

**EFEK EKSTRAK FLAVONOID BUAH MAHKOTA DEWA (*Phaleria macrocarpa*) TERHADAP
PERTUMBUHAN *Staphylococcus aureus* SECARA IN VITRO
EFFECTS OF *Phaleria macrocarpa* FLAVONOIDS EXTRACT ON GROWTH OF
Staphylococcus aureus IN VITRO**

Aulia Kurnianti Dewi, Sutrisno, Dwi Yuni Nur Hidayati

Program Studi S1 Kebidanan

Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, Jawa Timur

ABSTRAK

Infeksi merupakan penyebab kematian ibu tertinggi ketiga di Indonesia. Bakteri penyebab infeksi antara lain *Staphylococcus aureus*. Salah satu penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* adalah mastitis. Penyakit ini berpengaruh pada kualitas ASI yang diberikan pada bayi. Buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) merupakan tanaman yang banyak ditemui di Indonesia. Buah ini memiliki zat aktif flavonoid sebagai antimikroba, tetapi masyarakat belum banyak yang memanfaatkannya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi antimikroba ekstrak flavonoid buah mahkota dewa terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in Vitro*. Sampel diperoleh dari isolate *Staphylococcus aureus* di Laboratorium Mikrobiologi FKUB. Konsentrasi ekstrak penelitian yang digunakan yaitu 3.5%, 3%, 2.5%, 2%, 1.5%, 1%, 0.5%, dan 0% (KK). Metode penelitian menggunakan dilusi tabung yang terdiri dari dua tahap yakni, tahap pertama *Staphylococcus aureus* dimasukkan kedalam tabung yang berisi ekstrak dan diinkubasi selama 18-24 jam kemudian diamati kekeruhannya untuk menentukan KHM. Tahap kedua adalah penggoresan (streaking) pada media NAP dan diinkubasi selama 18-24 jam kemudian dihitung jumlah koloninya dengan menggunakan *colony counter* untuk menentukan KBM. Berdasarkan penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa ekstrak flavonoid buah mahkota dewa mempunyai efek antimikroba terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan KHM 1% dan KBM 2%.

Kata Kunci: *Staphylococcus aureus*, ekstrak flavonoid buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*)

ABSTRACT

Infection is the third highest cause of maternal mortality in Indonesia. The bacteria that cause infections include *Staphylococcus aureus*. One of the diseases caused by the *Staphylococcus aureus* is mastitis. These diseases affect the quality of breast milk fed to infants. Mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) is a plant that is found in Indonesia. The fruit has flavonoids as an antimicrobial active agent, but not many people use it. This study aims to determine the antimicrobial potency flavonoid extract of mahkota dewa fruit to against *Staphylococcus aureus* *in Vitro*. Samples were obtained from *Staphylococcus aureus* isolates in the Laboratory of Microbiology FKUB. The extract used in this study is 3.5%, 3%, 2.5%, 2%, 1.5%, 1%, 0.5%, and

0% (KK). The research method using a dilution tube consisting of two phases, the first phase is *Staphylococcus aureus* added to the tubes that containing the extract and incubated for 18-24 hours and then observed turbidity to determine the MIC. The second phase is streaking on NAP and incubated for 18-24 hours and then counted the number of colonies using a colony counter to determine MBC. Based on this study, it can be concluded that the flavonoid extract of *Phaleria macrocarpa* has an antimicrobial effect against *Staphylococcus aureus* with the Minimum Inhibitory Concentration is 1% and Minimum Bactericidal Concentration is 2%.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, flavonoid extract of *Phaleria macrocarpa*

PENDAHULUAN

Infeksi merupakan penyebab tertinggi ketiga kematian ibu, penyebab kematian ibu di Indonesia antara lain perdarahan (30,3%), hipertensi (27,1%), infeksi (7,3%), dan lain-lain (40,8%) (Profil Kesehatan Indonesia, 2014). Bakteri yang dapat menyebabkan infeksi contohnya *Staphylococcus aureus* yakni bakteri yang mudah ditemukan dimana-mana dan bersifat patogen oportunistik, berkoloni pada kulit dan permukaan mukosa manusia. (Brooks *et al.*, 2007). Penggunaan antibiotika mulai dari golongan antibiotika konvensional sampai sintetis modern telah banyak dipakai untuk mengatasi infeksi bakteri. Penggunaan antibiotik yang tidak seharusnya atau berlebihan akan menyebabkan resistensi obat. Terjadinya resistensi ini disebabkan karena penggunaan obat yang tidak terkontrol sehingga obat tersebut tidak mampu menghambat atau membunuh bakteri yang bersangkutan, akibatnya pengobatan akan sia-sia (Darsana, *et al.*, 2012).

Salah satu tanaman yang dianggap memiliki khasiat obat adalah Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*). Mahkota Dewa merupakan tanaman perdu anggota family *Thymelaecae* (Harmanto, 2004).



Gambar 1. Buah Mahkota Dewa yang Sudah Tua

Tanaman asli Indonesia ini termasuk ke dalam jenis tanaman perdu yang dapat tumbuh subur di tanah yang gembur dengan ketinggian 10-1200 meter di atas permukaan laut (Naharsari, 2007). Daun dan kulit buah Mahkota Dewa mengandung senyawa alkaloid dan saponin, selain itu daunnya mengandung polifenol dan kulit buahnya mengandung flavonoid (Permadi, 2008). Mekanisme kerja flavonoid sebagai antimikroba dapat dibagi menjadi 3 yaitu menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel dan menghambat metabolisme energi (Majidah, *et al.*, 2014). Hal inilah yang menjadi dasar pemikiran dilakukan penelitian aktivitas antibakteri buah Mahkota Dewa.

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan yang digunakan untuk pembuatan ekstrak flavonoid buah Mahkota Dewa adalah serbuk buah Mahkota Dewa sebanyak 2500 gram, etanol 96% sebagai pelarut sebanyak 30 liter, n-heksana 1000 ml dan n-butanol 500 ml, bakteri uji *S. aureus*, *Nutrient Broth*, aquades, DMSO 1%.

Peralatan

Alat yang digunakan adalah ose, pipet, tabung reaksi, oven, blender, timbangan, gelas Erlenmeyer, corong gelas, kertas saring, labu evaporator, labu penampung etanol, evaporator, rotary evaporator, pendingin spiral, selang water pump, water pump, water bath, vacuum pump, dan botol hasil ekstrak.

Prosedur

Ekstraksi dan Partisi

Buah mahkota dewa dicuci dan dikeringkan dengan suhu 80°C (bebas kandungan air), kemudian digiling untuk dijadikan bubuk sebanyak 2500 gram. Kemudian direndam di dalam larutan etanol 96% sebanyak 30 liter dan diaduk sampai benar-benar tercampur (± 30 menit). Diamkan selama 5 malam sampai mengendap. Kemudian dilakukan penyaringan dengan corong Buncher hingga didapatkan filtrate yang terpisah dengan ampas dan diuapkan dengan suhu 50°C hingga pelarut hilang.

Ekstrak Etanol disuspensikan dalam air. Ekstrak yang sudah disuspensikan dimasukkan ke dalam corong pisah sebagai cairan lapis pertama. Kemudian ditambahkan n-heksana sebanyak 1000 ml

ke dalam corong pisah sebagai cairan lapis kedua. Cairan dalam corong pisah dikocok dan didiamkan beberapa menit hingga terbentuk endapan etanol dan endapan n-heksana. Kemudian lapisan n-heksana dihilangkan. Endapan etanol diuapkan kembali dengan suhu $\pm 45^\circ\text{C}$. Setelah itu dicampurkan kembali dengan n-butanol jenuh sebanyak 500 ml. Hasil campuran etanol dan n-butanol disentrifugasi dengan kecepatan putaran 3000rpm selama 10 menit. Hasil endapan (supernatan) n-butanol yang diperoleh dipisahkan kemudian diuapkan dengan suhu $\pm 60^\circ\text{C}$ hingga terbentuk ekstrak flavonoid 100% kental.

Pengujian Aktivitas Antibakteri

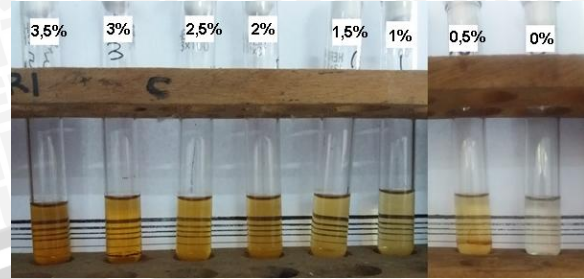
Uji antimikroba dilakukan dengan menggunakan metode dilusi tabung yang ditujukan untuk menentukan KHM (Kadar Hambat Minimal) dan KBM (Kadar Bunuh Minimal) dari ekstrak flavonoid buah Mahkota Dewa terhadap biakan bakteri *S. aureus*. Menyediakan 8 tabung steril, 7 tabung sebagai uji antibakteri, 1 tabung sebagai kontrol positif (KP), aquades dan larutan bakteri uji (*S. aureus*). Larutan ekstrak flavonoid Mahkota Dewa dicairkan terlebih dahulu dengan DMSO 1% kemudian diencerkan menggunakan aquades. Ekstrak dibuat dengan konsentrasi yang berbeda-beda dan dimasukkan ke dalam masing-masing tabung. Ditambahkan perbenihan cair kuman ke dalam masing-masing tabung ekstrak flavonoid Mahkota Dewa sebanyak 1 ml kemudian mencampur menggunakan vortex. Semua tabung diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Diperhatikan dan dicatat pada tabung nomor berapa tampak mulai terjadi kekeruhan. Kadar terendah pada tabung yang menunjukkan tidak ada kekeruhan merupakan KHM.

Untuk memperoleh data KBM, dilakukan penanaman isi tabung sebanyak 0,1 ml (satu mata ose) pada medium NAP. Kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam kemudian dilihat ada tidaknya pertumbuhan koloni kuman.

HASIL DAN PEMBAHASAN

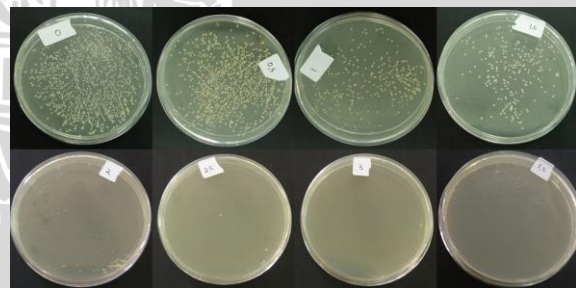
Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang bertujuan untuk mengetahui efek antimikroba ekstrak flavonoid buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* secara *in vitro* dengan menggunakan metode dilusi tabung. Metode dilusi tabung terdiri dari dua tahap yakni, tahap pertama *Staphylococcus aureus* dimasukkan kedalam tabung yang berisi ekstrak dan diinkubasi selama 18-24 jam kemudian diamati kekeruhannya untuk menentukan KHM. Tahap kedua adalah penggoresan (streaking) pada media NAP dan diinkubasi selama 18-24 jam kemudian dihitung jumlah koloninya dengan menggunakan *colony counter* untuk menentukan KBM.

Pada penelitian ini digunakan 7 macam konsentrasi ekstrak flavonoid buah Mahkota Dewa yaitu, 3.5%, 3%, 2.5%, 2%, 1.5%, 1%, dan 0.5%, serta konsentrasi 0% sebagai kontrol positif (tanpa ekstrak) dan konsentrasi 100% sebagai kontrol negatif (tanpa bakteri). Tabung kontrol positif digunakan sebagai acuan untuk menentukan KHM, dimana tabung berkonsentrasi terkecil yang lebih jernih daripada kontrol positif adalah nilai KHM. Pada penelitian ini penampakan jernih awal terlihat pada konsentrasi 1% dengan tidak adanya kekeruhan pada tabung dan garis lurus horizontal tampak terlihat dengan jelas (Gambar 2).



Gambar 2. Hasil Kadar Hambat Minimal Ekstrak Flavonoid Buah Mahkota Dewa yaitu Pada Konsentrasi 1%.

Kadar Bunuh Minimum (KBM) adalah konsentrasi dengan jumlah koloni bakteri kurang dari 0.1% dari jumlah koloni yang tumbuh pada media OI (*Original inoculums*). Jumlah koloni yang tumbuh pada media OI didapatkan hasil sebesar $1,9 \times 10^6$ Koloni/Plate sehingga OI dalam penelitian ini adalah 0,1% dikalikan dengan $1,9 \times 10^6$ dan didapatkan hasil sebesar 1900 Koloni/Plate. Hasil penanaman dan perhitungan koloni bakteri *S. aureus* dari ekstrak flavonoid buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) untuk menentukan Kadar Bunuh Minimal (KBM) ekstrak flavonoid buah Mahkota Dewa didapatkan pada konsentrasi 2% (Gambar 3).



Gambar 3. Hasil *Streaking* Suspensi Bakteri *S. aureus* dengan Berbagai Konsentrasi Ekstrak Flavonoid Buah Mahkota Dewa

Proses pembuatan ekstrak flavonoid buah Mahkota Dewa menggunakan metode maserasi dengan etanol 96% sebagai pelarut kemudian dilanjutkan dengan partisi cair-cair menggunakan pelarut n-heksana dan n-butanol guna memisahkan flavonoid dari kandungan kimia yang lain.

Penggunaan pelarut n-heksana bertujuan agar dapat mengekstraksi secara selektif komponen non-polar terlebih dahulu, seperti terpenoid dan alkaloid. Kemudian dilanjutkan dengan pelarut n-butanol yang diharapkan dapat mengisolasi komponen flavonoid. Flavonoid merupakan golongan terbesar yang ada pada buah Mahkota Dewa (Prasetyo, *et al*, 2015).

Potensi senyawa flavonoid sebagai zat antimikroba didukung oleh penelitian Parubak (2013) karena senyawa flavonoid disintesis oleh tanaman sebagai sistem pertahanan dan dalam responnya terhadap infeksi oleh mikroorganisme, sehingga tidak mengherankan apabila senyawa ini efektif sebagai senyawa antimikroba terhadap sejumlah mikroorganisme.

Konsentrasi	Rata-rata Jumlah Koloni
0%	50.403.333,33
0,5%	11.370.333,33
1%	217.333,33
1,5%	39.500
2%	24
2,5%	1,33
3%	1
3,5%	0

Tabel 1. Hasil Perhitungan Koloni *Staphylococcus aureus* pada Nutrient Agar Plate (NAP)

Berdasarkan hasil penelitian yaitu adanya penurunan jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak flavonoid buah Mahkota Dewa diduga karena efek dari zat aktif flavonoid yang terdapat pada kulit dan daging buah Mahkota Dewa. Flavonoid memiliki beberapa efek antimikroba, yaitu salah satunya menghambat sintesis RNA pada *S. aureus* (Cushnie and Lamb, 2005). Mekanisme

antimikroba lain dari flavonoid adalah dengan cara mengganggu aktivitas transpeptidasi peptidoglikan sehingga pembentukan dinding sel terganggu dan sel mengalami lisis (Silvikasari, 2011). Flavonoid memiliki aktivitas penghambatan lebih besar pada bakteri gram positif (*S. aureus*), hal ini dikarenakan senyawa flavonoid merupakan bagian yang bersifat polar sehingga lebih mudah menembus lapisan peptidoglikan yang bersifat polar daripada lapisan lipid yang nonpolar, sehingga menyebabkan aktivitas penghambatan pada bakteri gram positif lebih besar daripada bakteri gram negatif (Puspitasari, *et al*. 2013).

KESIMPULAN

Ekstrak flavonoid buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) mempunyai efek antimikroba terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* secara *in vitro* dengan Kadar Hambat Minimum (KHM) pada konsentrasi 1% dan Kadar Bunuh Minimal (KBM) pada konsentrasi 2%. Hubungan konsentrasi dari ekstrak flavonoid buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* secara *in vitro* adalah berbanding terbalik, sehingga semakin besar konsentrasi ekstrak akan menurunkan jumlah koloni bakteri.

DAFTAR PUSTAKA

1. Brooks, G.F; Butel, J.S & Morse, S.A. 2007. Mikrobiologi Kedokteran Jawetz, Melnick & Adelberg. Edisi ke-23. Jakarta, EGC.
2. Cushnie. T.P. & Lamb. Andrew J. 2005. Antimicrobial Activity of Flavonoids. Journal of Antimicrobial agents.
3. Darsana, I Gede Oka, I Nengah Kerta Besung, & Hapsari Mahatmi. 2012.

- Potensi Daun Binahong (Anredera Cordifolia (Tenore) Steenis) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri Eschiricia coli Secara In Vitro.* Indonesia Medicus Veterinus, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana.
- Harmanto, Ning. 2004. Mahkota Dewa Panglima Penakluk Kanker. Jakarta: Agromedia Pustaka.
 - Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.. 2014. *Profil Kesehatan Indonesia.* Jakarta.
 - Majidah, Dewi, Dwi Warna Aju Fatmawati, & Achmad Gunadi. 2014. Daya Antibakteri Ekstrak Daun Seledri (*Apium graveolens*) terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans* sebagai Alternatif Obat Kumur. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
 - Naharsari, Nur Dyah. 2007. Mahkota Dewa dan Manfaatnya. Bekasi: Ganeca Exact.
 - Parubak, Apriani Sulu. 2013. Senyawa Flavonoid yang Bersifat Antibakteri dari Akway (*Drimys beccariana.* Gibbs). Papua: Fakultas FMIPA Universitas Negeri Papua.
 - Permadi, Adi. 2008. Membuat Kebun Tanaman Obat. Jakarta: Pustaka Bunda.
 - Prasetyo, Susiana, Wesley Arfianto & Tedi Hudaya. 2015. The Pre-chromatography Purification of crude Oleoresin of *Phaleria macrocarpa* Fruit Extracts by Using 70%-v/v Ethanol. Yogyakarta: Program Studi teknik Kimia, FTI, UPN Veteran Yogyakarta.
 - Puspitasari, Galuh, Sri Murwani & Herawati. 2013. Upaya Antibakteri Perasan Buah Mengkudu Matang (*Morinda citrifolia*) Terhadap Bakteri *Methicillin Resistan Staphylococcus aureus (MRSA) M.2036.T* Secara In Vitro. Malang: Program Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya.
 - Silvikasari. 2011. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Flavonoid Daun Gambir (*Uncaria gambir* Roxb). Bogor: Departemen Biokimia, FMIPA Institut Pertanian Bogor.

Pembimbing I

dr. Sutrisno, Sp. OG (K)

NIP/NIK. 19680203 199803 1 005

Penulis

Aulia Kurnianti Dewi

NIM. 135070601111006