

# UJI DAYA ANTIBAKTERI INFUS DAN EKSTRAK KULIT BATANG PULOSARI (*ALYXIA REINWARDTII* BL.) SECARA IN-VITRO DAN UJI TOKSISITAS (LD<sub>50</sub>) EKSTRAK

Dian Sundari\*; Budi Nuratmi\*; Triyani Soekarso\*\*

## Abstrak

Pulosari (*Alyxia reinwardtii* Bl) dari famili *Apocynaceae* sering digunakan untuk mengobati beberapa keluhan penyakit baik bahan tunggal maupun campuran dalam bantuk ramuan jamu. Secara empirik pulosari digunakan antara lain untuk obat disentri dan diare (mencret). Untuk mengetahui efek antibakteri dari kulit batang pulosari, telah dilakukan uji daya antibakteri dari infus dan ekstrak etanol 70% terhadap bakteri penyebab disentri dan diare seperti *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, *Shigella dysentria* dan *Vibrio cholera*. Selain itu juga dilakukan uji toksisitas akut (LD<sub>50</sub>) dari ekstraknya.

Pengujian antibakteri dilakukan secara in-vitro memakai metoda difusi agar dengan cakram kertas. Bahan uji yang dicoba adalah infus dengan konsentrasi 20%, 40% dan 80% dan ekstrak konsentrasi 45%, 55% dan 65%. Sebagai pembanding digunakan antibiotik Kloramfenikol dan Tetrasiklin, sedangkan akuades sebagai kontrol. Untuk uji LD<sub>50</sub> memakai metoda Weil, C.S. menggunakan hewan percobaan mencit.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa infus kulit batang pulosari sampai konsentrasi 80% tidak memperlihatkan efek antibakteri untuk semua bakteri uji, sedangkan ekstrak terlihat adanya efek antibakteri terhadap bakteri *Vibrio cholerae* pada semua konsentrasi yang dicoba. Dari hasil uji toksisitas akut (LD<sub>50</sub>) nya, ekstrak pulosari termasuk golongan *Moderately Toxic*.

## Pendahuluan

Penggunaan tanaman tertentu sebagai usaha untuk meningkatkan derajat kesehatan, telah lama dikenal oleh masyarakat Indonesia. Dalam rangka peningkatan dan pemerataan pelayanan kesehatan masyarakat, maka tanaman obat/obat tradisional perlu dimanfaatkan sebaik-baiknya terutama di desa-desa yang sulit dijangkau oleh obat modern, tenaga medis atau puskesmas karena masalah distribusi, komunikasi dan transportasi yang masih menjadi hambatan.

Komponen aktif yang berperan sebagai obat pada obat tradisional adalah zat-zat kimia yang terkandung di dalam ramuan obat tradisional tersebut. Secara kemoterapi, komponen-komponen antara lain berperan sebagai absorben, astringen, spasmolitik, antibakteri, suportif, antipiretik, analgetik, karminatif, stomakik dan sebagainya<sup>1)</sup>

*Alyxia reinwardtii* Bl (*Alyxia stellata* RS) atau lebih dikenal dengan nama pulosari, termasuk famili *Apocynaceae*. Tumbuhan ini berupa semak yang tumbuh liar merambat, ditemukan tersebar di Asia yang beriklim tropis di hutan dan lereng-lereng gunung. Sebagai tanaman obat, bagian tumbuhan yang sering digunakan untuk obat adalah kulit batang atau kulit cabang<sup>1)</sup>. Beberapa keluhan penyakit yang biasa diobati adalah: panas (demam) sariawan mulut, disentri, mencret (diare), perut kembung, radang lambung, batuk rejan, keputihan, penambah nafsu makan, haid tidak teratur dan spasmolitik. Di dalam kulit batang pulosari, telah terkandung senyawa-senyawa seperti: tanin, kumarin, minyak atsiri, zat pahit, asam organik, alkaloid<sup>1,2,3,4)</sup>

Untuk menambah informasi mengenai khasiat pulosari, telah dilakukan penelitian daya antibakteri dari kulit batang pulosari dalam

\* Pusat Penelitian dan Pengembangan Farmasi

\*\* Pusat Penelitian dan Pemberantasan Penyakit, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Depkes. RI

bentuk infus dan ekstrak etanol 70% terhadap beberapa jenis bakteri yaitu: *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae* dan *Vibrio cholerae* dengan metoda difusi agar cakram kertas, dan untuk mengetahui keamanan pemakaian bahan, dilakukan uji toksisitas akut dari ekstraknya dengan cara Weill CS<sup>5,6)</sup>.

#### **Bahan dan Cara Kerja**

##### **Bahan dan Alat**

###### **a. Bahan yang dicoba.**

Kulit batang tanaman pulosari (*Alyxia reinwardtii* Bl) yang diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Obat, Tawangmangu.

###### **b. Percobaan LD<sub>50</sub>**

Mencit strain Weester, NaCl, akuades, kapas steril, alat suntik 1 cc, alkohol 95%

###### **c. Percobaan antibakteri**

Otoklaf, inkubator, cawan petri, tabung bertutup sekop, tabung reaksi, pipet ukur, sengkeli (ose), pembakar bunsen, alat pengocok, mikro pipet 30 µl, alkohol, 95%, akuades steril, Muller Hinton agar, MacConkey Agar, media TCBS agar, Media HIB, BBL, Sensi-disc kloramfenikol dan tetrasiklin (30µg), BBL Blank Paper Disc (1/4 inci), bakteri 4 strain.

#### **Cara Kerja**

##### **a. Persiapan.**

- Kulit batang pulosari dikeringkan pada suhu 50°C sampai kering, kemudian dihaluskan dan diayak dengan ayakan Mesh 48 menjadi serbuk.
- Serbuk dibuat infus dan ekstrak alkohol 70% (secara perkolasi) sesuai dengan Farmakope Indonesia. Pengenceran hasil infus dan ekstrak untuk uji antibakteri menggunakan akuades steril.
- Menyiapkan bahan dan alat untuk percobaan LD<sub>50</sub> dan pengadaan hewan mencit jantan berat 18--30 gram serta sterilisasi alat dan bahan untuk antibakteri
- Pembuatan media untuk peremajaan bakteri, pembenihan murni bakteri penanaman bakteri ke media pemeriksaan untuk uji antibakteri.
- Pembuatan media untuk peremajaan bakteri, pembenihan murni bakteri, penanaman bakteri ke media pemeriksaan untuk uji antibakteri.

##### **b. Uji toksisitas akut (LD<sub>50</sub>) ekstrak kulit batang pulosari dengan cara Weil, C.S.**

- Mencit dibagi dalam 6 kelompok, masing-masing kelompok 3 ekor. Setiap kelompok

diberi bahan coba secara *intra peritonial*. Dosis kelompok I kecil, kelompok II sampai kelompok VI diberi dosis meningkat dengan kelipatan 10. Pengamatan dilakukan beberapa jam dan jumlah kematian dihitung sesudah 24 jam. Bila jumlah mencit mati kurang dari 2 ekor per kelompok, maka dosis peninjakan diperbesar.

- Percobaan dilanjutkan pada 5 kelompok mencit, masing-masing 5 ekor. Dosis terkecil adalah dosis dalam kelompok peninjakan di atas terdapat kematian 2 ekor per kelompok, sedangkan dosis terbesar adalah dosis dimana dalam kelompok peninjakan ada kematian di atas 2 ekor per kelompok. Dosis diberikan secara meningkat menurut faktor tertentu. Setelah 24 jam, dihitung jumlah kematian mencit tiap-tiap kelompok. Percobaan diulang beberapa kali sampai hasil kematian sesuai dengan daftar yang dibuat oleh Weil C.S.

##### **c. Uji Antibakteri**

- Infus dan ekstrak pulosari dilihat daya antibakterinya terhadap bakteri *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae* dan *Vibrio cholerae* dengan metoda difusi agar kertas. Dengan mikropipet diambil 30 µl infus (konsentrasi 20%, 40% dan 80%) diteteskan pada BBL *blank paper disc*. Selanjutnya *paper disc* tersebut diletakkan pada agar *Muller Hinton* yang telah ditanam bakteri uji yang disiapkan sebelumnya, kemudian diinkubasi pada suhu 30°C selama 24 jam. Sebagai pembandingan, dipakai *paper disc* yang mengandung kloramfenikol dan tetrasiklin 30 µl/ml dan akuades steril yang diteteskan pada *paper disc blank*. Penelitian diulang sebanyak 5 kali.
- Perlakuan yang sama juga dilakukan pada ekstraknya (konsentrasi 45%, 55% dan 65%). Efek antibakteri dikatakan positif apabila di sekitar *paper disc* terdapat zona (daerah) bening bebas pertumbuhan bakteri.

#### **Hasil dan Pembahasan**

##### **1. Uji Toksisitas Akut**

Dari bahan kulit pulosari yang telah diserbukan, sebanyak 1500 gram dihasilkan ekstrak etanol 70% sebanyak 288,8 gram. Hasil pemeriksaan toksisitas akut bahan ekstrak didapatkan harga 4,528 (3,25--6,31) mg/10 gram bobot badan (bb) secara i.p pada mencit, setelah diekstrapolasikan ke tikus per-oral menurut cara Paget &

Barnes <sup>7)</sup> didapat 3169,6 mg/kg bb. Menurut Gleason M.N.<sup>8)</sup> harga LD<sub>50</sub> yang termasuk dalam 500--5000 mg/kg bb dapat digolongkan *moderately toxic*.

Dalam ramuan seperti obat diare, pemakaian pulosari secara empirik biasanya kurang lebih sebanyak 1 jari. Dari pengukuran yang dilakukan maka didapat dosis lazimnya adalah 50 mg/kg. Bila dibandingkan dengan daftar Gleason M.N., pemakaian kulit batang pulosari masih dalam batas yang aman. Walaupun demikian pemberian dosis dalam bentuk ekstrak harus berhati-hati.

## 2. Uji Antibakteri.

Dari hasil penelitian yang didapat, terlihat bahwa bahan bentuk infus menunjukkan hasil negatif (tidak terlihat adanya daerah hambatan bakteri). Dari semua dosis yang diberikan (20%, 40%, 80%) infus tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri pada semua bakteri yang diperiksa (Tabel 1). Hal ini mungkin karena bahan pelarut infus tidak dapat mencari zat aktif yang bersifat antibakteri.

**Tabel 1**  
**Daerah Hambatan yang Timbul pada Percobaan Infus Pulosari terhadap Bakteri *Sabmonella typhi*, *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, *Vibrio cholerae***

Bahan Uji	Jenis Bakteri di Daerah Hambatan			
	<i>S. typhii</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. dysenteriae</i>	<i>V. cholerae</i>
Infus 20%	-	-	-	-
40%	-	-	-	-
80%	-	-	-	-
Tetrasiklin	+	+	+	+
Kloramfenikol	+	+	+	+
Akuades	-	-	-	-

Keterangan : + = Ada daerah bebas bakteri  
- = Tidak ada daerah bebas bakteri

**Tabel 1**  
**Daerah Hambatan yang Timbul pada Percobaan Ekstrak Alkohol 70% Pulosari terhadap Bakteri *Sabmonella typhi*, *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, *Vibrio cholerae***

Bahan Uji	Jenis Bakteri di Daerah Hambatan			
	<i>S. typhii</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. dysenteriae</i>	<i>V. cholerae</i>
Ekstrak 45%	-	-	-	+
55%	-	-	-	+
65%	-	-	-	+
Tetrasiklin	+	+	+	+
Kloramfenikol	+	+	+	+
Akuades	-	-	-	-

Keterangan : + = Ada daerah bebas bakteri  
- = Tidak ada daerah bebas bakteri

Bahan ekstrak menunjukkan hasil yang positif. Pada konsentrasi 45% sudah terlihat adanya daerah hambatan bakteri tetapi hanya terhadap *Vibrio cholerae* (Tabel 2).

Konsentrasi ekstrak yang diberikan berpengaruh terhadap diameter daerah bebas bakteri yang ditimbulkan. Makin tinggi

konsentrasi yang diberikan, makin besar diameter daerah hambat yang terbentuk. Hal tersebut sesuai dengan kandungan senyawa aktifnya yang terdapat pada masing-masing konsentrasi, dimana makin tinggi konsentrasi, makin tinggi senyawa aktif yang dikandung. Tetapi dibandingkan dengan kloramfenikol dan

tetrasiklin, daya hambat ekstrak masih jauh lebih kecil (Tabel 3). Dari uji statistik Anova menunjukkan perbedaan yang sangat nyata

( $p < 0,01$ ) antara ekstrak dari semua konsentrasi terhadap tetrasiklin maupun kloramfenikol.

**Tabel 3**  
Rata-rata Daya Hambat Ekstrak Alkohol 70% Pulosari terhadap Bakteri *Vibrio cholerae* (dalam mm)

Bahan Uji	Pemeriksaan					Rata-rata
	1	2	3	4	5	
Ekstrak dengan Konsentrasi						
45%	6,2	6,4	6,5	6,7	6,3	6,42
55%	7	7	6,9	7	7	6,98
65%	8	8	7,8	8	7,6	7,88
Tetrasiklin	21	23	21	24	24	22,6
Kloramfenikol	25	25	24	26	24	24,8
Akuades	0	0	0	0	0	0

Daya antibakteri ekstrak pulosari kemungkinan disebabkan karena dalam ekstrak etanol lebih banyak tersari zat-zat yang bersifat sebagai antibakteri sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Dari literatur penelitian fitokimia yang didapat, kulit batang pulosari mengandung alkaloid, triterpen dan polifenol<sup>9)</sup> Kemungkinan sifat anti bakteri pulosari berasal dari zat polifenol yang dikandungnya, tetapi mekanisme kerja sebagai antibakteri belum diketahui. Namun demikian perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengapa ekstrak bersifat antibakteri hanya terhadap bakteri *Vibrio cholera*.

#### Kesimpulan

1. Ekstrak etanol 70% batang pulosari termasuk bahan *moderately toxic* (3169,6 mg/kg bb), namun bila dilihat dari pemakaian empiriknya (dosis lazimnya 50 mg/kg bb), penggunaan ekstrak masih aman.
2. Infus kulit batang pulosari (konsentrasi 20%, 40%, 80%) tidak mempunyai efek antibakteri terhadap bakteri *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, *Vibrio cholerae*. Ekstrak etanolnya (konsentrasi 45%, 55%, 65%) mempunyai efek anti bakteri, tetapi hanya terhadap bakteri *V. Cholerae*, namun masih jauh lebih kecil dibandingkan dengan tetrasiklin dan kloramfenikol.

#### Saran

1. Perlu diteliti mengapa efek antibakteri ekstrak kulit batang pulosari hanya terhadap bakteri *Vibrio cholerae*

#### Daftar Pustaka

1. Sudarman M, Harsono R, 1975. *Cabe Puyang Warisan Nenek I dan II Moyang*, PT Karya Wreda
2. Lily M. Perry, Judith Metzger, 1980. *Medicinal Plants of East and South East Asia*. The MIT Press Cambridge, Massachusetts and London, England.
3. Departemen Kesehatan RI, '977. *Materia Medika Indonesia Jilid I*, hal 17--12.
4. Departemen Kesehatan RI, 1989. *Vademekum Bahan Obat Alami*, hal 238--239.
5. WHO, 1983. *Manual for Laboratory Investigation of Acute Enteric Infection. Program for Control of Diarrhoeal Disease*.
6. Weil, C.S, 1952. *Table for Convenient Calculation of Media Effective Dose and Instruction in Their Use*. Biometric 8, p. 249--263.
7. Paget, G.E, Barnes, J.M, 1964. *Evaluation of Drug Activities Pharmacometrics*, Ac. Press London, New York, P. 161--161.
8. Gleason, MN., 1969. *Clinical Toxicology of Commercial Products*. The William & Wailkins, Co.. Baltimore p. 3--4.
9. Truyanto, 1992. *Identifikasi Struktur Senyawa Terisolasi dari Fraksi CDM Kulit Pulosari (*Alyxia reinwardtii*) dengan spektrometrik*. Fakultas Farmasi Uviversitsa Gajah Mada.
10. Pudjarwoto T; Cyrus H.S, Nur Indah P, 1992. Daya Antimikroba Obat Tradisional Diare terhadap Beberapa Jenis Bakteri Eneeropatogen, *Cermin Dunia Kedokteran* no. 76.