

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK BUNGA *Jasminum sambac* Ait. TERHADAP
PERTUMBUHAN BAKTERI *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Shigella flexneri*
ATCC 1202**

***Antibacterial Activity Assay Of Jasminum sambac* Ait. Flower Extract On The Growth
Of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Shigella flexneri* ATCC**

Maghfiroh, Erny Qurotul Ainy

UIN Sunan Kalijaga, Yogyakarta

E-mail : cie-ivie@yahoo.com

Abstrak- Tanaman melati (*Jasminum sambac* Ait.) berpotensi dimanfaatkan sebagai tanaman obat karena adanya senyawa metabolit sekunder pada akar, batang daun dan bunga. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan ekstraksi dan penapisan awal senyawa aktif bunga melati yang dilanjutkan dengan pengujian aktivitas antibakterinya. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi bertingkat dengan menggunakan tiga pelarut yaitu kloroform, etil asetat dan etanol. Pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi agar menggunakan kertas cakram dengan pelarut etil asetat pada variasi konsentrasi 20%, 30%, 40% dan 50%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak bunga *J. sambac* Ait. mempunyai tingkat kepolaran yang berbeda. Hasil penapisan awal terhadap aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat mempunyai daya hambat terbesar terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Shigella flexneri*. Zona hambat terbesar pada pengujian aktivitas antibakteri dihasilkan oleh ekstrak etil asetat dengan konsentrasi 50% terhadap bakteri *S.aureus*.

Kata kunci : antibakteri, ekstraksi, *Jasminum sambac*

PENDAHULUAN

Pemanfaatan bunga melati (*J. sambac*) sebagai obat tradisional disebabkan kandungan senyawa aktif yang dimilikinya, Penapisan senyawa aktif pada melati putih (*J. sambac*) mengungkapkan adanya dotrikontanol, asam oleanolik, daukosterol hesperidin dan dotriakontanik asam yang diisolasi dari akar (Zheng dkk., 2004). Krishnaveni dkk., (2011) melaporkan adanya kandungan alkaloid, glikosida, dan tanin pada daun melati. Kandungan senyawa aktif seperti alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin pada *J. sambac* juga dapat berfungsi sebagai antiseptik sehingga dapat dimungkinkan bahwa tanaman yang mengandung senyawa ini dapat digunakan sebagai antibakteri.

Minyak esensial dan ekstrak metanol bunga *J. sambac* dilaporkan memiliki aktivitas antimikroba terhadap *Enterococcus faecalis* CIP 103907, *Eschericia coli* CIP 105182, *Salmonella enteric* CIP

105150, *Streptococcus pyogenes* dan *Bacilus cereus* saat diuji dengan menggunakan metode difusi cakram dan metode pengenceran (Latif dkk., 2010). Priya dan Patric (2008) melaporkan bahwa ekstrak akar melati putih (*J. sambac*) dan melati hutan (*J. gradiflorum*) efektif sebagai antibakteri. Hasil pengujian aktivitas antibakteri dan antifungi yang dilakukan Reema dan Adel (2011) menunjukkan bahwa ekstrak bunga melati putih menghasilkan diameter zona hambat yang lebih besar daripada ekstrak daunnya.

Penelitian mengenai ekstrak bunga melati putih sebagai bahan antibakteri telah banyak dilakukan, akan tetapi penelitian tentang ekstraksi senyawa aktif bunga melati putih dengan berbagai macam pelarut yang berbeda tingkat kepolarannya belum pernah dilakukan. Oleh karena itu perlu dilakukan ekstraksi senyawa aktif bunga melati putih dengan menggunakan tiga pelarut yang berbeda tingkat

kepolarannya agar semua senyawa aktif yang terdapat pada bunga melati putih diharapkan dapat terekstrak, baik senyawa yang bersifat non polar, semi polar dan polar. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh ekstrak bunga *J. sambac* yang dapat memberikan efek penghambatan terbesar terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* ATCC 25923 dan *S. flexneri* ATCC 12022 serta mekanisme penghambatannya.

METODE PENELITIAN

Ekstraksi bunga melati

Potongan bunga *J. sambac* yang telah dicuci dikeringanginkan kemudian dihaluskan dan hasilnya ditimbang. Selanjutnya bunga dimaserasi dengan menggunakan pelarut kloroform dan ditutup rapat dengan kapas dan *aluminium foil*. Sampel yang telah dimaserasi didiamkan di atas *magnetic stirrer* selama 24 jam pada suhu ruang dengan menggunakan *stirrer bar*. Setelah 24 jam, ampas dan filtrat dipisahkan melalui penyaringan. Bagian ampas tahap ekstraksi kloroform kemudian direndam dengan pelarut etil asetat, dan dimaserasi kembali selama 24 jam dan disaring hingga diperoleh filtrat dan ampas etil asetat. Selanjutnya ampas kedua ini direndam lagi dengan pelarut ketiga berupa etanol kemudian dimaserasi selama 24 jam dan disaring hingga diperoleh filtrat etanol. Masing-masing filtrat kemudian dievaporasi hingga diperoleh ekstrak kloroform, ekstrak etil asetat dan ekstrak etanol yang akan digunakan pada tahap berikutnya (Quinn 1988 dalam Darusman dkk, 1995).

Penapisan awal senyawa antibakteri

Isolat bakteri uji yang digunakan pada penelitian ini adalah *S. aureus* ATCC 25923 dari kelompok bakteri patogen Gram positif dan *S. flexneri* ATCC 12022 dari kelompok bakteri patogen Gram negatif. Kedua bakteri uji dibiakkan pada media NA

miring selama 24 jam pada suhu 37°C. Sebanyak satu ose bakteri dari media NA miring tersebut kemudian dikultur pada media NB (Pranoto dkk., 2005).

Penapisan awal senyawa antibakteri dilakukan dengan menginokulasikan bakteri uji pada medium agar dengan metode *pour plate*. Setelah media memadat, kertas cakram yang masing-masing mengandung ekstrak kloroform, etil asetat, dan etanol dari bunga *J. sambac* diletakkan pada permukaan kultur bakteri uji. Kontrol negatif berupa pelarut kloroform, etil asetat dan etanol. Selanjutnya kultur diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Aktifitas antibakteri dapat diamati dari zona hambat yang terbentuk di sekeliling kertas cakram. Luas zona hambat yang terbentuk menjadi parameter pemilihan ekstrak bunga *J. sambac* yang akan digunakan pada tahapan-tahapan berikutnya.

Uji aktivitas antibakteri ekstrak bunga melati pada konsentrasi yang berbeda

Efek konsentrasi ekstrak bunga *J. sambac* terhadap pertumbuhan bakteri uji dilakukan dengan menempatkan kertas cakram yang mengandung ekstrak pada konsentrasi 20 %, 30%, 40% dan 50% pada permukaan kultur bakteri uji pada medium padat. Selanjutnya semua perlakuan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Zona bening yang terbentuk kemudian diamati dan diukur diameternya (Ardiansyah 2005).

Mekanisme penghambatan senyawa antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri

a) Penentuan *Minimum Inhibitor Concentration* (MIC)

MIC merupakan konsentrasi ekstrak terendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji. Penentuan MIC dilakukan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Shigella flexneri* dengan metode difusi kertas cakram dengan konsentrasi



ekstrak 0,1%, 0,5%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5% dan 6% (Kubo dkk., 1995).

b) Analisis kebocoran sel bakteri uji

Sebanyak 10 mL kultur bakteri uji umur 24 jam disentrifugasi dengan kecepatan 3.500 rpm selama 20 menit. Filtrat kemudian dibuang lalu ditambahkan 5 mL NaCl 0,85% ke dalam endapan sel pada tabung reaksi. Selanjutnya ditambahkan ekstrak etil asetat bunga melati dengan konsentrasi ekstrak 1x MIC dan 2x MIC, kemudian diinkubasi pada *shaker* dengan kecepatan 120 rpm 37°C selama 24 jam. Sebagai kontrol digunakan sel bakteri uji yang sama namun tanpa penambahan ekstrak. Selanjutnya suspensi disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit. Supernatan disaring dengan kertas saring untuk memisahkan selnya. Pengukuran *optical density* cairan supernatan

dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV pada panjang gelombang 260 nm dan 280 nm dengan masing-masing untuk analisis kebocoran asam nukleat dan kebocoran protein (Bundukidkk., 1995).

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Hasil Ekstraksi senyawa aktif pada bunga melati (*J. sambac* Ait.)

Hasil ekstraksi senyawa aktif pada bunga *J. sambac* dilakukan dengan menggunakan metode ekstraksi bertingkat menghasilkan jumlah rendeman yang berbeda. Perbedaan ini diduga karena bunga melati lebih banyak mengandung senyawa polar daripada senyawa lainnya. Selain itu, pelarut polar juga mempunyai kemampuan lebih besar dalam mengekstrak senyawa organik.

Tabel 1. Hasil ekstraksi senyawa aktif bunga *J. sambac* Ait. dengan tiga pelarut yang berbeda

Ekstrak	Berat bahan (g)	Berat ekstrak (g)	Rendeman (%)	Tekstur	Warna
Kloroform	350	1,0345	0,295	Kenyal	Coklat tua
Etil asetat	400	0,717	0,179	Keras	Coklat
Etanol	150	2,481	1,654	Lengket	Coklat kehitaman

Hasil Penapisan awal antibakteri dari senyawa aktif ekstrak bunga melati terhadap *S. aureus* dan *S. flexneri*

Penapisan awal antibakteri dari senyawa aktif ekstrak bunga melati dilakukan

dengan menggunakan konsentrasi ekstrak sebesar 10%. Hasil penapisan awal antibakteri disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil penapisan awal antibakteri dari ekstrak bunga melati terhadap bakteri *S. aureus* dan *S. flexneri* pada konsentrasi 10%

Bakteri Uji	Ekstrak Uji	Rata-rata Diameter Zona Hambat (mm)	Kekuatan Antibakteri (Davis dan Stouth, 1971)
<i>S. aureus</i>	E.K	3,1	Lemah
	E.EA	7,2	Sedang
	E.E	2,7	Lemah
<i>S. flexneri</i>	E.K	5,2	Sedang
	E.EA	7,2	Sedang
	E.E	0	-

Keterangan: E.K = Ekstrak Kloroform, E.EA = Ekstrak Etil Asetat, E.E = Ekstrak Etanol

Ekstrak yang dapat membentuk zona hambat terbesar pada kedua kultur bakteri uji adalah ekstrak etil asetat. Hal ini

diduga karena ekstrak etil asetat memiliki tingkat kepolaran yang optimum. Menurut Kanazawa dan Ikeda (1998) suatu senyawa



yang memiliki tingkat kepolaran optimum mempunyai aktivitas antibakteri maksimum karena interaksi senyawa antibakteri dengan bakteri memerlukan keseimbangan (HLB: *hidrophylic lipophylic balance*). Adapun hasil uji pelarut sebagai kontrol negatif dengan menggunakan pelarut kloroform, etil asetat dan etanol terhadap *S. aureus* dan *S. flexneri* tidak menunjukkan adanya zona hambat yang terbentuk.

Uji aktivitas antibakteri ekstrak bunga *J. sambac* -etil asetat dengan berbagai variasi konsentrasi

Aktivitas antibakteri ekstrak bunga *J. sambac* diuji dengan menggunakan ekstrak etil asetat pada konsentrasi 20%, 30%, 40% dan 50% (b/v). Hal ini disebabkan pada uji sebelumnya, ekstrak etil asetat menghasilkan diameter zona hambat terbesar pada kedua bakteri uji. Hasil pengamatan uji aktivitas antibakteri disajikan pada tabel 4

Tabel 4. Hasil pengamatan uji aktivitas antibakteri ekstrak bunga *J. sambac* dengan etil asetat pada beberapa konsentrasi

Bakteri Uji	Konsentrasi (%)	Rata-rata Diameter Zona Hambat (mm)	Kekuatan Antibakteri
<i>S. aureus</i>	20	4,0	Lemah
	30	4,2	Lemah
	40	3,4	Lemah
	50	4,9	Lemah
<i>S. flexneri</i>	20	1,5	Lemah
	30	3,8	Lemah
	40	3,0	Lemah
	50	4,3	Lemah

Pada tahap ini tampak bahwa ekstrak etil asetat dengan konsentrasi 20%, 30%, 40% dan 50% tidak memberikan zona hambat yang lebih besar dari konsentrasi 10%. Hal ini menunjukkan konsentrasi yang lebih tinggi tidak secara otomatis akan memperbesar zona hambat yang dibentuk. Menurut Dewi (2010) diameter zona hambat tidak selalu berbanding lurus dengan konsentrasi ekstrak. Hal ini diduga terjadi karena adanya perbedaan kecepatan difusi senyawa antibakteri pada media dan faktor lainnya.

Mekanisme penghambatan antibakteri terhadap pertumbuhan *S. aureus* dan *S. flexneri*

Analisis mekanisme penghambatan antibakteri terhadap bakteri uji diawali dengan penentuan *Minimum Inhibitor Concentration* (MIC). Pada tahap ini konsentrasi ekstrak yang digunakan adalah 0,1%; 0,5%; 1%; 2%; 3%; 4%; 5% dan 6%. Hasil uji MIC disajikan pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil uji pengamatan MIC ekstrak bunga *J. sambac* dengan pelarut etil asetat

Konsentrasi ekstrak (%)	<i>S. aureus</i>	<i>S. flexneri</i>
0,1	-	-
0,5	-	-
1	-	-
2	-	-
3	-	-
4	+	-
5	+	+
6	+	+

*Keterangan: (-) : tidak terbentuk zona hambat dan (+) : terbentuk zona hambat

Hasil uji MIC menunjukkan bahwa konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji *S. aureus* dan *S. flexneri* masing-masing adalah 4% dan 5%. Selanjutnya dilakukan pengukuran nilai absorbansi dengan menggunakan spektrofotometri UV pada panjang 260 nm untuk kebocoran molekul

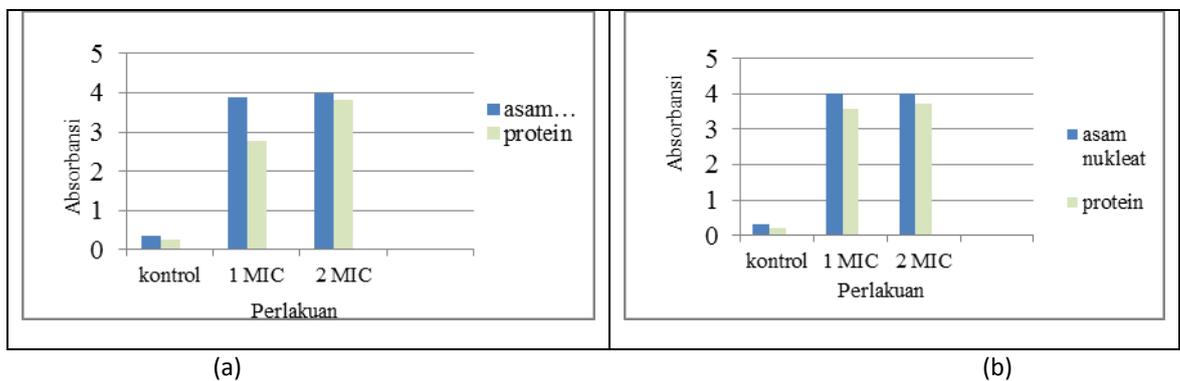


asam nukleat dan 280 nm untuk kebocoran protein. Sementara itu, nilai absorbansi kebocoran sel dengan perlakuan kontrol, 1 MIC dan 2 MIC terhadap *S. flexneri* panjang gelombang 260 nm berturut-turut adalah 0,321; 4 dan 4, sedangkan pada panjang

gelombang 280 nm berturut-turut adalah 0,203; 3,589 dan 3, 714. Kebocoran sel yang terjadi pada kedua bakteri uji menunjukkan bahwa molekul asam nukleat yang dilepaskan lebih tinggi daripada molekulprotein

Tabel 6. Nilai absorbansi pada analisis kebocoran asam nukleat dan protein sel *S. aureus*

Bakteri uji	Panjang gelombang (nm)	Nilai absorbansi		
		Kontrol	1x MIC	2x MIC
<i>S.aureus</i>	260	0,345	3,896	4
	280	0,255	2,783	3,819
<i>S.flexneri</i>	260	0,321	4	4
	280	0,203	3,589	3,714



Gambar 1. Grafik nilai absorbansi kebocoran asam nukleat dan protein pada sel (a) *S. aureus*.(b) *S. flexneri*

KESIMPULAN

Ekstrak potensial bunga melati yang dapat membentuk zona hambat terbesar pada uji penapisan awal yaitu ekstrak etil asetat dengan diameter zona hambat sebesar 7,2 mm baik pada kultur *S. aureus* ATCC 25923 maupun pada kultur *Shigella flexneri* ATCC 12022 dengan kategori kekuatan antibakteri sedang. Konsentrasi ekstrak *J. sambac* Ait.)lebih dari 10% tidak menghasilkan zona hambat yang lebih besar dari 7,2 mm. Aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat bunga *J. sambac* Ait. menyebabkan perubahan permeabilitas membran sel bakteri sehingga terjadi kebocoran asam nukleat dan protein pada sel bakteri *S. aureus* dan *S. flexneri*.

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai mekanisme kerja antibakteri ekstrak etil asetat bunga melati (*J. sambac* Ait.) terhadap ion K^+ dan Ca^{2+} serta pengamatan morfologi sel bakteri *S. aureus* dan *S. flexneri* dari perlakuan uji kebocoran sel.

DAFTAR PUSTAKA

Ardiansyah, (2005). *Daun Beluntas Sebagai Bahan Antibakteri dan Antioksidan Artikel Penelitian*. Diakses 24 Juli 2012 <http://www.beritaiptek.com/zberita-beritaiptek>.
 Bunduki, M.M.C., Handler, K.J., Donnell, N.C. (1995). Metabolic and structural sites of damage in heat and sanitizer injured population of *Listeria monocytogenes*. *Food Protect*, 58, 410-415.
 Darusman L.K.D., Sajuthi, Komar, & Pamugkas. (1995). *Ekstraksi Komponen Bioaktif*



- sebagai Bahan Obat dari Karang-Karangan, Bunga Karang dan Ganggang di Perairan P. Pari Kepulauan Seribu Tahap II: Fraksinasi dan Bioassay. Kimia No. 10. Bogor: FMIPA. IPB.
- Dewi, F.K. (2010). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Morindacitrifolia* L.) terhadap Bakteri Pembusuk Daging Segar.[Skripsi S-1], Biologi FMIPA.Universitas Sebelas Maret: Surakarta.
- Jawetz, & Adelberg's. (2005). *Mikrobiologi Kedokteran*. Penerjemah: Mudihardi, E., Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Edisi 1. Surabaya: Salemba Medika.
- Kanazawa, A., Ikeda. (1998). *Laboratory Handbook for the Fractionation of Natural Extract*. London: Chapman & Hall.
- Krishnaveni, A., Santh, Rani., T. (2011). *Prelimnar Pharamcognostical and Phytochemical Standardization of Jasminum sambac*. Int.Journal Pharmacy and Res Develop.2011; 3(5):77-82.
- Latif, F.A., Edou, P., Eba, F., Mohamed, N., Ali, A., Djama, S., Obame, L.C., Bassolé, I., Dicko, M. (2010). *Antimicrobial and Antioxidant Activities of Essential Oil and Methanol Extract of Jasminum sambac from Djibouti*," African Journal of Plant Science ;4 (3): 038-043.
- Kubo, I., Muroi, H, Kubo, A. (1995). Antibacterial activity of long-chain alcohols against *Streptococcus mutans*.*J. Agric Food Chem* 40 (6), 999-1003.
- Pranoto, Y., Salokhe, V.M.,& Rakshit, S.K. (2005). Physical and Antibacterial Properties of Alginate-based Edible Film Incorporated with Garlic Oil. *Food Research International* 38: 267-272.
- Priya Joy and D. Patric Raja (2008). *Antibacterial activity of Jasminum grandiflorum and Jasminum sambac*. Departement of Plant Biology and biotechnological: India
- Reema, A.H., & Adel, M.M. (2011). *Antibacterial and Antifungal Activity of Extract of different Medicinal Plants in Jordan*. Departement of Biological Science, University of Jordan, Jordan.
- Zheng, Z, Bao, B., Jian., Y., Xiu, T. (2004). *Studies On Chemical Constitutents In Roots Of Jasminum sambac*. Zhongguo Zhong Yao Za Zhi., 29(3): 237-239.

