

**Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Daun Mimba (*Azadirachta Indica A.Juss*) Terhadap *Salmonella Typhi* Secara *In Vitro*.**

**Antimicrobial Activity Assay in Leaf Extract of Neem (*Azadirachta Indica A.Juss*) against *Salmonella Typhi in vitro*.**

Ni Luh Yuli Ariani

Program Studi Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang

Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang

**ABSTRAK**

*Salmonella Typhi* merupakan salah satu bakteri penyebab terjadinya demam enterik atau demam tifoid, yang bersifat sistemik dan dapat mengakibatkan kematian apabila tidak diberikan terapi dengan benar. Pada tahun 2011 demam tifoid menjadi penyakit dengan jumlah kasus rawat inap tertinggi ketiga di Indonesia. Antibiotik merupakan pengobatan yang masih menjadi pilihan untuk mengobati penyakit demam tifoid. Namun kini telah ditemukan beberapa jenis antimikroba yang sudah tidak efektif lagi dalam melawan infeksi *S.Typhi*. Daun mimba diketahui memiliki kandungan flavonoid, tanin dan alkaloid yang memiliki efek sebagai antimikroba. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antimikroba ekstrak daun mimba terhadap *S.Typhi* dengan metode difusi sumuran. Parameter aktivitas antimikroba yang diamati adalah terbentuknya zona inhibisi disekitar lubang sumuran. Ekstrak daun mimba yang digunakan, yaitu 0%, 5%, 10%, 20% dan 40% dengan menggunakan empat isolat *S.Typhi*. Rata-rata diameter zona inhibisi yang terbentuk pada konsentrasi 0%, 5%, 10%, 20%, dan 40% berturut-turut adalah 0 mm, 5,75 mm, 11 mm, 14,75 mm, dan 18,25 mm. Dari hasil analisis yang dilakukan didapatkan bahwa setiap peningkatan konsentrasi ekstrak daun mimba akan diikuti dengan penambahan diameter zona inhibisi yang terbentuk disekitar lubang sumuran (korelasi Pearson,  $p = 0,00$ ). Kesimpulan yang didapatkan pada penelitian ini adalah ekstrak daun mimba (*Azadirachta indica A.Juss*) memiliki efek sebagai antimikroba terhadap *S.Typhi* secara *in vitro*.

Kata kunci : *Salmonella Typhi*, ekstrak daun mimba, antimikroba.

**ABSTRACT**

*Salmonella Typhi* bacteria is one of the causes of the occurrence of enteric fever or typhoid fever, which is can result systemic infection and can result in death if not given therapy properly. In 2011 typhoid fever became a disease with the number of cases of hospitalization the third-highest in Indonesia. Antibiotic treatment is still first choice for treating typhoid fever. But now it has been found some type of antimicrobial that is no longer effective to fight against infection of *S. Typhi*. The leaves neem contain flavonoids, tannins and alkaloids which have effect as antimicrobial. This research aims to know the antimicrobial activity of leaves extracts of neem against *S. Typhi* by diffusion method. Antimicrobial activity of note with the formation of the inhibition zone around the hole. Leaf extract of neem is used, i.e. 0%, 5%, 10%, 20% and 40% by using four bacterial isolate. The mean diameter of the inhibition zone that formed at concentrations of 0%, 5%, 10%, 20%, and 40% respectively is 0 mm, 5.75 mm, 11 mm, 14.75 and 18.25 mm. Analysis statistic result that higher concentration of leaf extract of neem the greater diameter of inhibition zones were formed (pearson correlation,  $p = 0,00$ ) The conclusions obtained in this research is the leaf extract of neem (*Azadirachta indica A. Juss*) has an antimicrobial effect as against *S. Typhi* in *in vitro*.

Keyword : *Salmonella Typhi* , leaf extract of neem, antimicrobial agent

## PENDAHULUAN

Demam tifoid merupakan salah satu penyakit endemik yang bersifat sistemik akibat infeksi bakteri *S. Typhi*. Demam tifoid masih sering terjadi terutama pada negara-negara berkembang termasuk Indonesia yang masih memiliki masalah tentang ketersediaan air bersih dan sanitasi yang kurang baik.<sup>1</sup>

Penyakit demam tifoid bukanlah infeksi yang bisa diremehkan karena merupakan salah satu penyakit sistemik yang berbahaya jika tidak diatasi dengan benar. Tercatat pada tahun 2011 sebanyak 55.098 orang pasien dirawat inap dan sebanyak 274 orang meninggal akibat demam tifoid serta menjadikan kasus demam tifoid menjadi penyakit ketiga yang paling besar pasien rawat inapnya di rumah sakit di Indonesia.<sup>2</sup>

Pengobatan infeksi oleh bakteri *S.Typhi* biasanya dilakukan dengan pemberian obat-obat antibiotik. Namun, karena penggunaan antibiotik dimasyarakat yang tidak terkontrol dan sering digunakan sembarangan menyebabkan terjadinya resistensi antibiotik.<sup>3</sup> Pada suatu penelitian disebutkan bahwa terdapat bakteri *S.Typhi* yang *multidrug resistance* terhadap ampicillin dan kloramfenikol.<sup>4</sup>

Indonesia merupakan negara kepulauan yang memiliki kekayaan alam yang berlimpah, termasuk kekayaan akan tumbuh-tumbuhan. Sejak ratusan bahkan ribuan tahun lalu masyarakat percaya terhadap pengobatan tradisional dari berbagai tanaman. Salah satu tanaman yang dipercaya memiliki berbagai manfaat adalah tanaman mimba. Tanaman mimba atau dalam bahasa latin disebut *Azadirachta indica A.Juss* telah dipercaya sebagai tanaman dengan banyak kegunaan, salah satunya sebagai antimikroba. Tanaman mimba diketahui memiliki kemampuan untuk melawan berbagai jenis mikroba.<sup>5</sup>

Penelitian tentang mimba telah banyak dilakukan, salah satunya tentang kandungan antimikroba yang terdapat pada ekstrak daun mimba. Hasil dari analisis fitokimia pada ekstrak daun mimba ditemukan beberapa macam zat aktif yang memiliki efek sebagai antimikroba, yaitu alkaloid, tanin dan flavonoid.<sup>6</sup> Flavonoid memiliki mekanisme sebagai antimikroba salah satunya dengan menghambat sintesis DNA/RNA pada bakteri, sedangkan

senyawa tanin memiliki kemampuan dalam merusak dinding sel bakteri dengan mengganggu polipeptida dari dinding sel bakteri.<sup>7</sup> Senyawa alkaloid dapat menyebabkan terhambatnya pertumbuhan sel bakteri dengan mengganggu penyusunan peptidoglikan sehingga dinding sel bakteri tidak terbentuk secara sempurna.<sup>8</sup> Berdasarkan uraian diatas daun mimba memiliki potensi sebagai antimikroba, sehingga dapat dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efektivitas ekstrak daun mimba sebagai antimikroba terhadap bakteri *S. Typhi*. Melalui penelitian ini diharapkan daun mimba dapat menjadi alternatif pengobatan untuk mengobati infeksi bakteri *S. Typhi*.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk membuktikan ekstrak daun mimba memiliki efek antimikroba terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella Typhi* secara *in vitro*. Melalui penelitian ini diharapkan dapat diperoleh pengobatan alternative dengan menggunakan bahan alam dan dapat memperkaya pengetahuan tentang manfaat daun mimba sebagai antimikroba.

## METODE PENELITIAN

Desain penelitian yang digunakan adalah *true experimental design* dengan *post test only control grup design*. Uji antimikroba dilakukan secara *in vitro* untuk mengetahui efektivitas antimikroba ekstrak daun mimba (*Azadirachta indica A.Juss*) terhadap pertumbuhan *Salmonella Typhi*. Proses ekstraksi dari daun mimba (*Azadirachta indica A.Juss*) menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%. Bakteri yang digunakan sebanyak empat isolat *S.Typhi* yang sudah dilakukan uji identifikasi bakteri yaitu dengan uji pewarnaan Gram, kultur BSA dan kultur MacConkey.

Penelitian dilakukan pada bulan Mei – Agustus 2016 di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Variabel bebas dari penelitian ini adalah ekstrak daun mimba dengan konsentrasi 0%, 5%, 10%, 20%, dan 40% yang ditentukan dari penelitian pendahuluan. Sedangkan variabel terikat dari penelitian ini adalah diameter zona inhibisi yang terbentuk disekitar lubang sumuran yang diukur dengan cara mengurangi diameter total yang

terbentuk dengan diameter lubang sumuran.<sup>9</sup> Hasil yang didapatkan dari penelitian ini kemudian dianalisis dengan uji *One Way ANOVA*, uji post-hoc Tukey dan uji korelasi.

## HASIL

### *Ekstraksi daun mimba*

Daun mimba yang sudah dihaluskan sebanyak 300 gr diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70% menghasilkan ekstrak cair sebanyak 40 ml dan berwarna hijau kehitaman.

### *Identifikasi Bakteri*

Hasil identifikasi bakteri *S.Typhi* dengan pewarnaan gram menunjukkan bakteri gram negatif dan berbentuk batang. Kultur BSA menunjukkan bahwa koloni bakteri berwarna hitam (*black jet colony*), dan pada kultur MacConkey menunjukkan koloni bakteri berwarna pucat (*colorless colony*).

### *Uji sensitivitas daun mimba terhadap S.Typhi*

Hasil pengamatan pada plate setelah inkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C menunjukkan bahwa zona inhibisi dapat terlihat pada konsentrasi ekstrak daun mimba dengan presentasi 5%, 10%, 20%, dan 40%. Diameter zona inhibisi yang terbentuk selalu meningkat sejajar dengan peningkatan konsentrasi ekstrak daun mimba yang digunakan. Hal ini berarti semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun mimba yang diberikan maka semakin besar diameter zona inhibisi yang terbentuk. Berdasarkan hasil tersebut dapat dikatakan bahwa terjadi hambatan pertumbuhan bakteri *S.Typhi* karena pemberian ekstrak daun mimba. Perhitungan diameter zona inhibisi yang terbentuk dapat dilihat pada Tabel 1

**Tabel 1 Diameter Zona Inhibisi**

Konsentrasi (v/v)	Pengulangan				Rata-rata ± SD (mm)
	I (mm)	II (mm)	III (mm)	IV (mm)	
0%	0	0	0	0	0 ± 0.00
5%	6	5	6	6	5.75 ± 0.50
10%	12	10	11	11	11 ± 0.82
20%	14	15	15	15	14.75 ± 0.50
40%	17	19	18	19	18.25 ± 0.96

Hasil uji normalitas data didapatkan bahwa data terdistribusi normal ( $p= 0,06$ ) sedangkan pada uji homogenitas didapatkan bahwa data memiliki ragam yang homogen ( $p=0.101$ ) sehingga memenuhi persyaratan untuk uji parametrik dengan uji *One Way ANOVA*. Hasil analisa *One Way ANOVA* didapatkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan diameter zona inhibisi pada perbedaan konsentrasi yang diberikan. Hasil uji Tukey didapatkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara masing-masing konsentrasi ekstrak yang diberikan. Kemudian pada uji korelasi Pearson diketahui bahwa terdapat hubungan antara diameter zona inhibisi dengan konsentrasi ekstrak daun mimba, dimana semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang diberikan maka semakin lebar diameter zona inhibisi yang terbentuk.

## PEMBAHASAN

Pengaruh pemberian ekstrak daun mimba terhadap bakteri *S.Typhi* kemungkinan disebabkan oleh zat-zat aktif yang terdapat pada ekstrak daun mimba, diantaranya flavonoid, tanin dan alkaloid. Flavonoid memiliki mekanisme sebagai antimikroba dengan menghambat aktivasi enzim dan protein transport bakteri dengan membentuk kompleks protein. Flavonoid juga dapat menghambat sintesis DNA/RNA dengan membentuk ikatan basa asam nukleat. Selain itu flavonoid juga dapat mengganggu fungsi membran plasma bakteri dengan cara menurunkan fluiditas dari membran plasma, serta dapat menghambat biosintesis makromolekul bakteri dengan menghambat rantai transport elektron. Tanin memiliki mekanisme dalam merusak membran plasma bakteri dengan berikatan dengan protein membran plasma bakteri. Sedangkan alkaloid dapat menyebabkan kerusakan pada lapisan dinding bakteri dengan membentuk peptidoglikan. Berdasarkan hasil penelitian dan analisis yang telah dilakukan oleh peneliti, yang dikhususkan pada daun mimba, didapatkan bahwa ekstrak daun mimba mempunyai efek antimikroba terhadap bakteri *S.Typhi*. Hal tersebut dapat dilihat dari hasil penelitian yaitu terbentuknya zona inhibisi disekitar lubang sumuran, dimana semakin besar konsentrasi ekstrak akan terbentuk zona inhibisi yang semakin besar. Dari penelitian tersebut membuktikan bahwa hipotesa yang telah disusun

sebelumnya adalah benar. Namun bahan aktif yang memiliki peranan paling besar dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S.Typhi* masih belum diketahui secara pasti, sehingga mekanisme yang paling berpengaruh dalam menghambat pertumbuhan bakteri khususnya bakteri gram negatif belum dapat diketahui.

Ekstrak daun mimba terhadap bakteri *Salmonella Typhi* terbukti lebih efektif sebagai antibakteri apabila dibandingkan dengan penelitian-penelitian sebelumnya. Hal ini ditunjukkan dengan penelitian tentang uji efektivitas ekstrak etanol tumbuhan lumut hati (*Marchantia polymorpha*) terhadap pertumbuhan koloni *Salmonella Typhi* secara *in vitro* didapatkan hasil penghambatan pertumbuhan koloni bakteri terjadi pada konsentrasi ekstrak 15%.<sup>10</sup> Penelitian tentang efek antimikroba ekstrak etanol daun sambiloto (*Andrographis paniculata*) terhadap bakteri *Salmonella Typhi* secara *in vitro* didapatkan bahwa penghambatan pertumbuhan bakteri terjadi pada konsentrasi 25%.<sup>11</sup> Serta menurut penelitian tentang uji efektivitas ekstrak etanol daun katuk (*Sauropus androgynus*) sebagai antibakteri terhadap *Salmonella Typhi* secara *in vitro* didapatkan penghambatan terjadi pada konsentrasi ekstrak 9,8%.<sup>12</sup> Sedangkan penelitian tentang aktivitas antimikroba ekstrak daun mimba (*Azadirachta indica* Linn.) didapatkan hasil bahwa daun mimba tidak dapat menghambat pertumbuhan dari bakteri *Salmonella Typhi*.<sup>13</sup> Hal ini terjadi mungkin karena adanya perbedaan jenis dari daun mimba yang digunakan atau terdapat perbedaan strain dari bakteri uji yang digunakan, sehingga didapatkan hasil yang berbeda.

Dari uraian diatas dapat disimpulkan bahwa daun mimba dapat digunakan sebagai alternatif pengobatan bagi masyarakat yang terinfeksi oleh bakteri *S.Typhi*. Akan tetapi, efektivitas antimikroba pada daun mimba dapat dipengaruhi oleh berbagai hal seperti kondisi geografi suatu wilayah yang berbeda dapat menyebabkan perbedaan tingkat efektivitas dari ekstrak daun mimba. Selain itu, faktor lain yang juga dapat mempengaruhi tingkat efektivitas dari ekstrak daun mimba adalah lamanya penyimpanan. Semakin lama waktu penyimpanan, kemungkinan akan menurunkan atau meningkatkan efektivitas dari ekstrak daun mimba. Keterbatasan lainnya dari penelitian ini adalah tidak dapat

mengamati kadar hambat minimum (KHM) dan kadar bunuh minimum (KBM) karena pada penelitian ini menggunakan metode difusi agar sumuran. Metode dilusi agar tidak dapat digunakan karena komponen pada ekstrak tidak dapat menyatu atau homogen dengan komponen medium sehingga medium agar tidak dapat padat setelah ekstrak dicampurkan. Sedangkan metode dilusi tabung tidak bisa digunakan juga karena ekstrak yang keruh dan gelap serta terdapat endapan sehingga pertumbuhan bakteri tidak dapat diamati. Aplikasi klinis ekstrak daun mimba masih memerlukan penelitian lebih lanjut dengan pengujian pada hewan coba (*in vivo*) maupun pengujian pada manusia (uji klinik). Penelitian *in vivo* pada hewan coba bertujuan untuk meneliti sifat farmakokinetik, farmako dinamik, efek toksik, dosis infeksi dan memperkecil resiko penelitian pada manusia. Pengujian pada manusia (uji klinik) bertujuan untuk memastikan keamanan dan gambaran efek samping yang dapat timbul dari pemakaian pada manusia. Jadi, penelitian ini masih sangat dini untuk dapat diterapkan secara klinis dalam pengobatan kasus infeksi *S.Typhi* di masyarakat.

#### KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun mimba (*Azadirachta indica* A.Juss ) memiliki efek antimikroba terhadap *Salmonella Typhi* secara *in vitro*, pada konsentrasi ekstrak 5%, 10%, 20% dan 40%. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun mimba (*Azadirachta indica* A.Juss) yang digunakan, maka semakin lebar hambatan pertumbuhan bakteri.

#### SARAN

Adapun saran yang dapat di berikan pada penelitian ini adalah :

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui bahan aktif yang memiliki peranan paling besar dalam menghambat pertumbuhan bakteri pada ekstrak daun mimba (*Azadirachta indica* A.Juss) sehingga pada penelitian selanjutnya dapat dilakukan dengan uji dengan menggunakan satu bahan aktif saja.

2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk melihat efektivitas ekstrak daun mimba

(*Azadirachta indica* A.Juss) pada hewan coba untuk melihat efek antimikroba secara *in vivo*.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. Nelwan R.H.H. Tata Laksana Terkini Demam Tifoid. *Continuing Medical Education: Ikatan Dokter Indonesia*, 2012, 39 (4): 245-250.
2. Kemenkes RI. 2012. *Profil Kesehatan Indonesia Tahun 2011*. <http://www.depkes.go.id/resources/download/pusdatin/profil-kesehatan-indonesia/profil-kesehatan-indonesia-2011.pdf>, diakses tanggal 16 Agustus 2016.
3. Juwita S., Hartoyo E., dan Budiarti L.Y. Pola Sensitivitas *In Vitro Salmonella Typhi* terhadap Antibiotik Klorampenikol, Amoksisilin dan Kotrimoksazol. *Berkala Kedokteran*, 2013, 9(1): 21-29.
4. Erviani A.E. Analisis Multidrug Resistensi Terhadap Antimikroba Pada *Salmonella Typhi* Dengan Teknik Multiplex PCR. *Biogenesis*, 2013, 1(1):51-60.
5. Mohammed H.A dan Omer A.F.A. Antibacterial Activity of *Azadirachta indica* (Neem) Leaf Extract against Bacterial Pathogens in Sudan. *American Journal of Research Communication*, 2015;3(5):246-247.
6. Vinoth B., Manivasagaperumal R., dan Rajaravindra M. Phytochemical Analysis and Antibacterial Activity of *Azadirachta indica* A.Juss. *International Journal of Research in Plant Science*, 2012, 2(3): 50-55.
7. Ngajow M, Abidjulu J, dan Kamu VS. Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara *In vitro*. *Jurnal FMIPA Unsrat*, 2013;2(2):128-132.
8. Retnowati Y., Bialangi N., dan Posangi N.W. Pertumbuhan Bakteri *S.aureus* pada Media yang Diekspos dengan Infus Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*). *Jurnal Saintek*, 2011;6(2):-.
9. Dewi F.K. 2010. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (Morinda citrifolia, Linnaeus) terhadap Bakteri Pembusuk Daging Segar*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
10. Nuriman, R.A. 2013. *Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Tumbuhan Lumut Hati (Marchantia polymorpha) terhadap Pertumbuhan Koloni Salmonella Typhi secara In vitro*. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Malang.
11. Vania, C.P. 2013. *Efek Antimikroba Ekstrak Etanol Daun Sambiloto (Andrographis paniculata) Sebagai Antibakteri Terhadap Salmonella Typhi secara In Vitro*. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Malang.
12. Asyhuri, M.M. 2016. *Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Katuk (Sauropus androgynous) Sebagai Antibakteri Terhadap Salmonella Typhi secara In Vitro*. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Malang.
13. Maragathavali, S., Brindha, S., Kaviyarasi, N.S., B. Annadurai, B., dan Gangwar, S.K. Antimicrobial Activity In Leaf Extract Of Neem (*Azadirachta indica* Linn.). *International Journal Of Science And Nature*, 2012;3(1):110-113.

Dosen Pembimbing:

Dr. Dra. Sri Winarsih, Apt., M.Si  
NIP. 19540823 198103 2 001