

**Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Singkong (*Manihot utilisima*)  
Pada Bakteri *Pseudomonas Aeruginosa***

**Inhibition Test of Cassava Leaves (*Manihot utilisima*) Extract Ethanol  
on Bacteria *Pseudomonas aeruginosa***

**Setya Enti Rikomah**

**Dosen Akademi Farmasi Yayasan Al-Fatah Bengkulu**

**Email : [setyaenti\\_rikomah@yahoo.com](mailto:setyaenti_rikomah@yahoo.com)**

**ABSTRAK**

Tanaman yang dapat dijadikan sebagai obat tradisional oleh masyarakat Indonesia adalah Daun singkong (*Manihot utilisima*). Sejak zaman dahulu, daun singkong telah digunakan sebagai obat herbal untuk mengobati luka, luka sayatan, luka bakar, dan infeksi yang disebabkan oleh bakteri. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui daya hambat ekstrak daun singkong (*Manihot utilisima*) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Sampel yang digunakan adalah tanaman daun singkong (*Manihot utilisima*). Ekstraksi dengan metode maserasi, selanjutnya dipekatkan menggunakan *Rotary evaporator* dan dilakukan uji susut pengeringan. Ekstrak dibagi menjadi lima perlakuan yaitu 10 µg/ml, 50 µg/ml, 100 µg/ml, 500 µg/ml, 1000 µg/ml dibuat kontrol positif dan negatif lalu dilakukan pembuatan media NA dan NB. Dilakukan peremajaan bakteri dan pembuatan larutan uji lalu dilakukan pengujian daya hambat dengan metode difusi cakram lalu diikubasi selama 18-24 jam dan diukur diameter zona hambat dengan menggunakan jangka sorong kemudian di uji secara statistik menggunakan SPSS 16 dengan metode *one way annova* kepercayaan 95% atau ( $\rho = 0,05$ ). Dari hasil pengujian menunjukkan bahwa semua konsentrasi ekstrak tanaman daun singkong (*Manihot utilisima*) mempunyai kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan konsentrasi terbaik adalah 1000 µg/ml. Daya hambatnya ditunjukkan dengan adanya zona bening disekitar cakram.

**Kata kunci : Singkong, *Pseudomonas aeruginosa*, Difusi Cakram**

**ABSTRACT**

The plant can be used as traditional medicine for Community Indonesia is Singkong leaves ( *Manihot utilisima* ) . Since the days of singkong leaves has used as an herbal remedy for a review Treating wounds, cuts, burns, and Infections Caused By Bacteria. The purpose of this research was to know the inhibitory of extract cassava leaves (*Manihot utilisima*) on bacteria *pseudomonas aeruginosa*. The sample that was used in this research was cassava leaves (*Manihot utilisima*). Extraction by maceration method, then concentrated using Rotary Evaporator and did the shrinkage tests. The extract was divided into five treatments, 10µg/ml, 50 µg/ml, 100 µg/ml, 500 µg/ml, 1000 µg/ml created positive

and negative control. Then, doing the creation of NE media and NB media. Doing rejuvenation of bacteria and manufacturing tets solution and then tested by the method of inhibition diffusion disc and then in incubation for 18-24 hours and inhibition zone diameter was measured by using a calipar and then tested statistically using SPSS 16 with one way ANOVA method trust or 95% ( $p=0,05$ ). The tes results showed that the concentration of the plant extract cassava leaves (*Manihot utilisima*) had the ability to inhibit bacterial *Pseudomonas aeruginosa* with the best concentration was 1000 $\mu$ g/ml. The inhibitory power indicated by the clear zone around the disc.

*Keyword : Singkong, Pseudomonas aeruginosa, disc diffusion*

## **PENDAHULUAN**

Sediaan obat alam atau obat tradisional warisan budaya Indonesia sangat berperan dalam kehidupan masyarakat dari sisi kesehatan maupun ekonominya. Secara empiris masih banyak bahan alam yang dapat digunakan atau dijadikan sebagai obat dan kosmetik, baik yang berbentuk ramuan obat maupun ramuan kosmetik tradisional. Obat-obat yang berada dipasaran sebagian besar masih banyak menyebabkan efek samping yang tidak diharapkan, oleh karena itu obat herbal menjadi salah satu alternatif pengobatan. Keunggulan dari obat tradisional itu sendiri yaitu memiliki peran yang sangat menguntungkan karena kecilnya efek samping yang ditimbulkan (Zulkifli, 2004).

Obat tradisional yang sering digunakan oleh masyarakat indonesia adalah tanaman herbal. Pemakaian obat tradisional banyak

diminati karena efek samping yang ditimbulkan sangat kecil dibandingkan dengan obat-obatan dari bahan kimia selain itu, pengobatan herbal membutuhkan biaya yang relatif terjangkau dibandingkan dengan pengobatan medis lainnya. Tetapi sampai saat ini khasiat obat herbal hanya didasarkan pada pengalaman empiris saja, oleh sebab itu perlu dilakukan penelitian dalam pengembangan obat tradisional (Anonim, 2012).

Tanaman yang dapat dijadikan sebagai obat tradisional oleh masyarakat Indonesia adalah Daun singkong (*Manihot utilisima*). Sejak zaman dahulu, daun singkong telah digunakan sebagai obat herbal untuk mengobati luka, luka sayatan, luka bakar, dan infeksi yang disebabkan oleh bakteri. Daun singkong (*Manihot utilisima*) dikenal sebagai tanaman yang memiliki senyawa flavonoid,

saponin, tanin, dan triterpenoid, yang mana senyawa flavonoid dan saponin ini memiliki peran sebagai antiinflamasi dan antibakteri (Rosiana Novita D,dkk, 2013).

Penggunaan daun singkong (*Manihot utilisima*) secara empiris untuk mengobati luka yaitu dibutuhkan sebanyak 5 lembar daun, caranya tumbuk daun singkong sebanyak 5 lembar lalu tempelkan pada daerah luka (Harian Arief, 2006). Salah satu bakteri penyebab luka yaitu *Pseudomonas aeruginosa* yang merupakan patogen utama bagi manusia dan bakteri ini dapat dijumpai pada daerah kulit yang lembab (Jawetz Melnick, 2008).

Penelitian yang telah dilakukan menyebutkan bahwa ekstrak daun singkong (*Manihot utilisima*) dapat digunakan sebagai obat herbal yang dapat menyembuhkan luka, antibakteri dan sebagai antiinflamasi (Rosiana Novita D,dkk, 2013). Tetapi masih diperlukan penelitian lanjutan untuk lebih menguatkan pembuktian adanya efek antibakteri dalam ekstrak daun singkong (*Manihot utilisimaa*).

Oleh karena itu, peneliti tertarik untuk meneliti lebih lanjut

tentang pengaruh antibakteri dari ekstrak daun singkong (*Manihot utilisima*). Pada penelitian ini dilakukan untuk mengetahui apakah ekstrak daun singkong (*Manihot utilisima*) mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

#### **METODOLOGI PENELITIAN**

Penelitian ini telah dilakukan di Labolatorium Farmakognosi dan Mikrobiologi Akademi Farmasi Al-Fatah Bengkulu pada bulan Mei-Juni 2016.

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah botol gelap, *Rotary Evaporator*, Cawan petri, tabung reaksi, *erlemeyer*, jarum ose, jangka sorong, bunsen, pinset, pipet tetes, spuit, timbangan analitik, LAF (*Laminary Air Flow*), *incubator*, *oven* dan *autoclav*.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun singkong (*Manihot utilisima*) Etanol 70%, NA (*Nutrien Agar*), NB (*Nutrien Broth*), biakan murni *Pseudomonas aeruginosa*, aquadest, Klormfenikol 0,3% dan DMSO (*Dimetil Sulfoksida*), kertas label, alumunium foil, dan tisu.

### **Pembuatan Ekstrak**

Masukan 500 gram simplisia kedalam botol gelap lalu direndam menggunakan etanol 70% sebanyak 3750 ml selama 5 hari sambil sesekali dikocok, setelah itu saring menggunakan kertas saring. Ampas kembali direndam menggunakan etanol 70% sebanyak 1250 ml selama 2 hari dengan sesekali dikocok, saring kembali menggunakan kertas saring. Kemudian filtrat dipekatkan menggunakan *Rotary Evaporator*.

### **Sterilisasi Alat**

Sebelum alat digunakan dalam penelitian sebaiknya disterilkan terlebih dahulu menggunakan autoclav bagi alat-alat yang tidak tahan pemanasan dengan suhu 121<sup>0</sup>c selama 15 menit sedangkan penggunaan oven adalah alat-alat yang tahan pemanasan dengan suhu 170<sup>0</sup>c selama 1 jam.

### **Pembuatan Media Na(*Nutrien Agar*)**

Media agar dibuat dengan cara timbang NA sebanyak 5 gram dalam 250 ml aquades steril, panaskan sampai mendidih lalu disterilkan didalam *autoclav* slma 15 menit dengan suhu 121<sup>0</sup>c (Melnick, 2008).

### **Pembuatan Media Nb(*Nutrien Broth*)**

Media cair dibuat dengan cara timbang NB sebanyak 1 gram dalam 125 ml aquades steril, panaskan sampai mendidih kemudian disterilkan dalam *autoclav* selama 15 menit dengan suhu 121<sup>0</sup>c (Melnick, 2008).

### **Peremajaan Bakteri**

Peremajaan bakteri dilakukan menggunakan metode tuang dengan cara ambil 15 ml media NA yang sudah disterilkan lalu masukkan kedalam cawan petri. Setelah mengeras ambil 1 ose bakteri murni kemudian goreskan secara zig-zag menggunakan jarum ose dan diinkubasi didalam *incubator* selama 18-24 jam.

### **Pembuatan Suspensi Bakteri**

Pembuatan suspensi bakteri dilakukan dengan cara masukkan media NB yang telah disterilkan sebanyak 15 ml kedalam tabung reaksi kemudian ambil 1-3 ose bakteri dari hasil peremajaan.

### **Pembuatan Larutan Kontrol Positif**

Kontrol positif dibuat dari sediaan kapsul kloramfenikol 500 gram, yang merupakan obat antibiotik. Timbang serbuk kloramfenikol sebanyak 0,01 gram dalam 10 ml aquades steril.

#### **Pembuatan Larutan Kontrol Negatif**

Kontrol negatif dibuat dari DMSO 10% dengan cara larutkan DMSO sebanyak 10 ml dalam 100 ml aquades steril.

#### **Pembuatan Larutan Uji**

Pembuatan larutan uji ekstrak etanol daun singkong diambil dari beberapa konsentrasi yaitu 10 µg/ml, 50 µg/ml, 100 µg/ml, 500 µg/ml, 1000 µg/ml.

#### **Pengujian Daya Hambat**

Uji daya hambat menggunakan metode difusi cakram. Siapkan 5 cawan petri kemudian tuangi dengan media NA sebanyak 15 ml biarkan mengeras. Masukkan lidi kapas kedalam suspensi bakteri sampai meresap kemudian goreskan secara zig-zag. Cakram disk dicelupkan kedalam masing-masing konsentrasi dan larutan kontrol, cakram disk hasil celupan tersebut ditiriskan hingga cairan tidak menetes kemudian diletakkan pada permukaan media NA lalu di inkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37<sup>o</sup>c. Pengamatan dilakukan dengan cara melihat zona bening disekitar paper disk. Daerah hambatan pertumbuhan

bakteri mengacu pada pernyataan Riska dan Puguh (2014) jika zona hambat berukuran ≤5 mm dikategorikan lemah, berukuran 6-10 mm dikategorikan sedang, berukuran 11-20 mm dikategorikan kuat, dan zona hambat dengan ukuran ≥20 mm dikategorikan sangat kuat.

#### **Analisis Data**

Dari hasil data yang diperoleh kemudian dianalisa secara *statistic* menggunakan metode *One Way Anova* pada program SPSS 16, dengan menggunakan tingkat kepercayaan 95% atau  $\alpha = 0,05$ .

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Pada penelitian ini sampel yang digunakan adalah tanaman daun singkong (*Manihot utilisima*), sampel tanaman diambil di daerah Padang Harapan Kota Bengkulu. Sebelum diolah menjadi simplisia, sampel tumbuhan di verifikasi terlebih dahulu di Laboratorium Biologi Fakultas Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Bengkulu. Tujuan dari Verifikasi tumbuhan ini yaitu untuk menghindari kesalahan terhadap tanaman yang akan digunakan dalam penelitian.

Sampel tanaman daun singkong (*Manihot utilisima*) dikumpulkan kemudian dilakukan sortasi basah, setelah itu dicuci dengan air mengalir sampai bersih, lalu dirajang, kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan pada suhu kamar terlindung dari cahaya matahari langsung, tujuan dari pengeringan yaitu untuk menurunkan kadar air, sehingga simplisia tidak mudah rusak dan dapat disimpan dalam jangka waktu yang cukup lama.

Proses ekstraksi tanaman daun singkong (*Manihot utilisima*) dilakukan dengan menggunakan metode maserasi. Metode ini dipilih karena memiliki beberapa keuntungan antara lain tidak adanya proses pemanasan sehingga senyawa-senyawa yang bersifat labil tidak menjadi rusak atau hilang oleh adanya pemanasan, cara pengerjaannya mudah, dan peralatan yang digunakan sederhana. Pelarut yang digunakan yaitu pelarut etanol 70%, alasannya karena etanol 70% bersifat polar sehingga dapat dengan mudah dalam proses penarikan zat-zat yang diinginkan (Annonim, 1995).

Maserat yang diperoleh kemudian diuapkan dengan menggunakan *vacum rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental dengan kecepatan 30-80 Rpm dan suhu 30°-70°c. Lalu dilakukan uji organoleptis meliputi konsistensi, bau, warna, dan rasa, kemudian dilakukan perhitungan rendemen dengan tujuan untuk membandingkan bobot awal simplisia dengan bobot ekstrak yang dihasilkan (Annonim, 2000).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh (Wijaya Nanda P,dkk, 2014) dalam uji daya hambat menggunakan media NB (*Nutrien Broth*) dan NA (*Natrium Agar*) dengan komposisi ekstrak daging, pepton, dan agar. Media ini digunakan untuk peremajaan bakteri dan untuk uji daya hambat antibakteri. Penelitian sebelumnya menyatakan bahwa ekstrak daun singkong (*Manihot Utilisima*) memiliki kandungan senyawa kimia berupa Flavonoid, saponin, titerpenoid dan tanin (Robinson, 1995). Oleh karena itu peneliti ingin meyakinkan kebenaran tersebut dengan cara melakukan uji penapisan fitokimia dan dari hasil tersebut

## Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Singkong (*Manihot Utilisima*) Pada Bakteri *Pseudomonas Aeruginosa*

menunjukkan bahwa ekstrak daun singkong (*Manihot utilisima*) positif (+) mengandung senyawa saponin, flavonoid, terpenoid dan tanin.

Pengujian daya hambat antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram dengan cara melihat zona bening yang terbentuk disekitar cakram kemudian untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh ekstrak *Manihot utilisima* dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah kloramfenikol, karena kloramfenikol adalah salah satu golongan antibiotik yang berspektrum luas yaitu efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri gram positif maupun gram negatif serta mikroorganisme lainnya (Mycek, 1992). Sedangkan kontrol negatif

yang digunakan yaitu DMSO 10% karena DMSO merupakan pelarut organik yang tidak bersifat sebagai bakterisidal (Reynolds, 1992).

Penelitian yang telah dilakukan oleh Hastari (2012) mengatakan bahwa DMSO tidak bersifat sebagai antibakteri tetapi jika lebih dari 10% maka DMSO akan ikut berperan dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

Menurut Riska dan Puguh (2014) jika zona hambat yang terbentuk pada uji difusi agar berukuran  $\leq 5$  mm maka dikategorikan lemah. Jika zona hambat yang terbentuk 6-10 mm dikategorikan sedang. Jika zona hambatnya 11-20 mm maka dikategorikan kuat, dan zona hambat  $\geq 20$  mm dikategorikan sangat kuat.

**Tabel I. Hasil uji daya hambat ekstrak etanol daun singkong (*Manihot utilisima*) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa***

Konsentrasi	Pengulangan (mm)			Jumlah	Rata-rata
	1	2	3		
Kontrol (+)	19,63 mm	18,23 mm	16,83 mm	54,69 mm	18,23 mm
Kontrol (-)	0	0	0	0	0
10 $\mu$ g/ml	3,26 mm	3,13 mm	3,16 mm	9,55 mm	3,18 mm

## Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Singkong (*Manihot Utilisima*) Pada Bakteri *Pseudomonas Aeruginosa*

50 µg/ml	5,3 mm	4,26 mm	4,23 mm	13,79 mm	4,59 mm
100 µg/ml	6,13 mm	5,26 mm	5,16 mm	16,55 mm	5,51 mm
500 µg/ml	7,13 mm	6,23 mm	6,13 mm	19,49 mm	6,49 mm
1000 µg/ml	8,13 mm	8,83 mm	7,3 mm	24,26 mm	8,08 mm

Tabel 1 menjelaskan bahwa pada konsentrasi 10 µg/ml, 50 µg/ml, 100 µg/ml memiliki daya hambat lemah ( $\leq 5$  mm), sedangkan pada konsentrasi 500 µg/ml dan 1000 µg/ml memiliki daya hambat yang sedang (6-10 mm), pada kontrol positif (+) yaitu Kloramfenikol memiliki daya hambat yang kuat (11-20 mm) dan pada kontrol negatif (-) yaitu DMSO tidak memiliki daya hambat.

Dari hasil data pengujian daya hambat ekstrak etanol daun singkong (*Manihot utilisima*) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dianalisis secara statistik menggunakan program SPSS 16, dengan tingkat kepercayaan 95% atau = 0,05.

Hasil daya hambat yang diperoleh kemudian dilakukan uji normalitas menggunakan *Kolmogrov-smirnov* dan didapatkan nilai yang signifikan yaitu  $0,312 > 0,05$  yang artinya data terdistribusi normal, kemudian dilakukan uji homogenitas dan nilai yang didapatkan yaitu 0,107 yang artinya datanya homogen, dilanjutkan uji Anova dengan tujuan untuk melihat perbedaan signifikan antara masing-masing perlakuan, kemudian dilakukan uji *Post Hoc Tests* LSD dengan tujuan untuk melihat perbedaan signifikan antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol dan didapatkan hasil yang menyatakan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok, dan dilanjutkan

dengan uji Duncan yang menyatakan bahwa konsentrasi yang paling baik adalah 1000µg/ml karena diameternya paling besar dibandingkan dengan konsentrasi yang lain yaitu 8,0867.

Hasil dari uji daya hambat yang telah dilakukan menyatakan bahwa ekstrak etanol daun singkong (*Manihot utilisima*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Hasil tersebut sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa daun singkong (*Manihot utilisima*) memiliki kandungan gizi yang tinggi, diantaranya flavonoid dan saponin yang memiliki peran sebagai antiinflamasi dan antibakteri (Rukmana,1997).

Aktifitas flavonoid yang lain adalah dapat mempercepat penyembuhan pada luka, saponin memiliki efek pada penyembuhan luka dan terbukti dapat meningkatkan pembentukan pembuluh darah dan tanin mempunyai daya hambat sebagai antibakteri (Marrison 2003).

## KESIMPULAN

Ekstrak etanol daun singkong (*Manihot utilisima*) mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan konsentrasi terbaik dari ekstrak etanol daun singkong (*Manihot utilisima*) berdasarkan uji statistik Duncan yaitu terdapat pada konsentrasi 1000µg.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 1995, *Farmakope Indonesia*, Edisi IV, Hal 1112, Departemen Republik Indonesia, Jakarta
- Anonim, 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Hal 1,5,10,11, Departemen Kesehatan Rakyat Indonesia Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta
- Anonim, 2012, *Farmakologi dan Terapi*, Edisi 5, Hal 748-749, Departemen Farmakologi dan Terapi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta
- Harian Arief, 2006, *Tumbuhan Obat & Khasiatnyaseri*, Hal 1, Penebar Swadaya, Jakarta
- Hastari A, 2012, *Uji Efektivitas Antibakteri Pelepah dan Batang Pisang Ambon Terhadap *Stapylococcus aureus**, Karya Tulis Ilmiah, Jurusan Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang
- Jawetz, Melnick, Adelberg's, 2008, *Mikrobiologi Kedokteran* Edisi 23, Diterjemahkan Oleh Huriawati h., Chaerunnisa R., Alifa D., Alyana D., Hal 266-269 EGC, Jakarta
- Marrison, M, J, 2003, *Manajemen luka*, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta
- Mycek, M, J, 1992, *Inhibitor Of Cell Wall Synthetis, P<sup>297-310</sup>*, in *Fharmakology*, 2nd, ed, Lippincortt Wiliam & Wikins Philadelphia
- Riska F, Puguh S, Sarwiyono, 2014, *Inhibition Activity of Moringa oleifera Leaf Juice to Growth of *Streptococcus galactiae* and *Streptococcus uberis* Bacteria Caused Mastitis in Dairy Cows*, Jurnal, Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya, Malang
- Reynolds, J, E, F, 1992, *Martindale, The Extra Pharmacopeia 31<sup>th</sup> Edition*, The Royal Pharmaceutical Society Press, London
- Rosiana N, D, Eliana L, T, Sulistyani, E, 2013, *Efek Ekstrak Daun Singkong (*Manihot esculenta*) Terhadap Ketebalan Regenerasi Epitel Lesi Traumatik pada Mencit BALB/C Jantan*, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember

Robinsom, Trevor, 1995, *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*, Alih bahasa oleh kokasih padmawinata, Bandung

Rukmana, R, 1997, *Ubi Kayu Budi Daya dan Pascapanen*, Yogyakarta

Wijayanti Nanda P, Zulfikar Teuku, Emril Dessy R, 2014, *Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Singkong (*Manihot utilisima*) Terhadap Pertumbuhan *Klebsiella Pneumonia* Isolat Penderita *Pneumonia**, Fakultas Kedokteran Universitas Syiah Kula, Banda Aceh

Zulkifli, 2004, *Pengobatan Tradisional Sebagai Pengobatan Alternatif Yang Harus Dilestarikan*, Fakultas USU Medan