

Antimicrobial Activity of Ant Plant (*Myrmecodia* sp.) Water Fraction to *Escherichia coli* and *Salmonella* sp. Growth

Roslizawaty¹, Robbi Ghani², Maryulia Dewi³, Darniati³, T. Armanyah TR⁴, Ginta Riady⁵, Nuzul Asmilial¹

¹Laboratorium Klinik Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

²Pendidikan Dokter Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

³Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

⁴Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

⁵Laboratorium Reproduksi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

Alamat Korespondensi: robbighani@gmail.com

ABSTRACT

The aim of this study was to determine antimicrobial activity of sarang semut (*Myrmecodia* sp.) to *Escherichia coli* and *Salmonella* sp. growth using Kirby Bauer methode. This study used Completely Randomized Design one way pattern. Sample used was water fraction of sarang semut with concentration of 25% (P2), 50% (P3), and 75% (P4). Positive control was amoxycillin and negative control was Aquadest. Data were analyzed by Analysis of Varians (ANOVA). Average clear zone formed on *Escherichia coli* of P0, P1, P2, P3, and P4 were 0; 18,76; 5,96; 6,4; and 7,8 mm, respectively. Average clear zone formed on *Salmonella* sp. of P0, P1, P2, P3, and P4 were 0; 33,63; 7,73; 10,5; and 11,56 mm, respectively. ANOVA analysis showed there was correlation between extract concentration and inhibition zone on each culture of *Escherichia coli* and *Salmonella* sp. T test on P2, P3, and P4 showed that this extract had better antimicrobial effect on *Salmonella* sp. compared to *Escherichia coli*. In conclusion, water fraction of *Myrmecodia* sp. had capability to inhibit *Escherichia coli* and *Salmonella* sp. growth.

Key words: water fraction, inhibition zone, ant plant (*Myrmecodia* sp.), *Escherichia coli*, *Salmonella* sp.

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Peningkatan kesadaran publik akan pentingnya penggunaan bahan-bahan alami dalam keperluan pangan maupun pengobatan turut memicu untuk dilakukannya beragam penelitian terhadap sejumlah bahan alami, terutama yang berasal dari tumbuh-tumbuhan. Penggunaan tumbuhan dalam pengobatan berdasarkan dari potensi kandungan yang dimilikinya, yaitu tumbuhan mampu memproduksi beragam senyawa organik, khususnya berupa metabolit sekunder yang kemudian memunculkan karakteristik pada tanaman tersebut dalam hal aroma, warna dan rasa, serta kadang mampu untuk menunjukkan aktivitas antimikrobia (Cowan yang disitasi oleh Jasmine dkk., 2011). Salah satu tumbuhan yang banyak diteliti adalah sarang semut (*Myrmecodia* sp.).

Tumbuhan sarang semut sudah banyak dipakai oleh penduduk Papua untuk menyembuhkan berbagai penyakit (Pratisto, 2006). Secara empiris, sarang semut menunjukkan berbagai manfaat diantaranya mampu menyembuhkan penyakit kulit, tumor, asam urat, migrain, rematik, leukimia dan juga TBC. Tumbuhan ini memiliki sejumlah kandungan senyawa aktif, diantaranya yaitu flavonoid, tanin, tokoferol, polifenol, dan juga kaya akan sejumlah mineral (Hermawati dan Arumsari, 2014).

Sarang semut memiliki sejumlah potensi pengobatan yang bisa diteliti, beberapa penelitian yang telah dilakukan menyebutkan bahwa tumbuhan sarang semut mampu bertindak sebagai antiinflamasi (Kristina dkk., 2008), menyembuhkan penyakit kanker (Achmad dkk., 2014), dan juga dapat berperan sebagai antibakteri (Roslizawaty dkk., 2013)

Secara umum, tumbuhan sarang semut memiliki senyawa aktif berupa flavonoid yang mampu berperan sebagai antibakteri (Hermawati dan Arumsari, 2014). Kandungan flavonoid dapat ditemukan pada berbagai obat herbal, senyawa ini memiliki kemampuan sebagai antiinflamasi, antitumor, antioksidan, dan antibakteria (Zhu dkk., 2007). Roslizawaty dkk. (2013), melaporkan bahwa ekstrak etanol sarang semut memiliki zona hambat luas untuk menekan pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

Kemampuan antimikroba yang dimiliki tumbuhan sarang semut (*Myrmecodia* sp.) dapat diuji lebih lanjut dalam bentuk fraksi air. Pilihan fraksi air dilatarbelakangi karena zat aktif terbanyak dari ekstrak etanol larut dalam air. Dari 1,8 gram ekstrak etanol yang dipartisi (fraksinasi) diperoleh fraksi heksan, fraksi kloroform, dan fraksi air masing-masingnya 0.1g, 0.4g dan 1.3g (Frengki dkk., 2014).

Terkait akan kemampuan antimikroba tumbuhan sarang semut, maka penulis melakukan uji antimikroba terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella* sp. *Escherichia coli* yang merupakan flora normal di pencernaan manusia maupun hewan (Andriani, 2005), namun dapat menjadi penyebab dari beragam penyakit, diantaranya mastitis, infeksi saluran kencing, gastroenteritis, neonatal meningitis, peritonitis, septicemia, dan pneumonia Gram negatif (Todar, 2007). Pada sejumlah kasus, *Salmonella* ditemukan sebagai patogen *foodborne* (Cumming dkk., 2012), bakteri ini dapat menyebabkan diare dan infeksi sistemik pada manusia, bakteri ini juga dapat menjadi penyebab sejumlah penyakit infeksius seperti *fowl typhoid*, pullorum, dan abortus pada hewan (Davies, 2010).

Berdasarkan paparan di atas maka akan dilakukan uji kemampuan antimikroba tumbuhan sarang semut (*Myrmecodia* sp.)

terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella* sp. menggunakan fraksi yang paling berpeluang diperoleh senyawa aktif (fraksi air).

MATERI DAN METODE

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Hewan, serta Laboratorium Biokimia Hayati Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh. Keseluruhan kegiatan penelitian pelaksanaannya dari bulan Juni sampai Agustus 2015.

Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah, timbangan digital, labu pisah, wadah kaca, *rotary evaporator*, *hot plate*, *erlenmeyer*, autoklaf, cawan petri, swab steril, ose, kertas label, inkubator, *rotamixer*, botol wadah, kertas cakram kosong, dan kertas cakram *amoxycillin*.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah fraksi air sarang semut (*Myrmecodia* sp.), sampel tanaman sarang semut tersebut diperoleh dari pasar Lambaro, Aceh Besar, isolat *Escherichia coli* dan *Salmonella* sp., kedua isolat terdapat di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, *Carboxymethyl Cellulose* (CMC), NaCl fisiologis, akuades, *Salmonella Shigella Agar* (SSA), *Nutrient Agar* (NA) dan *Mueller Hinton Agar* (MHA).

Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis eksperimental laboratorium, menggunakan

isolat *Escherichia coli* dan *Salmonella* sp. sebagai sampel penelitian. Pada penelitian ini, perlakuan dibagi atas 5 kelompok yaitu kelompok perlakuan kontrol negatif berupa cakram yang dilarutkan dengan akuades (P0), kelompok perlakuan kontrol positif berupa cakram *amoxycillin* (P1), dan tiga kelompok lain dengan fraksi air sarang semut dimana konsentrasi tiap kelompok berurutan adalah 25% (P2), 50% (P3), dan 75% (P4). Pada masing-masing perlakuan dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan.

Prosedur Penelitian **Pembuatan ekstrak**

Tumbuhan sarang semut yang dikoleksi dibersihkan dari kotoran (lumut) yang melekat, kemudian diiris tipis dan dikeringkan di bawah sinar matahari \pm 3 hari. Umbi sarang semut yang telah kering dihaluskan dengan cara diblender, kemudian ditimbang dan diperoleh serbuk. Serbuk tersebut diekstraksi dengan teknik maserasi menggunakan etanol 70% selama (3 x 24 jam), kemudian pelarut diuapkan dengan *rotary evaporator* dan diperoleh ekstrak etanol pekat. Pelarut dan air yang tersisa diuapkan dengan *rotary evaporator* hingga pelarut hilang.

Fraksinasi dilakukan menjadi 3 kelompok berdasarkan perbedaan kepolaran. Diawali dengan fraksi non polar dengan pelarut heksan. Ekstrak kering etanol dicampur dengan air dan heksan sama banyak (1:1) didalam corong pisah, kemudian dibiarkan semalaman hingga kedua pelarut memisah satu sama lain. Pelarut air posisinya dibawah sedangkan heksan diatas (berat jenis air lebih besar dari heksan). Kran corong dibuka dan ditampung dalam erlenmeyer hingga semua bagian air dan bagian terlarut air terkumpul semua.

Selanjutnya pelarut heksan dan zat yang terlarut didalamnya dikumpulkan dalam wadah lain. Pembuatan fraksi air,

yaitu dicampur dengan pelarut semi polar (kloroform) sama banyak di dalam corong pisah semalaman. Hingga terbentuk 2 lapisan cairan, dimana fraksi air dengan posisi dibawah, sedangkan fraksi kloroform diatas. Setelah dipisahkan dengan labu pisah, fraksi air diuapkan dengan *rotary evaporator*. Residu yang tersisa dari penguapan disebut dengan fraksi polar (fraksi air).

Persiapan media agar

Media MHA dibuat dengan cara melarutkan 38 gram bubuk media MHA dalam akuades, sampai volume 1 Liter. Larutan dipanaskan sampai bubuk benar-benar larut, selanjutnya dimasukkan kedalam erlenmeyer dan dilakukan sterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit pada tekanan 1 atm, 121°C. Media MHA yang sudah steril, didiamkan sampai kisaran suhu 40-45°C.

Persiapan bakteri

Penelitian ini menggunakan bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella* sp., isolat klinis yang terdapat di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala. Isolat kemudian diidentifikasi dan diremajakan kembali sebelum diuji sensitifitasnya dengan metode difusi cakram (metode Kirby-Bauer) pada media MHA.

Uji antibacterial

Pengujian aktifitas antimikrobal fraksi air sarang semut dilakukan dengan menggunakan metode Kirby Bauer. Biakan *Escherichia coli* dan *Salmonella* sp. yang tersedia di swab merata pada permukaan media MHA pada cawan petri steril berbeda. Kekeruhan bakteri sesuai dengan standar McFarland 0,5.

Kertas cakram (*blank disc*) direndam pada fraksi air sarang semut yang telah dilarutkan dengan konsentrasi 25%, 50% dan 75%. Masing-masing kertas cakram yang telah direndam kemudian didiamkan dari cairan berlebih selama ± 5 menit sampai tidak ada cairan yang menetes. Selain itu kertas cakram *amoxycillin* dan kertas cakram yang telah direndam akuades turut dipersiapkan. Setelah siap pakai, semua kertas cakram diletakkan pada media MHA yang telah terdapat biakan bakteri, dengan jarak yang disesuaikan, lalu ditekan sedikit agar melekat pada permukaan agar. Prosedur ini dilakukan pada tiga cawan petri berbeda untuk masing-masing bakteri.

Parameter Penelitian

Kemampuan antimikroba fraksi air tumbuhan sarang semut (*Myrmecodia* sp.) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella* sp. diukur berdasarkan luas zona hambat yang terbentuk.

Analisis Data

Data dari penelitian aktivitas antimikroba fraksi air sarang semut (*Myrmecodia* sp.) terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Salmonella* sp. dianalisis dengan uji ANAVA berdasarkan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Kemudian untuk membandingkan beda rata-rata luas zona hambat yang diperoleh pada biakan *Escherichia coli* dan *Salmonella* sp. maka dilakukan uji T.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis Kemampuan Antimikroba Sarang Semut

Hasil Analisis Varian (ANAVA) terhadap kemampuan antimikroba tumbuhan

sarang semut berdasarkan zona hambat yang terbentuk ditampilkan pada Tabel 1.

Selanjutnya dilakukan uji t untuk melihat perbandingan hasil zona hambat perlakuan P2, P3, dan P4 pada biakan *Escherichia coli* dan *Salmonella* sp. yang ditampilkan pada Tabel 2.

Hasil analisis menggunakan ANAVA terhadap masing-masing perlakuan menunjukkan perbedaan nyata, artinya ada pengaruh konsentrasi terhadap luas zona hambat yang terbentuk pada biakan bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella* sp. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Roslizawaty dkk. (2013), bahwa ekstrak sarang semut dengan konsentrasi tinggi dapat menghasilkan zona hambat yang lebih luas.

Hasil analisis menggunakan uji t terhadap rata-rata zona hambat pada tiap perlakuan antar biakan bakteri, menunjukkan perbedaan nyata, dengan kata lain sesuai dari tabel maka rata-rata zona hambat yang terbentuk pada biakan *Salmonella* sp. adalah lebih baik ketika dibandingkan dengan rata-rata zona hambat yang terbentuk pada biakan *Escherichia coli*. Sehingga dapat dibaca bahwa fraksi air sarang semut memiliki potensi yang lebih baik untuk menghambat *Salmonella* sp. dibandingkan untuk menghambat *Escherichia coli*.

Dapat diamati bahwa, zona hambat yang terbentuk pada biakan adalah luas, yaitu meningkat pada tiap perlakuan sesuai dengan konsentrasi yang diberikan, hal ini sesuai dengan hasil penelitian Roslizawaty dkk. (2013), yang menyatakan bahwa ekstrak sarang semut dengan konsentrasi tinggi dapat menghasilkan zona hambat yang lebih luas. Morales dkk. (2003), menyebutkan bahwa zona hambat akibat aktivitas antimikroba yang terbentuk pada biakan dapat dijelaskan bahwa, 0 mm tidak terdapat aktivitas dan bernilai (-), ukuran 6-10 mm terdapat aktivitas dan bernilai (+), 11-20 mm (++), dan 21-30 mm (+++). Dari

hasil pengamatan, maka rata-rata P2, P3, dan P4 (5,96; 6,40; dan 7,86) pada biakan *Escherichia coli* bernilai (+), sedang pada biakan *Salmonella* sp. yang mana rata-rata P2, P3, dan P4 (7,73; 10,50; dan 11,56) bernilai (+) untuk P2, dan bernilai (++) untuk P3 dan P4.

Zona hambat merupakan permukaan bening yang terbentuk disekitar sampel uji dan kontrol, besarnya zona hambat diukur berdasarkan diameternya menggunakan jangka sorong. Zona hambat yang terbentuk dalam uji ini diperkirakan berasal dari zat aktif yang terdapat dalam tumbuhan ini. Zat aktif tumbuhan sarang semut berupa golongan senyawa alkaloid, steroid, saponin, tanin dan polifenol.

Kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri diperkirakan berasal

dari potensi kemampuan zat antibiotik yang dimiliki tumbuhan sarang semut, zat antibiotik memiliki mekanisme berupa menghambat sintesis DNA atau RNA, menghambat sintesis dinding sel bakteri, dan menghambat sintesis protein (Kohanski dkk., 2010).

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa fraksi air tumbuhan sarang semut (*Myrmecodia* sp.) mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella* sp. Rata-rata zona hambat yang terbentuk dari fraksi air tumbuhan sarang semut pada biakan *Salmonella* sp. adalah lebih baik apabila dibandingkan dengan biakan *Escherichia coli*.

Tabel 1. Rata-rata (±SD) luas zona hambat fraksi air tanaman sarang semut pada biakan *Escherichia coli* dan *Salmonella* sp.

Biakan	Luas Zona Hambat (mm)				
	P0	P1	P2	P3	P4
<i>Escherichia coli</i>	0±0 ^a	12,53±10,9 ^b	5,96±0,5 ^c	6,4±0,3 ^c	23,6±0,7 ^d
<i>Salmonella</i> sp.	0±0 ^a	33,63±2,0 ^b	7,73±1,1 ^c	10,5±0,7 ^d	11,56±1,5 ^d

P0 : Kontrol negatif (akuades)

P1 : Kontrol positif (*amoxycillin*)

P2 : Konsentrasi 25%

P3 : Konsentrasi 50%

P4 : Konsentrasi 75%

^{abcd} : Superskrip huruf kecil yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata (p<0,05)

Tabel 2. Hasil analisis perbandingan rata-rata zona hambat menggunakan uji t terhadap luas zona hambat P2, P3, dan P4 pada *Salmonella* sp. dan *Escherichia coli*.

Perlakuan	Luas Zona Hambat (rata-rata ± SD)	
	<i>Salmonella</i> sp	<i>Escherichia coli</i>
P2	7,73 ± 1,05 ^a	5,96 ± 0,45 ^b
P3	10,5 ± 0,69 ^a	6,4 ± 0,36 ^b
P4	11,56 ± 1,46 ^a	7,86 ± 0,64 ^b

^{ab}Superskrip huruf kecil yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata pada kolom yang berbeda (p<0,05)

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, H., M.H. Chandha, S. Ramadhany, H. Handayani, and R. Samad. 2014. The role of sarang semut (*Myrmecodia pendans*) flavonoid's fraction in proliferation and angiogenesis inhibition of human tongue squamous cell carcinoma. **J. Biology, Agriculture and Healthcare**. 4(21): 65-69.
- Andriani. 2005. *Escherichia coli* 0157 H:7 sebagai penyebab Penyakit Zoonosis. **Prosiding Lokakarya Nasional Penyakit Zoonosis**. Bogor. 173-177.
- Cumming, P.L., F. Sorvillo, and T. Kuo. 2012. The Burden of Salmonellosis in the United States. Mahmoud, B. S. M. (ed). **Salmonella – a Dangerous Foodborne Pathogen**. InTech Open Access Publisher. Kroasia.
- Davies, R. 2010. *Salmonellosis. Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals 2015*. OIE Terrestrial Manual. Paris.
- Frengki, Roslizawaty, dan D. Pertiwi. 2014. Uji toksisitas ekstrak etanol sarang semut lokal Aceh (*Myrmecodia* sp.) dengan metode BSLT terhadap larva udang *Artemia salina* leach. **J. Medika Veterinaria**. 7(1): 60-62.
- Hermawati, R. dan D. Arumsari. 2014. **Khasiat Ajaib Sarang Semut Berantas Berbagai Penyakit**. Penerbit Padi, Jakarta.
- Jasmine, R., B.N. Selvakumar, and P. Daisy. 2011. Investigating the mechanism of action of terpenoids and the effect of interfering substances on an indian medicinal plant extract demonstrating antibacterial activity. **International Journal of Pharmaceutical Studies and Research**. 2(2): 19-24.
- Kohanski, M.A., D.J. Dwyer, and J.J. Collins. 2010. How Antibiotics Kill Bacteria: From Target Networks. **Nature Reviews Microbiology**. 8(12): 423-435.
- Morales, G., P. Sierra, A. Mancilla, A. Paredes, L.A. Loyola, O. Galardo, and J. Borquez. 2003. Secondary metabolites from four medicinal plants from northern Chile: antimicrobial activity and biotoxicity against *Artemia salina*. **J. Chil. Chem. Soc (online version)**. 48(2).
- Kristina, D. 2008. Efek Antiinflamasi Ekstrak Etanol Umbi Sarang Semut (*Myrmecodia pendans* merr. & perry) Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus* l.). **Skripsi**. Jurusan Biologi, Universtas Sebelas Maret, Surakarta.
- Pratisto, S.D. 2006. Sarang Semut Multi Khasiat. **Majalah Gatra**, Jakarta
- Roslizawaty, N.Y. Ramadani, Fakhurrrazi dan Herrialfian. 2013. Aktivitas antibakterial ekstrak etanol dan rebusan sarang semut (*Myrmecodia* sp.) terhadap bakteri *Escherichia coli*. **J. Medika Veterinaria**. 7(2): 91-94.
- Todar, K. 2007. **Pathogenic Escherichia coli. Online Textbook of Bacteriology**. University of Wisconsin–Madison Department of Bacteriology, United States of America.
- Zhu, Y.Z., B. K-H Tan, B. Bay, and C.H. Liu. 2007. **Natural Products, Essential Resources for Human Survival**. World Scientific Publishing, England.