

Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Bunga Teratai (*Nymphaea pubescens* Willd)

Amalia Khairunnisa*, Nashrul Wathan, Mia Fitriana, Fadlilaturrahmah, Nisriyati Fiddina

Program Studi Farmasi Fakultas MIPA Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru,
Kalimantan Selatan, Indonesia

*Email: amalia.khairunnisa@ulm.ac.id

ABSTRAK

Nymphaea pubescens Willd telah diketahui mempunyai efek antibakteri, terutama pada biji dan daunnya. Tetapi sampai saat ini bagian bunga dari tanaman tersebut belum dilakukan pengujian aktivitas antibakteri. Tujuan dari penelitian ini untuk melakukan skrining fitokimia, uji aktivitas antibakteri dan penentuan konsentrasi hambat minimum (KHM) dari ekstrak metanol bunga *N. pubescens* terhadap *S. aureus* dan *E. coli*. Proses ekstraksi bunga *N. pubescens* dimaserasi menggunakan pelarut metanol dengan perbandingan 1: 4 b/v. Metode pengujian yang digunakan ada dua yaitu metode difusi untuk pengujian aktivitas antibakteri dan metode dilusi untuk pengukuran konsentrasi hambat minimum (KHM). Hasil skrining fitokimia didapatkan bahwa ekstrak metanol bunga *N. pubescens* mengandung senyawa golongan fenolik, saponin dan flavonoid. Hasil pengujian aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak metanol bunga *N. pubescens* mampu menghambat *S. aureus* (diameter hambat $10 \pm 0,29$ mm) dan *E. coli* (diameter hambat $10,2 \pm 0,50$ mm). Konsentrasi hambat minimum dari ekstrak metanol bunga *N. pubescens* terhadap *S. aureus* sebesar 12,5% dan terhadap *E. coli* sebesar 25%. Dapat disimpulkan bahwa ekstrak metanol bunga *N. pubescens* memiliki aktivitas sebagai antibakteri.

Kata Kunci: *Nymphaea pubescens*, bunga teratai, ekstrak metanol, antibakteri

ABSTRACT

Nymphaea pubescens Willd has known to have antibacterial effects, especially on the seeds and leaves. However, until now the flower of the plant has not been tested for antibacterial activity. The purpose of this study was to perform phytochemical screening, antibacterial activity test and determine the minimum inhibitory concentration (MIC) of the methanol extract of *N. pubescens* flowers against *S. aureus* and *E. coli*. The process of extracting *N. pubescens* flowers is macerated using methanol as a solvent with a ratio of 1: 4 w / v. There are two test methods used, namely the diffusion method for testing antibacterial activity and the dilution method for measuring the minimum inhibitory concentration (MIC). The results of phytochemical screening showed that the methanol extract of *N.*

pubescens flowers contained phenolic compounds, saponins, and flavonoids. The results of the antibacterial activity test showed that the methanol extract of *N. pubescens* flowers was able to inhibit *S. aureus* (inhibition diameter 10 ± 0.29 mm) and *E. coli* (inhibitory diameter 10.2 ± 0.50 mm). The minimum inhibitory concentration of the methanol extract of *N. pubescens* flowers against *S. aureus* was 12.5% and against *E. coli* was 25%. It can be concluded that the methanol extract of *N. pubescens* flowers has antibacterial activity

Keywords: *Nymphaea pubescens*, lotus flower, methanol extract, antibacterial

I. PENDAHULUAN

Teratai (*Nymphaea pubescens* Willd) termasuk tumbuhan yang hidup di rawa atau di daerah sungai yang tidak begitu dalam. Kalimantan Selatan termasuk provinsi yang sebagian besar berupa rawa dan banyak ditumbuhi teratai (BPS Kalimantan Selatan, 2000). Bagian teratai yang biasa dimanfaatkan adalah biji, bunga, batang dan *rhizoma*. *Nymphaea pubescens* Willd, biasa disebut dengan ‘*hairy water-lily*’, mengandung pati yang tinggi, protein, lemak, alkaloid, flavonoid, steroid, glikosida, tanin, triterpenoid, dan saponin (Fitrial *et al.*, 2012). Teratai memiliki khasiat sebagai antidiabetes (Debnath *et al.*, 2013) dan menghambat pertumbuhan bakteri (Waiedee, 2015 ; Fitrial *et al.*, 2008 ; Dash, 2013).

Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* merupakan flora normal pada hewan dan manusia. Kedua bakteri tersebut termasuk bakteri yang bersifat patogen atau dapat membahayakan. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif dengan habitat alami pada

kulit, mukosa hidung, mulut, dan usus besar namun apabila sistem imun dalam keadaan lemah bakteri dapat menyebabkan infeksi (Jawetz, 2007). *Escherichia coli* merupakan bakteri Gram negatif dan termasuk flora normal di dalam saluran pencernaan hewan dan manusia yang dapat menjadi patogen apabila berpindah dari habitat normalnya ke bagian lain dari inang (Melliawati, 2009). Kerugian akibat kedua patogen ini dapat dihambat menggunakan antibiotik. Antibiotik merupakan substansi kimiawi yang mempunyai kemampuan untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh mikroorganisme (Dorland, 1998).

Penelitian tentang aktivitas antibakteri tanaman *N. pubescens* telah banyak dilakukan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan pelarut metanol pada proses ekstraksi efektif dalam menarik senyawa antibakteri pada biji *N. pubescens* (Fitrial *et al.*, 2008); daun *N. pubescens* (Waiedee *et al.*, 2015); dan bunga *N. nouchali* Burm. F (Dash *et al.*, 2013) akan tetapi, penelitian tentang

aktivitas antibakteri pada bunga *N. pubescens* belum pernah dilakukan. Penelitian ini menjadikan keterbaruan dalam penggunaan bunga teratai untuk antibakteri sehingga akan dilakukan skrining fitokimia yang terdapat dalam ekstrak metanol bunga *N. pubescens*, uji aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* dan *E. coli* yang dihitung berdasarkan zona hambat serta penentuan konsentrasi hambat minimum ekstrak metanol bunga *N. pubescens* dalam menghambat *S. aureus* dan *E. coli*.

II. METODE

A. Bahan

Bunga teratai putih (*N. pubescens*) metanol p.a, kertas saring Whatman, pereaksi *Dragendorff*, pereaksi *Mayer*, pereaksi *Wagner*, HCl 2N, kloroform, asam asetat anhidrat, H₂SO₄, FeCl₃ 1%, akuades, serbuk magnesium, HCl pekat, standar *Mc Farland* 0,5, *Nutrient Agar* (NA), *Nutrient Broth* (NB), kloramfenikol (Oxoid LTD), paper disk dan biakan bakteri *S. aureus* ACC 25923 dan *E. coli*. ATCC 25929 koleksi Laboratorium Balai Riset dan Standardisasi Banjarbaru.

B. Alat

Alat gelas, blender, kawat ose, bunsen, cawan petri, *spreader*, aluminium foil, timbangan analitik (Ohaus & CHQ DJ1002B), pengayak (RETSCH),

maserator, *rotary evaporator* (Laboxact), *waterbath* (Memmert), lemari pendingin (Modena), *autoclave* Tomy (sx-500), oven (Thermoline), inkubator (Memmert), *laminar air flow*, vortex (QLS MC-2500), lemari steril (Ellitech).

C. Determinasi Tanaman

Determinasi dilakukan di Laboratorium Dasar FMIPA Universitas Lambung Mangkurat dan membandingkan sampel dengan pustaka.

D. Pembuatan Simplisia Serbuk bunga *N. pubescens*

Sampel dikumpulkan dan dibersihkan dari benda-benda asing (sortasi basah). Sampel yang telah dicuci bersih dipotong dan dikeringkan di bawah sinar matahari tidak langsung. Setelah sampel kering, sampel dipisahkan dari benda-benda asing (sortasi kering). Sampel selanjutnya dihaluskan menggunakan blender kemudian diayak. Serbuk halus yang diperoleh ditimbang kemudian disimpan dalam wadah bersih dan tertutup rapat (Modifikasi Waidee *et al.*, 2015)

E. Pembuatan Ekstrak

Ditimbang sebanyak 300 gram serbuk bunga *N. pubescens* kemudian dimaserasi menggunakan pelarut metanol (perbandingan 1:4 b/v) selama 3x24 jam pada suhu kamar. Sampel dimaserasi

dengan metanol p.a selama 3 x 24 jam dengan perbandingan sampel : pelarut metanol yakni (1:4 b/v) pada suhu kamar. Sampel diaduk setiap 8 jam dan pelarut diganti setiap 24 jam dengan jumlah yang sama dengan yang pertama. Sampel disaring dengan menggunakan kertas saring setiap pergantian pelarut hingga diperoleh filtrat dan residu. Filtrat yang diperoleh dikumpulkan kemudian ekstrak cair dipekatkan dan diuapkan pelarutnya menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C sampai terbentuk ekstrak pekat. Ekstrak ditimbang hingga diperoleh bobot tetap (Modifikasi Fitriani *et al.*, 2008). Setelah itu dihitung rendemen ekstrak dengan menggunakan rumus (Nasution, 2015):

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat sampel}} \times 100\% \text{ -- (1)}$$

F. Skrining Fitokimia

1. Alkaloid

Keberadaan alkaloid dilakukan dengan uji *Dragendorff*, uji *Mayer*, dan Uji *Wagner*. Ekstrak dimasukkan ke dalam 3 tabung reaksi masing-masing sebanyak 2 mL. Tabung pertama ditambahkan 2 mL pereaksi *Dragendorff*, tabung kedua ditambahkan 2 mL pereaksi *Mayer* dan tabung ketiga ditambahkan 2 mL pereaksi *Wagner*. Hasil uji positif bila dengan penambahan reaksi *Meyer* terbentuk endapan putih kekuningan, dengan pereaksi *Wagner* terbentuk endapan coklat dan

dengan pereaksi *Dragendorff* terbentuk endapan merah hingga jingga. Jika pengujian terhadap salah satu pereaksi positif, maka dalam tumbuhan uji tersebut terdeteksi alkaloid (Harborne, 1987).

2. Steroid / Triterpenoid

Identifikasi senyawa steroid dilakukan dengan menggunakan uji *Liebermann-Burchard*. Sebanyak 2 mL ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan dengan kloroform secukupnya, 2 mL asam asetat anhidrat dan 2 mL H₂SO₄ pekat melalui dinding tabung] Adanya senyawa golongan terpenoid akan ditandai dengan timbulnya warna merah sedangkan adanya senyawa golongan steroid ditandai dengan munculnya warna biru. (Harborne, 1987).

3. Fenolik

Keberadaan golongan fenolik dilakukan dengan uji FeCl₃. Sebanyak 1 mL ekstrak dilarutkan dalam aquades di dalam tabung reaksi. Kemudian larutan ditambahkan 2-3 tetes FeCl₃ 1%. Jika terjadi perubahan warna menjadi hijau, merah, ungu, biru atau hitam pekat maka ekstrak positif mengandung senyawa fenolik (Harborne, 1987).

4. Saponin

Uji saponin menggunakan uji busa. Sebanyak 2 mL ekstrak dimasukkan ke

dalam tabung reaksi, ditambahkan 5 mL akuades dan dikocok kuat selama 10 detik. Reaksi dikatakan positif terhadap saponin jika terbentuk buih yang stabil selama tidak kurang dari 10 menit dilanjutkan penambahan 1 tetes HCL 2N dan tetap terlihat buih. (Harborne, 1987).

5. Flavonoid

Uji flavonoid menggunakan uji *Shinoda*. Sebanyak 2 mL ekstrak metanol dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 0,1 mg serbuk magnesium serta 0,5 mL asam klorida pekat. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga (Harborne, 1987).

G. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Bunga Teratai

1. Peremajaan bakteri uji

Sebanyak 1 mL stok bakteri *E.coli* dan *S.aureus* diinokulasi kedalam tabung reaksi yang telah berisi media NB. Inkubasi dilakukan selama 24 jam pada suhu 37°C.]

2. Pembuatan standard *Mc Farland* dan suspensi bakteri uji

Bakteri *E. coli* dan *S. aureus* yang berumur 18-24 jam pada media NB diambil dengan kawat ose steril. Masing-masing bakteri disuspensikan ke dalam tabung berisi 2 mL larutan saline steril, kemudian divortex hingga terbentuk suspensi halus.

Sesuaiakan kekeruhan suspensi dengan standard *Mc Farland* no. 0,5 ($1,5 \times 10^8$ CFU/mL) secara visual. Suspensi ini digunakan dalam waktu tidak lebih dari 15 menit. Pembuatan larutan *Mc Farland* no. 0,5 dengan mencampurkan H₂SO₄ 0,36 N sebanyak 9,95 mL ke dalam 0,05 mL BaCl₂ 1,175 % ke dalam labu ukur kemudian digojog hingga homogen (Ngajow *et al.*, 2013).

3. Uji pendahuluan antibakteri ekstrak metanol bunga teratai

Sebanyak 0,2 mL suspensi bakteri *S. aureus* dan *E.coli* masing-masing diinokulasi ke dalam cawan petri yang telah berisi media NA secara *spread plate* kemudian dibiarkan permukaan agar mengering. Kertas cakram (diameter 6 mm) yang telah diisi ekstrak konsentrasi 50%, antibiotik kloramfenikol 1% sebagai kontrol positif dan akuades sebagai kontrol negatif diletakkan di atas lapisan NA secara aseptis. Kontrol kontaminasi media hanya berisi media pengujian (NA) sedangkan kontrol bakteri uji berisi media NA dan bakteri uji. Cawan petri diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C (Poeloengan & Praptiwi, 2010). Rumus untuk menghitung zona hambat adalah sebagai berikut (Warbung *et al.*, 2014).

$$\text{Zona hambat} = \frac{d_1 + d_2}{2} - X \text{ --- (2)}$$

Keterangan :

d1 = Diameter vertikal zona bening pada media

(mm)
 d^2 = Diameter horizontal zona bening pada media (mm)

X = Diameter disk (6 mm)

Berdasarkan hasil luas zona hambat yang diamati dapat dikategorikan sebagai berikut, >20 mm dikategorikan sangat kuat, 10-20 mm dikategorikan kuat, 5-10 mm dikategorikan sedang dan <5 mm dikategorikan lemah. Nilai zona hambat yang diperoleh dari sampel dan kloramfenikol yang diuji dengan *Shapiro-Wilk* terlebih dahulu untuk mengetahui normalitas penyebaran data. Uji normalitas diperoleh Signifikansi <0,05 menunjukkan bahwa data tidak terdistribusi normal Analisis dilanjutkan menggunakan uji nonparametrik *Mann Whitney* untuk membedakan kelompok bakteri uji dan kelompok kontrol dengan membandingkan zona hambat ekstrak metanol bunga *N. pubescens* terhadap kelompok kontrol dari masing-masing bakteri uji (Ngajow *et al.*, 2013).

4. Penentuan KHM ekstrak metanol bunga teratai

Nutrient Broth steril disiapkan 9 mL per tabung per konsentrasi ekstrak yang diuji untuk setiap bakteri. Masing-masing ekstrak konsentrasi 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,5625% (b/v) ditambahkan sebanyak 0,5 mL secara aseptis dan ditambahkan pula 0,5 mL suspensi bakteri ke dalam media NB. Sebelum diinkubasi

pada suhu 37°C selama 24 jam, setiap tabung diamati seksama dan diukur absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis panjang gelombang 600 nm. Setelah inkubasi tabung dilusi kembali diamati seksama dan diukur absorbansinya pada spektrofotometer UV-Vis panjang gelombang 600 nm (Magdalena & Kusnadi, 2014). Hasil pengamatan dibandingkan kekeruhannya antara sebelum dan sesudah inkubasi dan nilai absorbansi sebelum dan sesudah inkubasi. Bertambahnya nilai absorbansi setelah dilakukan inkubasi menunjukkan adanya pertumbuhan sel bakteri yang hidup, sedangkan nilai konstan atau berkurangnya nilai absorbansi setelah inkubasi menunjukkan tidak adanya pertumbuhan sel bakteri yang (Astutiningsih, 2014).

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Determinasi Tanaman

Determinasi bertujuan untuk membuktikan kebenaran bahan yang digunakan dalam penelitian (Djamil & Anelia, 2009). Sampel diperoleh dari habitat asli sungai dan rawa daerah Kabupaten Barito Kuala, Kalimantan Selatan. Nama lokal *N. pubescens* di Kalimantan dikenal dengan nama teratai atau talipuk. Hasil uji menunjukkan sampel adalah *N. pubescens*.

B. Pembuatan Ekstrak

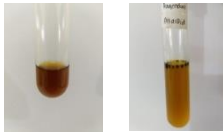
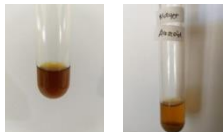
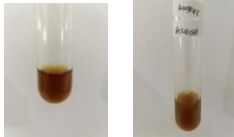
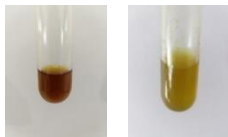
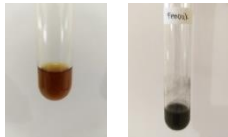
Proses ekstraksi dilakukan


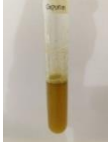


menggunakan metode maserasi. Penggunaan metanol p.a sebagai pelarut universal bertujuan agar semua senyawa dapat tersari dengan baik (Djamil & Anelia, 2009) karena metanol memiliki gugus polar (-OH) dan gugus nonpolar (-CH₃) (Astrina *et al.*, 2013). Pelarut metanol memiliki konstanta dielektrik tinggi sehingga mampu

membuka dinding sel yang mengakibatkan hampir semua senyawa dapat tertarik keluar dari dalam sel (Sari *et al.*, 2008). Ekstrak metanol bunga *N. pubescens* berwarna hitam (*oily*) dan berbau khas. Ekstrak yang diperoleh sebesar 40,09 gram. Rendemen ekstrak yang diperoleh dari 300 gram serbuk adalah 13,36%.

C. Skrining Fitokimia

Tabel I. Komponen fitokimia ekstrak metanol bunga *N. pubescens*

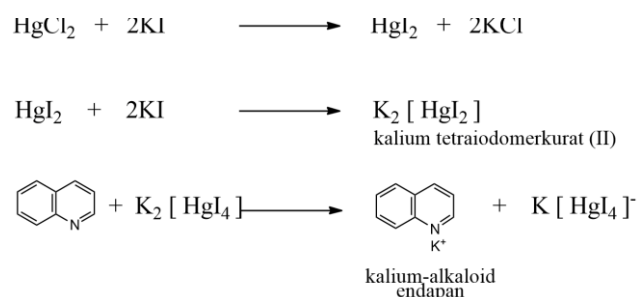
No	Komponen Fitokimia	Hasil	Keterangan	
1	Alkaloid	-	Terbentuk larutan coklat keruh	
			Sebelum	Sesudah
				
	Uji Mayer	+	Terbentuk endapan kekuningan	
			Sebelum	Sesudah
				
	Uji Wagner	-	Terbentuk larutan coklat keruh	
			Sebelum	Sesudah
				
2	Steroid / Triterpenoid	-	Terbentuk larutan berwarna kuning – coklat pudar	
			Sebelum	Sesudah
				
3	Fenolik	+	Terbentuk larutan berwarna hitam pekat	
			Sebelum	Sesudah
				

No	Komponen Fitokimia	Hasil	Keterangan
4	Saponin	+	Terbentuk buih stabil selama 5 menit Sebelum  Sesudah 
5	Flavonoid	+	Terbentuk larutan berwarna merah Sebelum  Sesudah 

Keterangan: (+) menunjukkan hasil positif (-) menunjukkan hasil negatif

1. Alkaloid

Keberadaan alkaloid pada ekstrak metanol bunga *N. pubescens* dilakukan melalui uji *Dragendorff*, uji *Mayer* dan uji *Wagner*. Penambahan HCl yang bersifat asam digunakan untuk mengekstrak alkaloid yang bersifat basa (Harborne, 1996). Uji *Mayer* membentuk endapan kekuningan yang menandakan positif mengandung alkaloid. Pada pereaksi *Mayer*, larutan merkuriem (II) klorida ditambah kalium iodida akan membentuk edapan merkuriem (II) iodida. Kalium iodida yang berlebih akan membentuk tetra iodomerkurat (II). Nitrogen yang terkandung dalam alkaloid bereaksi dengan ion logam K^+ dari tetraiodomerkurat (II) pereaksi *Mayer* sehingga membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap (Marliana *et al.*, 2005). Adapun persamaan reaksinya sebagai berikut.



Gambar 1. Persamaan reaksi uji *Mayer* (Marliana *et al.*, 2005)

Pada uji *Wagner* larutan diperkirakan tidak mengandung alkaloid karena membentuk larutan berwarna coklat keruh. Uji *Dragendorff* terbentuk larutan berwarna coklat keruh menandakan hasil negatif karena tidak terbentuknya endapan merah hingga jingga. Hal ini dimungkinkan pada Uji *Wagner* antara ion bismuth nitrat dan KI tidak terbentuk Bismut (III) Iodida secara berlebih sehingga tidak terbentuk kompleks kalium tetraiodobismutat yang mengakibatkan ion K^+ pada KI tidak berikatan membentuk Kalium- Alkaloid

yang berupa endapan, begitu pula dengan uji Dragendroff tidak terbentuk endapan kalium-Alkaloid.

2. Fenolik

Ekstrak metanol *N. pubescens* positif mengandung fenolik ditandai dengan perubahan warna menjadi hitam pekat. Pada penambahan FeCl_3 , gugus fenol akan berikatan dengan FeCl_3 membentuk kompleks berwarna hitam kebiruan.

3. Saponin

Berdasarkan uji busa, ekstrak metanol *N. pubescens* positif mengandung saponin. Hasil positif uji busa ditandai dengan terbentuknya buih stabil selama 5 menit (Harborne, 1987). Saponin adalah senyawa yang memiliki gugus hidrofilik dan hidrofob. Terbentuknya buih karena adanya gugus hidrofil yang terikat dengan air dan gugus hidrofob dengan udara. Penambahan HCl 2N menambah kepolaran dari gugus hidrofil sehingga terbentuk buih yang lebih stabil (Simaremare, 2014). Senyawa yang memiliki gugus polar dan nonpolar bersifat aktif permukaan, sehingga saat saponin dilakukan uji busa menggunakan akuades dapat membentuk misel. Saat struktur misel terbentuk, gugus polar menghadap ke luar sedangkan gugus nonpolarnya menghadap ke dalam, keadaan ini akan tampak seperti busa (Minarno,

2015).

4. Flavonoid

Uji kualitatif senyawa flavonoid diketahui dengan uji *shinoda*. Hasil pengujian positif dengan perubahan warna menjadi merah. Penambahan serbuk magnesium (Mg) dan asam klorida pekat menyebabkan tereduksinya senyawa flavonoid sehingga menimbulkan reaksi berwarna merah. Penambahan asam klorida pekat digunakan untuk menghidrolisis flavonoid menjadi aglikonnya dengan menghidrolisis O-glikosil. Glikosil akan tergantikan H^+ dari asam karena sifat elektrofilik. Reduksi menggunakan magnesium dan asam klorida pekat menghasilkan senyawa kompleks berwarna merah atau jingga pada flavonol, flavon, dan xanton (Robinson, 1995). D

D. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Bunga Teratai

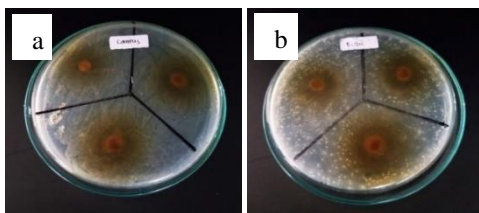
Tabel II. Hasil zona hambat ekstrak metanol bunga *N. pubescens* konsentrasi 50% terhadap bakteri *S. aureus*, *E. coli*

Bakteri Uji	Rata-rata \pm SD (mm)
<i>S. aureus</i>	10 \pm 0,29
K (+)	6,3 \pm 0,29
K (-)	0
<i>E. coli</i>	10,2 \pm 0,5
K (+)	19,8 \pm 1,15
K (-)	0

Keterangan: K (+) kloramfenikol 1% dan K (-) akuades

Uji pendahuluan aktivitas antibakteri dilakukan dengan cara difusi

kertas cakram. Pada Uji difusi digunakan perbandingan ekstrak dengan pelarut akuades sebesar (1:2 b/v) atau konsentrasi sebesar 50%. Konsentrasi ini digunakan pada uji pendahuluan untuk mengetahui apakah terdapat aktivitas penghambatan pertumbuhan pada konsentrasi tersebut. Prinsip pengujian pada metode difusi kertas cakram (*Kirby-Bauer*). Hasil menunjukkan bahwa ekstrak metanol bunga *N. pubescens* menghambat pertumbuhan *S. aureus* dan *E. coli* dengan terbentuknya zona bening di sekitar kertas cakram dengan konsentrasi 50 % sehingga penentuan KHM konsentrasi diuji dilakukan pada konsentrasi di bawah 50%. Zona bening terlihat berwarna jingga karena adanya difusi ekstrak bunga *N. pubescens* pada media agar. Ekstrak metanol bunga *N. pubescens* memiliki aktivitas antibakteri yang kuat pada *E. coli* karena rata-rata diameter yang dihasilkan berada pada rentang 10-20 mm, sedangkan pada *S. aureus* masuk dalam kategori sedang karena rata-rata diameter yang dihasilkan berada pada rentang 5-10 mm yakni $10 \pm 0,29$ mm. (Tabel 2).



Gambar 1. Ekstrak metanol konsentrasi 50% terhadap bakteri (a) *S. aureus* dan (b) *E. coli*

Penelitian ini menggunakan akuades steril sebagai kontrol negatif untuk membuktikan ada atau tidaknya peran pelarut dalam pembentukan zona hambat sehingga dapat diketahui bahwa yang mempunyai aktivitas antibakteri hanya ekstrak bunga *N. pubescens*. Sedangkan metanol tidak digunakan sebagai kontrol negatif karena telah diuapkan hingga bobot tetap pada proses ekstraksi (Nuria *et al.*, 2009). Metanol diuapkan ditandai terbentuknya bobot tetap setelah proses maserasi, metanol berevaporasi dan membentuk ekstrak kasar yang mengandung berbagai senyawa metabolit sekunder (Dewi *et al.*, 2014). Hasil uji difusi akuades steril tidak menghasilkan zona hambat, sehingga tidak berpengaruh dalam pembentukan zona hambat ekstrak bunga *N. pubescens*.

Kontrol positif yang digunakan pada penelitian ini yaitu kloramfenikol. Kloramfenikol memiliki kemampuan antibiotik dengan spektrum luas yang mampu menghambat dan membunuh bakteri gram positif maupun gram negatif (Sumardjo, 2009). Mekanisme kloramfenikol dalam menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara menghambat sintesis protein (Setiabudy, 2007). Pemilihan kloramfenikol 1% sebagai pembanding mengingat dosis kloramfenikol sebagai sediaan topical yang sudah banyak digunakan yakni 10 mg/g (

Chan, 2010). Hasil pengujian menunjukkan zona hambat lebih besar pada *E. coli* daripada *S. aureus*. Berdasarkan interpretasi diameter zona hambat dari CLSI (2017), potensi kloramfenikol 30 µg (3%) pada *S. aureus* menghasilkan diameter sebesar 19-26 mm sedangkan pada *E. coli* sebesar 21-27 mm.

Kontrol media tanpa ada perlakuan lain digunakan untuk mengetahui bahwa media bebas dari kontaminasi. Sedangkan kontrol bakteri uji *S. aureus* dan *E. coli* membuktikan bahwa bakteri uji tetap dapat hidup setelah perlakuan, sehingga cara kerja sudah tepat. Hasil setelah pengujian kontrol kontaminasi media tetap bebas dari pertumbuhan bakteri maupun jamur. Kontrol bakteri uji *S. aureus* dan *E. coli* tumbuh dengan baik pada media.

Tabel III. Analisis hasil uji nonparametrik *Mann-Whitney*

Sampel	P (Asymp. Sig)	Hasil Uji
<i>S. aureus</i> Kontrol (+)	0,046	Berbeda bermakna
<i>S. aureus</i> Kontrol (-)	0,037	Berbeda bermakna
<i>E. coli</i> Kontrol (+)	0,043	Berbeda bermakna
<i>E. coli</i> Kontrol (-)	0,034	Berbeda bermakna

Diameter zona hambat diuji *Shapiro-Wilk* untuk mengetahui normalitas penyebaran data. Uji normalitas diperoleh Signifikansi <0,05 menunjukkan bahwa data tidak terdistribusi normal. Analisis dilanjutkan menggunakan uji

nonparametrik *Mann Whitney* untuk membedakan kelompok bakteri uji dan kelompok kontrol. Hasil uji *Mann Whitney* menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara bakteri uji dan kelompok kontrol dengan diperolehnya nilai $P > 0,05$ (Tabel 3).

Ekstrak *N. pubescens* berbeda bermakna dengan kontrol negatif menunjukkan bahwa ekstrak memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* maupun *E. coli*. Ekstrak *N. pubescens* berbeda bermakna terhadap kloramfenikol 1% terhadap *E. coli* menunjukkan ekstrak belum untuk mampu untuk mencapai potensi dari kontrol positif sedangkan pada *S. aureus* zona hambat lebih besar daripada kloramfenikol 1%. Hal ini disebabkan karena adanya perbedaan dari komponen penyusun dinding selnya. Bakteri *S. aureus* termasuk dalam bakteri Gram positif. Dinding sel bakteri Gram positif strukturnya lebih sederhana dibandingkan struktur dinding sel bakteri Gram negatif yang lebih kompleks (Yeni *et al.*, 2010). Bakteri Gram positif memiliki dinding sel dengan lapisan peptidoglikan yang tebal dan akan berwarna ungu jika diwarnai dengan pewarna Gram. Bakteri *E. coli* termasuk dalam bakteri Gram negatif. Bakteri Gram negatif bakteri memiliki dinding sel dengan lapisan peptidoglikan yang tipis serta struktur lipid yang tinggi

(Fitri & Yasmin, 2011).

Penentuan konsentrasi hambat minimal menggunakan dilusi cair. Menurut APHA (1998) panjang gelombang 600 nm digunakan sel bakteri menyerap panjang gelombang. Konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak terhadap *S. aureus* sebesar 12,5% sedangkan pada *E. coli* sebesar 25%.

Tabel IV. Perhitungan jumlah bakteri *S. aureus* sebelum dan sesudah inkubasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis

Konsentrasi ekstrak	Rata -rata		AOD	Ket.
	Sebelum	Sesudah		
1,5625%	0,345	0,373	0,028	Naik
3,125%	0,370	0,387	0,018	Naik
6,25%	0,432	0,440	0,007	Naik
12,5%	0,517	0,503	- 0,014	Turun
25%	0,670	0,649	- 0,021	Turun

Tabel V. Perhitungan jumlah bakteri *E. coli* sebelum dan sesudah inkubasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis

Konsentrasi ekstrak	Rata -rata		AOD	Ket
	Sebelum	Sesudah		
1,5625%	0,260	0,361	0,118	Naik
3,125%	0,311	0,390	0,080	Naik
6,25%	0,414	0,470	0,056	Naik
12,5%	0,454	0,480	0,026	Naik
25%	0,512	0,501	-0,011	Turun

Khasiat antibakteri yang terkandung dalam ekstrak metanol bunga *N. pubescens* disebabkan karena adanya kandungan senyawa kimia yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Golongan fenolik dalam ekstrak metanol bunga *N. pubescens* dapat berperan sebagai antibakteri dengan cara mendenaturasi

protein sel. Saponin sebagai antibakteri menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari sel karena zat aktif permukaan menyerupai detergen akibatnya saponin menurunkan tegangan permukaan dinding sel dan merusak permeabilitas membran. Golongan flavonoid berperan sebagai antibakteri dengan cara menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel ataupun menghambat metabolisme energi. Mekanisme dari senyawa metabolit sekunder tersebut saling bersinergis sehingga menambah efektivitas dan aktivitas ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* maupun *E. coli* (Rijayanti, 2014).

IV. KESIMPULAN

Hasil kandungan senyawa kimia yang diidentifikasi dari skrining fitokimia yang telah dilakukan, ekstrak metanol bunga *N. pubescens* mengandung fenolik, saponin dan flavonoid. Ekstrak metanol bunga *N. pubescens* memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus* dan *E. coli*. Rata-rata diameter zona hambat yang terbentuk yaitu $10 \pm 0,29$ mm pada *S. aureus* dan $10,2 \pm 0,5$ mm pada *E. coli*. Konsentrasi hambat minimum yang diperlukan dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus* adalah 12,5% sedangkan *E. coli* adalah 25%. Saran dari penelitian ini diperlukan pengujian konsentrasi hambat minimal pada rentang

diantara konsentrasi yang memberikan efek penghambatan dan konsentrasi yang tidak memberikan efek penghambatan.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih kepada Fakultas MIPA yang telah mendanai penelitian ini melalui hibah dana penelitian DIPA Universitas Lambung Mangkurat tahun anggaran 2018.

DAFTAR PUSTAKA

- Astarina, N.W.G., K.W. Astuti & N.K. Warditiani. 2013. Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Rimpang Bangle (*Zingiber purpureum* Roxb.). *Jurnal Farmasi Udayana*. **1**:1-10.
- Astutiningsih, C., W. Setyani & H. Hindratna. 2014. Uji Daya Antibakteri dan Identifikasi Isolat Senyawa Katekin dari Daun Teh (*Camellia Sinensis* L. Var *Assamica*). *Journal of Pharmaceutical Sciences and Community*. **11**: 50-57.
- BPS Kalimantan Selatan. 2000. *Biro Pusat Statistik Kalimantan Selatan*, Banjarmasin.
- Budiwati, G.A. & E. Kriswiyanti. 2014. Manfaat Tanaman Teratai (*Nymphaea* sp., *Nymphaeaceae*) di Desa Adat Sumampan, Kecamatan sukawati, Kabupaten Gianyar, Bali. *Jurnal Simbiosis*. **2**: 122-134.
- CLSI. 2017. Antibiotic Disc Interpretative Criteria and Quality Control. *Liofilchem*. **13**: 1-13.
- Chan, Michelle. 2010. Cloramphenicol Wound Infection Prophylaxis. Evidence Based Medicine Review
- Dash, B.K., M.K. Sen, K. Alam, K. Hossain, R. Islam, N.A. Banu, S. Rahman & A.H.M. Jamal. 2013. Antibacterial Activity of *Nymphaea nouchali* (Burm. f) Flower. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*. **12**:1-4.
- Debnath, S., S. Ghosh & B. Hazra. 2013. Inhibitory Effect of *Nymphaea pubescens* Willd. Flower Extract on Carrageenan-Induced Inflammation and CCl₄-Induced Hepatotoxicity in Rats. *Food and Chemical Toxicology* **59**: 485-491.
- Dewi, M.K., Ratnasari, E. & Trimulyono, G. 2014. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Majapahit (*Crescentia cujete*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Ralstonia Solanacearum* Penyebab Penyakit Layu. *LenteraBio*. **3**:51-71.
- Djamil, R. & T. Anelia. 2009. Penapisan Fitokimia, Uji BSLT, dan Uji Antioksidan Ekstrak Metanol Beberapa Spesies Papilionaceae. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. **7** : 65-71.
- Dorland. 1998. *Kamus Saku Kedokteran Dorland*. EGC, Jakarta.
- Fitri, L. & Y. Yasmin. 2011. Isolasi dan Pengamatan Morfologi Koloni Bakteri Kitinolitik. *Jurnal Biologi Edukasi*. **3**: 20-25.
- Fitrial, Y., M. Astawan, S.S. Soekarto, K.G. Wiryawan, T. Wresdiyati & R. Khairina. 2008. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Teratai (*Nymphaea pubescens* Willd) terhadap Bakteri Patogen Penyebab Diare. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. **19** (2): 158-164.
- Fitrial, Y., M. Astawan, S.T. Soekarto, K.G. Wiryawan & T. Wresdiyati. 2012. Potensi Biji dan Ekstrak Biji Teratai (*Nymphaea pubescens* Willd) sebagai Pencegah Diare pada Tikus Percobaan yang diintervensi *E.coli* Enteropatogenik. *AGRITECH*. **32** (3): 308-317.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia*. Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Himedia.
- Jawetz, L. Ernest, Joseph, Melnick & A. Edward. 2007. *Mikrobiologi Kedokteran*. ECG, Jakarta.
- Marliana, S.D. & V. Suryanti. 2005. Skrining Fitokimia dan Analisis

- Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol. *Biofarmasi*. **3**: 26-31.
- Melliawati, R. 2009. *Escherichia coli* dalam Kehidupan Manusia. *Biotrends*. **4**: 10-14.
- Minarno, E.B. 2015. Skrining Fitokimia dan Kandungan Total Flavanoid pada Buah *Carica pubescens* Lenne & K. Koch di Kawasan Bromo, Cangar, dan Dataran Tinggi Dieng. *El-Hayah*, **5**: 73-82.
- Nasution, A.A. 2011. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bunga Kecombrang (*Nicolaia speciose* Horan) terhadap Bakteri *Shigella dysenteriae* dan *Vibrio cholera* Secara *in vitro*. *Naskah Publikasi Karya Tulis Ilmiah Farmasi FKIK UMY* : 1-15.
- Ngajow, M., J. Abidjulu & V.S. Kamu. 2013. Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara *In Vitro*. *Jurnal MIPA UNSRAT* **2**: 128-132.
- Nuria, M.C. & A. Faizatun. 2009. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha Curcas* L) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, dan *Salmonella typhi* ATCC 1408. *Mediagro*. **5**: 26-37.
- Rijayanti, R. P. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mangga Bacang (*Mangifera foetida* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* Secara *In Vitro*. Naskah Publikasi Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura, Tanjungpura.
- Sari, E.P., E. Wardenaar & F. Yusro. 2008. Aktivitas Ekstrak Metanol Bonggol Bunga Teratai (*Nymphaea lotus* L.) untuk Pengendalian Cendawan Pelapuk Kayu *Schizophyllum commune fries* secara *in Vitro*. *Jurnal Hutan Lestari*. **1**.
- Simaremare, E.S.. 2014. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Gatal (*Laportea decumana* (Roxb.) Wedd). *Pharmacy: Jurnal Farmasi Indonesia (Pharmaceutical Journal of Indonesia)*. **11**.
- Sumardjo, D. 2009. *Pengantar Kimia*. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Waidee, K., S. Chankhamhaengdech & P. Damrongphol. 2015. Antibacterial Activity of *Nymphaea Pubescens* Willd. Leaves. *7th International Conference on Medical, Biological and Pharmaceutical Sciences (ICMBPS'2015)* : 62-65.
- Yeni, Y.D., S.N. Djannah, & L.H. Nurani. 2010. Uji Aktivitas Antibakteri Infusa Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Secara *In Vitro* terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 35218 serta *Profil Kromatografi Lapis Tipisnya*. *Kes Mas: Jurnal Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Ahmad Daulan*. **4**: 218-238.