

Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol dan Etil Asetat Batang Tanaman Brotowali (*Tinospora crispa*, L. Miers) terhadap Bakteri *Escherichia coli* Enteropatogenik (EPEC) Penyebab Penyakit Diare

Antibacterial Activity of Brotowali (*Tinospora crispa*, L.Miers) Stems Ethanol and Ethyl Acetate Extract Against Enteropatogenic *Escherichia coli* (EPEC) Causing Diarrheal Diseases

Emma Nuzula Fathmah, Sri Pujiyanto, dan Budi Raharjo

Laboratorium Bioteknologi Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro
Jl. Prof Soedharto, SH, Tembalang, Semarang 50275
ema.nuzula@student.undip.ac.id, spujiyanto@undip.ac.id

Abstract

Diarrheal diseases is an endemic disease in Indonesia and potential disease of *Kejadian Luar Biasa* (KLB) which often leads to death. Enteropatogenic *Escherichia coli* (EPEC) is one of pathogenic bacteria which can cause diarrhea. Brotowali plant (*Tinospora crispa*, L. Miers) is one of traditional medicinal plants which is widely used to treat various diseases and relatively have no side effects than chemical drugs. The purpose of this research is to know the antibacterial activity of Brotowali (*Tinospora crispa*, L. Miers) stems ethanol and ethyl acetate extract in inhibiting the growth of EPEC bacteria causing diarrheal disease. Brotowali extract was obtained by maceration method using ethanol and ethyl acetate solvent. The condensed extract obtained was dissolved in DMSO 100% until the concentration of the extract to 20%; 40% and 60%. Test of antibacterial activity used diffusion method using paperdisk. The ethanol and ethyl acetate extract of brotowali stems were each tested on EPEC bacteria. The results in this study are the inhibition zone on ethanol and ethyl acetate extract stem of brotowali plant to EPEC bacteria. The antibacterial activity of brotowali stem ethanol extract at 60% concentration showed the best effect compared to the concentration of 20% and 40%. The antibacterial activity of ethyl acetate extract of brotowali stem was as good at concentration of 20%; 40% and 60%. The antibacterial activity of brotowali stem ethyl acetate extract showed better results than brotowali stem ethanol extract.

Keywords: *antibacterials ; extracts, brotowali ; Escherichia coli EPEC ; diarrhea*

Abstrak

Penyakit Diare merupakan penyakit endemis di Indonesia dan juga merupakan penyakit potensial Kejadian Luar Biasa (KLB) yang sering disertai dengan kematian. *Escherichia coli* Enteropatogenik (EPEC) merupakan salah satu bakteri patogen yang dapat menyebabkan diare. Tanaman brotowali (*Tinospora crispa*, L. Miers) merupakan salah satu tanaman obat tradisional yang banyak digunakan untuk mengobati berbagai penyakit dan relatif tidak memiliki efek samping daripada obat kimia. Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui aktivitas antibakteri pada ekstrak etanol dan etil asetat batang brotowali (*T. crispa*, L. Miers) dalam menghambat pertumbuhan bakteri EPEC penyebab penyakit diare. Ekstrak brotowali diperoleh dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol dan etil asetat. Ekstrak kental yang diperoleh dilarutkan dalam DMSO 100% hingga konsentrasi ekstrak menjadi 20% ; 40% dan 60%. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi menggunakan *paperdisk*. Ekstrak etanol dan etil asetat batang brotowali masing-masing diujikan pada bakteri uji EPEC. Hasil yang diperoleh dalam penelitian ini yaitu adanya zona hambat pada ekstrak etanol dan etil asetat batang tanaman brotowali terhadap bakteri EPEC. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol batang brotowali pada konsentrasi 60% menunjukkan efek yang paling baik dibandingkan dengan konsentrasi 20% dan 40%. Aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat batang brotowali sama baiknya pada konsentrasi 20% ; 40% dan 60%. Aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat batang brotowali menunjukkan hasil yang lebih baik daripada ekstrak etanol batang brotowali.

Kata kunci: *antibakteri ; ekstrak, brotowali ; Escherichia coli EPEC ; diare*

PENDAHULUAN

Penyakit Diare merupakan penyakit endemis di Indonesia dan juga merupakan penyakit potensial Kejadian Luar Biasa (KLB) yang sering disertai dengan kematian. Pada tahun 2016 terjadi 3 kali KLB diare yang tersebar di 3 provinsi, 3 kabupaten, dengan jumlah penderita 198 orang dan kematian 6 orang. *Case Fatality Rate* (CFR) atau angka kematian pada tahun 2016 mencapai 3,04%.

Angka kematian (CFR) saat KLB diare diharapkan kurang dari 1%. Rekapitulasi KLB diare dari tahun 2008 sampai dengan tahun 2016 menunjukkan bahwa CFR saat KLB masih cukup tinggi (>1%) kecuali pada tahun 2011 CFR pada saat KLB sebesar 0,40%, sedangkan tahun 2016 CFR diare saat KLB meningkat menjadi 3,04% (Kemenkes RI, 2017).

Enteropatogenik *E. coli* (EPEC) merupakan salah satu strain dari *E. coli* yang menyebabkan diare jika dikonsumsi pada kepadatan sel 10^5 - 10^{10} cfu/ml (Kelleher *et al.*, 2002 ; Arief, *et al.*, 2010). EPEC merupakan salah satu bakteri patogen yang dapat menyebabkan diare. EPEC melekat pada sel mukosa usus dan menyebabkan terjadinya perubahan struktur sel (Astawan, *et al.*, 2011). Selanjutnya, EPEC melakukan invasi menembus sel mukosa sehingga menyebabkan terjadinya iritasi dan diare akut. EPEC dilaporkan sering menginfeksi anak-anak. Pencegahan diare yang disebabkan oleh EPEC sangat penting dilakukan karena diare akut dapat menyebabkan kematian (Nitisingprasert *et al.*, 2006 ; Arief, *et al.*, 2010).

Infeksi EPEC sering disembuhkan dengan pemberian antibiotik. Pemakaian antibiotik, khususnya bila digunakan tanpa aturan yang jelas seperti yang banyak terjadi di negara berkembang akan menyebabkan penggunaan antibiotika secara tidak rasional. Adanya penggunaan antibiotika secara berlebihan menyebabkan tingginya prevalensi resistensi pada flora normal aerobik (Yenny dan Herwana, 2007). Resistensi antibiotik menyebabkan penyakit infeksi semakin sulit untuk ditangani dan disembuhkan sehingga banyak kerugian yang dialami oleh manusia.

Tanaman obat telah digunakan sejak lama untuk mengobati berbagai penyakit. Hal ini disebabkan adanya metabolit sekunder seperti tanin, alkaloid, terpenoid, kuinon, flavonoid dan

polifenol. Agen antimikroba dari tanaman relative tidak memiliki efek samping dibandingkan dengan antimikroba sintetis. Dengan demikian, berbagai penelitian telah ditunjukkan pada tanaman untuk menemukan agen antimikroba (Sulaiman, *et al.*, 2016).

Tanaman *Tinospora crispa*, L. Miers (Family Menispermaceae) menempati tempat yang sangat penting di bidang tanaman obat dan banyak digunakan sebagai obat tradisional. Tanaman brotowali (*T. crispa*, L. Miers) adalah tanaman kecil yang tumbuh luas di daerah tropis di Asia. Lebih spesifik lagi, tanaman ini banyak ditemukan di Filipina tropis dan subtropis, Indonesia, Malaysia, Thailand, India, China dan Vietnam (Mohammed, *et al.*, 2012).

Tanaman brotowali dikaitkan dengan penggunaan etnomedisnya sejak zaman kuno oleh dukun tradisional dan dokter. Masyarakat setempat menggunakan tanaman ini untuk pengobatan penyakit kulit. Hal ini juga digunakan untuk penyembuhan lainnya; sebagai antiperiodik pada demam, sebagai agen hipoglikemik, diuretik, agen pembersih luka untuk luka rematik kronis, demam malaria dan infestasi cacing usus. Secara kimiawi, tanaman brotowali mengandung rasa pahit dan juga mengandung picroretine, berberine, alkaloid, triterpenes yaitu cycloeucalenol, cycloeucalenone dan flavones-O-glycosides seperti apigenin dan resin. Terlepas dari adanya komponen kimia yang berbeda, tanaman brotowali juga memiliki spektrum sifat farmakologis yang luas, yang dilaporkan dalam literatur yaitu antibakteri, anti nyeri, anti inflamasi, anti kanker dan antioksidan (Mohammed, *et al.*, 2012).

Penelitian Mohammed, *et al.* (2012) membuktikan bahwa ekstraksi akar brotowali dengan pelarut etanol menunjukkan zona penghambatan maksimal pada *E. coli*, *Streptococcus pneumonia* dan *Candida albicans*. Penelitian lainnya oleh Devprakash, *et al.* (2011) menunjukkan bahwa ekstrak etanol batang tanaman brotowali dapat menghambat pertumbuhan *E. coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Penelitian Asis (2016) menyatakan bahwa ekstrak etil asetat batang brotowali memiliki aktivitas antibakteri terhadap tiga jenis bakteri yaitu, *Staphylococcus epidermis*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

Selain itu, penelitian Saragih (2018) juga menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat daun brotowali dapat menghambat pertumbuhan *E. coli* dan *S. Aureus*.

Berdasarkan uraian tersebut, penelitian mengenai aktivitas antimikroba dari batang tanaman brotowali (*T. crispa*, L. Miers) perlu dilakukan untuk mengetahui efek antibakteri tanaman tersebut terhadap *E. coli* enteropatogenik (EPEC) penyebab penyakit diare. Selain itu, proses ekstraksi yang berbeda juga akan menghasilkan zona hambat yang berbeda. Berdasarkan penelitian sebelumnya, ekstraksi menggunakan etanol dan etil asetat dapat menghambat *E. coli* dan jenis bakteri lainnya. Pelarut etanol yang bersifat polar dan etil asetat yang bersifat semi polar diharapkan dapat mengekstraksi senyawa antimikroba yang sifatnya berbeda..

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu batang brotowali (*Tinospora crispa*, L. Miers), biakan murni bakteri *E. coli* enteropatogenik (EPEC) dari RSUP Dr. Kariadi Semarang, etanol 96%, etil asetat, kertas saring, kapas, kasa steril, alumunium foil, *paperdisk* 6 mm, media Nutrient Agar (NA), media Nutrient Broth (NB), aquades, dan tertrasiklin.

Preparasi sampel batang brotowali

Pengambilan dan penanganan sampel

Tanaman brotowali (*T. crispa*, L. Miers) diperoleh dari daerah Meteseh dan Tembalang, Semarang. Sampel batang tanaman dibersihkan dan dipisahkan dari kotoran yang menempel pada sampel, lalu dicuci dengan air mengalir, kemudian dipotong-potong dan dikeringkan dalam oven selama 5 hari pada suhu 50°C. Sampel yang telah kering dihaluskan dengan cara diblender, kemudian sampel siap untuk diekstraksi.

Ekstraksi sampel

Ekstraksi pada penelitian ini dilakukan menggunakan 2 jenis pelarut yaitu pelarut etanol 96% dan etil asetat dengan metode maserasi. Pelarut etanol bersifat polar, sedangkan pelarut etil asetat bersifat semi polar. Penggunaan dua pelarut yang berbeda berfungsi untuk mengekstraksi senyawa kimia yang sifatnya berbeda. Serbuk batang brotowali (*T. crispa*, L. Miers) ditimbang

200 gram direndam 900 mL etanol 96% dan dilakukan penyaringan setelah 3 hari. Hasil saringan ditampung dan disimpan dalam erlenmeyer (filtrat I). Ampas/debris diremaserasi dengan 500 mL etanol 96%. Sampel disaring kembali setelah dua hari dan hasil saringan (filtrat II) ditampung dalam erlenmeyer yang sama dengan filtrat I, sedangkan debris dibuang.

Serbuk batang brotowali sebanyak 100 gram dimaserasi dengan pelarut etil asetat 1000 ml. Sampel disaring setelah 5 hari, untuk dipisahkan filtrat dan debrisnya. Filtrat hasil maserasi etanol dan etil asetat selanjutnya diuapkan di *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak etanol dan etil asetat batang brotowali yang berupa cairan kental.

c) Pembuatan konsentrasi ekstrak batang brotowali (*T. crispa*, L. Miers)

Ekstrak etanol dan etil asetat batang brotowali yang diperoleh dari proses ekstraksi dilarutkan dalam dimetil sulfoksida (DMSO) 100%. DMSO berfungsi sebagai pelarut ekstrak kental sehingga ekstrak dapat berdifusi melalui *paperdisk*. Ekstrak batang brotowali dibuat dalam tiga konsentrasi yaitu 20% ; 40% dan 60%. Pembuatan konsentrasi ekstrak dilakukan dengan membuat larutan stok terlebih dahulu. Ekstrak dengan konsentrasi 100% yang dijadikan sebagai larutan stok, dibuat dengan cara melarutkan 3 gram ekstrak dalam 3 ml DMSO. Ekstrak dengan konsentrasi 60% dibuat dengan cara mencampurkan 0,6 ml larutan stok dalam 0,4 ml DMSO. Ekstrak dengan konsentrasi 40% dibuat dengan cara mencampurkan 0,4 ml larutan stok dengan 0,6 DMSO. Ekstrak dengan konsentrasi 20% dibuat dengan cara mencampurkan 0,2 ml larutan stok dengan 0,8 ml DMSO.

Preparasi bakteri uji

Peremajaan bakteri uji

Bakteri EPEC stok biakan murni diambil satu ose kemudian diinokulasikan dengan cara menggoreskan pada media Nutrient Agar (NA), kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Perhitungan kepadatan bakteri uji

Bakteri EPEC yang telah diremajakan ditumbuhkan dalam medium NB selama 16 jam (puncak fase log). Bakteri yang berumur 16 jam diencerkan secara bertingkat dalam aquades steril

hingga pengenceran 10^{-8} . Pengenceran 10^{-6} , 10^{-7} dan 10^{-8} diambil masing-masing 1 ml dan diinokulasikan dalam medium NA di cawan petri dengan metode *pour plate*. Bakteri diinkubasi selama 24 jam, kemudian diamati dan dilakukan perhitungan koloni dengan metode TPC (*Total Plate Count*).

Pembuatan suspensi bakteri

Bakteri EPEC dibiakkan pada media cair Nutrient Broth (NB) steril 10 ml selama 16 jam. Suspensi bakteri yang berumur 16 jam digunakan dalam pengujian aktivitas antibakteri.

Pengujian aktivitas antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak batang brotowali (*T. crispa*, L. Miers) dilakukan dengan metode difusi agar menggunakan *paperdisk* 6 mm. Suspensi bakteri EPEC diambil 1 ml dan dituangkan ke dalam cawan petri, kemudian media NA dituangkan ke dalam cawan petri tersebut sebanyak 20 ml dan diratakan. Selanjutnya, masing-masing konsentrasi ekstrak batang brotowali (*T. crispa*, L. Miers) diteteskan pada *paperdisk* sebanyak 20 μ L. *Paperdisk* dipindahkan ke dalam media NA yang telah diinokulasikan bakteri uji. Satu *paperdisk* yang diberi DMSO di gunakan sebagai kontrol negatif, dan *paperdisk* mengandung tetrasiklin 30 mg/ml digunakan sebagai kontrol positif. Semua cawan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Setiap perlakuan diulang sebanyak kali

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi Batang Brotowali (*T. crispa*, L. Miers)

Ekstraksi batang brotowali dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol dan etil asetat. Pelarut etanol bersifat polar, sedangkan pelarut etil asetat bersifat semi polar. Penggunaan dua pelarut yang berbeda berfungsi untuk mengekstraksi senyawa kimia yang sifatnya berbeda. Sampel batang brotowali yang diperoleh memiliki berat basah 2.920 gram dan berat kering 535 gram. Total filtrat etanol yang diperoleh dari proses maserasi adalah 1000 ml. Menurut Korompis, *et al.* (2010), penggunaan etanol dalam proses perendaman karena etanol merupakan cairan penyari yang digunakan untuk melarutkan zat-zat tertentu. Etanol umumnya baik untuk melarutkan alkaloida, glikosida, damar, minyak atsiri tapi

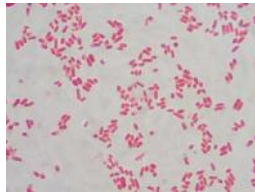
bukan jenis gum, gula, dan albumin. Proses perendaman dilaksanakan secara bertingkat.

Filtrat etil asetat yang diperoleh dari proses maserasi yaitu 800 ml. Wardhani dan Sulistyani (2012) menyatakan pelarut etil asetat memiliki sifat semipolar yang volatil dan dapat melarutkan senyawa semipolar pada dinding sel seperti aglikon flavonoid, tidak beracun dan tidak higroskopis. Etil asetat digunakan sebagai pelarut karena etil asetat dapat mengekstraksi senyawa-senyawa yang memberikan aktivitas antibakteri, diantaranya flavonoid polihidroksi dan fenol lain.

Filtrat hasil perendaman menggunakan etanol dan etil asetat kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator*. Hasil yang diperoleh berupa pasta atau cairan kental. Puspitowati, *et al.* (2012) menyatakan bahwa filtrat dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* bertujuan untuk menguapkan pelarut sehingga didapatkan ekstrak kental yang hanya mengandung zat aktif yang berasal dari sampel. Rendemen ekstrak etanol yang diperoleh adalah sebesar 2,3%, sedangkan rendemen etil asetat adalah sebesar 2%.

Penyiapan Bakteri Uji

Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Escherichia coli* enteropatogenik dari RSUP Dr. Kariadi Semarang. Pengamatan secara mikroskopis (perbesaran 1000x) menunjukkan bakteri *Escherichia coli* enteropatogenik memiliki bentuk sel batang dan termasuk jenis bakteri gram negatif sebagaimana Sussman (1997) menyatakan bahwa *Escherichia coli* adalah bakteri gram negatif yang berbentuk batang pendek. Pembuatan suspensi bakteri diperlukan dalam uji antibakteri. Suspensi bakteri *Escherichia coli* enteropatogenik yang digunakan berumur 16 jam yang merupakan puncak fase log bakteri *Escherichia coli* dengan kepadatan $1,18 \times 10^7$ cfu/ml. Menurut Pratiwi (2015), fase log (fase eksponensial) merupakan fase yang cocok untuk pengujian antibakteri. Puncak fase log *E. coli* adalah pada jam ke-16.



Gambar 1. *E. coli* enteropatogenik merupakan bakteri gram negatif (1000x)

Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Brotowali (*T. crispa*, L. Miers) terhadap *Escherichia coli* Enteropatogenik

Pengujian antibakteri ekstrak etanol batang brotowali dilakukan dengan metode difusi menggunakan *paperdisk*. Besarnya aktivitas antibakteri ditentukan dengan besarnya zona hambat atau zona bening yang terdapat disekitar *paperdisk*. Hasil zona hambat ekstrak etanol batang brotowali terhadap *E. coli* Enteropatogenik adalah sebagai berikut :

Tabel 1. Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol Batang Brotowali terhadap *E. coli* Enteropatogenik

Konsentrasi Ekstrak (%)	Zona Hambat Ekstrak (mm)			Rata-rata (mm)
	1	2	3	
20	6,70	6,25	6,60	6,52 ^a
40	6,20	6,80	6,60	6,53 ^a
60	8,20	7,70	8,05	7,98 ^b

Keterangan : huruf dibelakang angka menunjukkan beda secara signifikan pada uji *One Way Anova*

Tabel 1 menunjukkan adanya aktivitas antibakteri ekstrak etanol batang brotowali terhadap *E. coli* enteropatogenik ditunjukkan dengan adanya zona hambat disekitar *paperdisk*. Diameter zona hambat terbesar terdapat pada konsentrasi ekstrak 60% dengan rata-rata 7,98 mm, diikuti dengan konsentrasi 40% dan 20% dengan rata-rata berturut-turut 6,53 mm dan 6,52 mm. Untuk melihat apakah zona hambat yang dihasilkan oleh ekstrak etanol batang brotowali berbeda satu dengan yang lainnya maka digunakan uji ANOVA yang dilanjutkan dengan uji LSD.

Hasil uji ANOVA dari diameter zona hambat ekstrak etanol batang brotowali menunjukkan nilai signifikansi dari nilai F sebesar 0,001. Nilai tersebut lebih kecil dari 0,05 yang

berarti bahwa pengujian daya hambat ekstrak etanol batang brotowali pada konsentrasi 20% ; 40% dan 60% berbeda secara signifikan satu dengan yang lainnya. Hasil uji LSD menunjukkan bahwa zona hambat yang dihasilkan ekstrak dengan konsentrasi 20% tidak berbeda secara signifikan dengan konsentrasi 40%. Hal ini berarti aktivitas antibakteri ekstrak etanol batang brotowali konsentrasi 20% dan 40% terhadap *E. coli* enteropatogenik sama baiknya. Perbedaan yang signifikan terdapat pada zona hambat ekstrak dengan konsentrasi 60% jika dibandingkan dengan konsentrasi 20% dan 40%.

Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol batang brotowali konsentrasi 60% memiliki aktivitas antibakteri yang paling baik untuk menghambat pertumbuhan *E. coli* enteropatogenik. Namun, besarnya zona hambat ekstrak dengan konsentrasi 60% belum dapat menyamai efek antibiotik tetrasiklin 30 mg/ml. Kontrol positif yang digunakan yaitu tetrasiklin 30 mg/ml. Besarnya zona hambat kontrol positif terhadap *E. coli* enteropatogenik adalah 15,15 mm.

Devprakash, *et al.* (2011) menyatakan bahwa ekstrak etanol brotowali memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*, tetapi aktivitasnya lebih kecil daripada standar antibiotik levofloxacin. Adanya aktivitas antibakteri ekstrak etanol dipengaruhi oleh sifat dan jumlah senyawa aktif (alkaloid, flavonoid, terpenoid, tanin, dan lain-lain), serta kemampuan etanol untuk menghasilkan sejumlah besar senyawa aktif yang berpengaruh dalam aktivitas antibakteri. Ekstrak etanol brotowali diketahui memiliki flavonoid, alkaloid, saponin, tanin dan fenol, dimana masing-masing senyawa atau kombinasi dari beberapa senyawa tersebut dapat menyebabkan adanya aktivitas antimikroba.

Ekstrak etanol batang brotowali dapat menghambat *E. coli* enteropatogenik karena ekstrak tersebut memiliki senyawa aktif, diantaranya flavonoid, alkaloid, saponin, tanin dan fenol, yang memiliki efek antibakteri. Rastina (2015), menyatakan bahwa flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom, dan lisosom sebagai hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri. Flavonoid memiliki sifat lipofilik sehingga dimungkinkan akan merusak membran sel bakteri.

Mekanisme antimikroba senyawa alkaloid terlibat dalam perusakan membran sel oleh senyawa lipofilik. Saponin sebagai antibakteri dapat menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar. Tanin dapat menghambat enzim *reverse transcriptase* dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk. Selain itu tanin memiliki aktivitas antibakteri yang berhubungan dengan kemampuannya untuk menginaktifkan sel mikroba dan juga enzim, serta mengganggu transport protein lapisan dalam sel.

Ekstrak etanol brotowali selain dapat menghambat *E. coli* enteropatogenik juga dapat menghambat *Bacillus cereus* (Muskhazli, *et al.*, 2009), *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus* dan *Staphylococcus epidermis* (Mishra, *et al.*, 2014), serta *Streptococcus pneumonia* dan *Candida albicans* (Mohammed, *et al.*, 2012). Penelitian Mohammed, *et al.* (2012) menunjukkan bahwa ekstrak etanol dan kloroform brotowali memiliki aktivitas antimikroba yang lebih baik dibandingkan dengan ekstrak air distilasi dan metanol brotowali terhadap *E. coli*, *S. pneumonia* dan *C. albicans*.

Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Brotowali (*T. crista*, L. Miers) terhadap *Escherichia coli* Enteropatogenik

Pengujian antibakteri ekstrak etil asetat batang brotowali dilakukan dengan metode difusi menggunakan *paperdisk*. Besarnya aktivitas antibakteri ditentukan dengan besarnya zona hambat atau zona bening yang terdapat disekitar *paperdisk*. Hasil yang diperoleh dibandingkan dengan kontrol positif dan kontrol negatif. Hasil zona hambat ekstrak etil asetat batang brotowali terhadap *E. coli* enteropatogenik adalah sebagai berikut :

Tabel 2. Diameter Zona Hambat Ekstrak Etil Asetat Batang Brotowali terhadap *E. coli* Enteropatogenik

Konsentrasi Ekstrak (%)	Zona Hambat Ekstrak (mm)			Rata-rata (mm)
	1	2	3	
20	8,20	6,60	8,70	7,83
40	8,55	7,85	7,60	8,00
60	9,00	8,50	8,40	8,63

Tabel 2 menunjukkan adanya aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat batang brotowali terhadap *E. coli* enteropatogenik ditunjukkan dengan adanya zona hambat disekitar *paperdisk*. Diameter zona hambat terbesar terdapat pada konsentrasi ekstrak 60% dengan rata-rata 7,83 mm, diikuti dengan konsentrasi 40% dan 20% dengan rata-rata berturut-turut 8,00 mm dan 8,63 mm. Untuk melihat apakah zona hambat yang dihasilkan oleh ekstrak etil asetat batang brotowali berbeda satu dengan yang lainnya maka digunakan uji ANOVA.

Hasil uji ANOVA dari diameter zona hambat ekstrak etil asetat batang brotowali menunjukkan nilai signifikansi dari nilai F sebesar 0,411. Nilai tersebut lebih besar dari 0,05 yang berarti bahwa pengujian daya hambat ekstrak etil asetat batang brotowali pada konsentrasi 20% ; 40% dan 60% tidak berbeda secara signifikan satu dengan yang lainnya. Hal ini berarti aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat batang brotowali konsentrasi 20% ; 40% dan 60% terhadap *E. coli* enteropatogenik sama baiknya. Namun, zona hambat ketiga konsentrasi ekstrak etil asetat batang brotowali masih belum dapat menyamai besarnya zona hambat tetrasiklin 30 mg/ml. Kontrol positif yang digunakan yaitu tetrasiklin 30 mg/ml. Besarnya zona hambat kontrol positif terhadap *E. coli* enteropatogenik adalah 15,15 mm.

Asis (2016) menyatakan bahwa ekstrak etil asetat batang brotowali memiliki aktivitas antibakteri terhadap tiga jenis bakteri yaitu, *Staphylococcus epidermis*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Penelitian Saragih (2018) menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat daun brotowali dapat menghambat pertumbuhan *E. coli* dan *S. aureus*, dimana zona hambatnya lebih kecil

dari ekstrak metanol daun brotowali, namun lebih besar dari ekstrak n-heksana daun brotowali.

Berdasarkan hasil yang diperoleh, ekstrak etil asetat batang brotowali pada konsentrasi 20%; 40% dan 60% menghasilkan zona hambat yang lebih besar daripada zona hambat ekstrak etanol batang brotowali dengan konsentrasi yang sama. Hal ini disebabkan oleh adanya perbedaan jenis dan jumlah senyawa kimia yang terdapat pada ekstrak etanol dan etil asetat batang brotowali. Indrayani, *et al.* (2006) menyatakan bahwa pada ekstrak etil asetat terdapat sterol, triterpen, flavonoid, tannin, dan saponin, sedangkan Devprakash, *et al.* (2011) menyatakan bahwa ekstrak etanol brotowali mengandung flavonoid, alkaloid, saponin, tanin dan fenol. Kombinasi dari beberapa senyawa tersebut dapat menyebabkan adanya aktivitas antimikroba. Kombinasi senyawa yang berbeda dapat menghasilkan efek antimikroba yang berbeda pula.

Ekstrak batang brotowali dapat menghambat *E. coli* enteropatogenik karena ekstrak tersebut memiliki senyawa aktif, diantaranya flavonoid, alkaloid, saponin, tanin dan fenol, yang memiliki efek antibakteri. Rastina (2015), menyatakan bahwa flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom, dan lisosom sebagai hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri. Flavonoid memiliki sifat lipofilik sehingga dimungkinkan akan merusak membran sel bakteri. Mekanisme antimikroba senyawa alkaloid terlibat dalam perusakan membran sel oleh senyawa lipofilik. Saponin sebagai antibakteri dapat menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar. Triterpenoid diduga melibatkan pemecahan membran oleh komponen limfophilik. Tanin dapat menghambat enzim *reverse transcriptase* dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk. Selain itu tanin memiliki aktivitas antibakteri yang berhubungan dengan kemampuannya untuk menginaktivkan sel mikroba dan juga enzim, serta mengganggu transport protein lapisan dalam sel

KESIMPULAN

Ekstrak etanol dan etil asetat batang tanaman brotowali (*T. crispa*, L. Miers) dapat menghambat pertumbuhan *E. coli* enteropatogenik (EPEC). Aktivitas antibakteri ekstrak etanol batang brotowali pada konsentrasi 60% menunjukkan efek yang paling baik dibandingkan dengan konsentrasi 20% dan 40%, sedangkan aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat batang brotowali sama baiknya pada konsentrasi 20% ; 40% dan 60%. Aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat batang brotowali menunjukkan hasil yang lebih baik daripada ekstrak etanol batang brotowali.

DAFTAR PUSTAKA

- Arief, I.I., B.S.L. Jenie, M. Astawan dan A.B. Witarto. 2010. Efektivitas Prebiotik *Lactobacillus plantarum* 2C12 dan *Lactobacillus acidophilus* 2B4 sebagai Pencegah Diare pada Tikus Percobaan. *Media Peternakan* : 137-143.
- Astawan, M., T. Wresdiyati, I.I. Arief, dan D. Febiyanti. 2011. Potensi Bakteri Asam Laktat Probiotik Indigenus sebagai Antidiare dan Immunomodulation. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 22 (1) : 11-16.
- Devprakash, K.K. Srinivasan, T. Subburaju dan S.K. Singh. 2011. Antimicrobial Activity of Alcoholic and Aqueous Extracts of *Tinospora cordifolia*. *Research and Reviews : A Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2 (1) : 1-6.
- Indrayani, L., H. Soetjipto, dan L. Sihasale. 2006. Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Daun Pecut Kuda (*Stachytarpheta jamaicensis* L. Vahl) terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach. *Jurnal Berkala Penelitian Hayati*. 12 : 57-61.
- Kemendes RI. 2017. *Profil Kesehatan Indonesia Tahun 2016*. Jakarta : Kementerian Kesehatan RI.
- Korompis, G.E.C., V.R. Danes dan O.J. Sumampouw. 2010. Uji Invitro Aktivitas Antibakteri dari *Lansium domesticum* Correa (Langsat). *Chemistry Progress*. 3 (10) : 13-19.
- Mishra, P., P. Jamdar, S. Desai, D. Patel dan D. Meshram. 2014. Phytochemical Analysis and Assessment of In Vitro Antibacterial Activity

- of *Tinospora cordifolia*. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 3 (3) :224-234.
- Mohammed, A.A.C., G. Manish dan C.K. Dinesh. 2012. Antimicrobial Activity of *Tinospora crispa* Root Extracts. *International Journal of Research in Ayuverda and Pharmacy*. 3 (3) : 417-419.
- Muskhazli, M., M. Dirnahayu, N. Azwady, N. Dalilah dan C.K. Nurshaira. 2009. Antibacterial Activity of Methanolic Crude Extracts from Selected Plant Against *Bacillus cereus*. *Pertanika Journal of Tropical Agricultural Sciences*. 32 (2) : 175-183
- Pratiwi, A.E. 2015. Isolasi, Seleksi dan Uji Aktivitas Antibakteri Mikroba Endofit dari Daun Tanaman *Garcinia benthami* Pierre terhadap *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, dan *Salmonella typhimurium*. *Skripsi*. UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Puspitowati, O.H., M. Ulfah, dan E. Sasmito. 2012. Uji Aktivitas Immunostimulator Fraksi Air dari Ekstrak Etanol Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) terhadap Proliferasi Sel Limfosit Mencit Galur Swiss secara *In Vitro* beserta Identifikasi Kandungan Kimianya. *Jurnal Ilmu Farmasi dan Farmasi Klinik*. 9 (2) : 23-31
- Rastina, M.S., dan I. Wientarsih. 2015. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kari (*Murraya koenigii*) terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas sp.* *Jurnal Kedokteran Hewan*. 9 (2) : 185-188
- Saragih, R.G.S. 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol, Etil Asetat, dan n-Heksana Daun Brotowali (*Tinospora crispa* (L.) Hook.F. & Thomson. *Skripsi*. Universitas Sumatera Utara.
- Sulaiman, F.A. N. Fuad, F. Rahman, A. Iqbal dan D.S. Darnis. 2016. Antioxidant and Antimicrobial Properties of *Tinospora crispa* (Putarwali) Stems Methanolic Extract. *Jurnal Teknologi (Sciences & Engineering)*. 78 (11-2) : 35-40
- Sussman, M. 1997. *Escherichia coli : Mechanism of Virulence*. Cambridge : Cambridge University Press.
- Wardhani, L.K. dan N. Sulistyani. 2012. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Binahong (*Anredera scandens* (L.) Moq.) terhadap *Shigella flexneri* beserta Profil Kromatografi Lapis Tipis. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*. 2 (1) : 1-16.
- Yenny dan Herwana, E. 2007. Resistensi dari Bakteri Enterik : Aspek Global terhadap Antimikroba. *Universa Medicina*. 26 (1) : 46-56