukosil transferase streptococcus mutans. *Majalah Kedokteran Gigi*. 20(2):126 – 131.
- [4] Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. 1986. *Mikrobiologi untuk profesi kesehatan*. Edisi XVI. Penerjemah: Bonang, G. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran.
- [5] Ditjen POM. (1995). *Materia Medika Indonesia*. Jilid IV. Jakarta Departemen Kesehatan RI. Hal, 173-176
- [6] Astutiningrum, T. 2010. Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun kemikir (*Cosmos caudatuskunth*). Terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara in vitro *Naskah Skripsi*. Universitas sanatadarma, Yogyakarta
- [7] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1995). *Farmakope Indonesia*. Edisi IV. Jakarta :Depkes RI
- [8] Sirait, M. (2010). Penuntun fitokimia dalam farmasi. Bandung: ITB. Halaman 5,103, 168 – 170. *Technological, Toxilogical and Health Perspectives*. Marcel Dekker Inc., Hongkong: 76-77.
- [9] Basuki, R. D., dan Wiyono, S, A. (2015). Pengembangan dan Uji Antibakteri Ekstrak Daun Insulin (*Smallathussonchifolius*) Sebagai Lotion Terhadap staphylococcus aureus. *Jurnal wijaya*, 2(1), Halaman 87-92.