

Research Article

In Vitro Antimicrobial Activity of Javanese Tamarind Leaves Infusion (Tamarindus indica Linn.) in Escherichia coli

Caroline Suryadi¹, Djaja Rusmana², Endang Evacuasiany³

¹Faculty of Medicine, Maranatha Christian University

²Department of Microbiology Maranatha Christian University

³Department of Pharmacology Maranatha Christian University

Jl. Prof. Drg. Surya Sumantri MPH No. 65 Bandung 40164 Indonesia

Email: endang.eva49@gmail.com

Abstract

Escherichia coli is the most common bacteria that cause diarrhea. Based on Kurniawati's research, ethanol extract of tamarind leaves has an antimicrobial effect to Escherichia coli. This study aims to determine the antimicrobial effect using disk diffusion method, the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of tamarind leaves infusion against Escherichia coli. This research was done using a real laboratory experimental design with tamarind leaves infusion and Escherichia coli microbes as the research objects. Zones of inhibition were observed using disk diffusion method by putting the tamarind leaves infusion disks on Mueller-Hinton agars with Ampicillin antibiotic for comparison, followed by observing the MIC using macro broth dilution method and MBC. The result of disk diffusion showed that tamarind leaves infusion had no zone of inhibition, whereas the mean value of the zones of inhibition of ampicillin is 17.2 mm. The MIC of tamarind leaves infusion is 62.5 mg/mL. Average growth of bacteria for the MBC of tamarind leaves infusion at 125 mg/mL and 62.5 mg/mL concentration are 13 CFU/mL and >300 CFU/mL. It can be concluded that tamarind leaves infusion has antimicrobial activity effect against E.coli and that effect is bacteriostatic.

Keywords: *Tamarindus indica Linn, Escherichia coli, MIC, MBC*

Research Article

Aktivitas Antimikroba Infusa Daun Asam Jawa (*Tamarindus indica* Linn.) terhadap *Escherichia coli* secara In Vitro

Caroline Suryadi¹, Djaja Rusmana², Endang Evacuasiyany³

¹Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Maranatha, Bandung

²Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Maranatha, Bandung

³Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Maranatha, Bandung

Jl. Prof. Drg. Suria Sumantri MPH No. 65 Bandung 40164 Indonesia

Email: endang.eva49@gmail.com

Abstrak

Escherichia coli merupakan bakteri penyebab diare tersering. Menurut penelitian Kurniawati, ekstrak etanol daun asam jawa dapat berefek antimikroba terhadap *Escherichia coli*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antimikroba infusa daun asam jawa terhadap *Escherichia coli* dengan metode difusi cakram, *minimum inhibitory concentration* (MIC), dan *minimum bactericidal concentration* (MBC). Desain penelitian bersifat eksperimental laboratorium sungguhan dengan bahan penelitian adalah infusa daun asam jawa dan mikroba uji *Escherichia coli*. Dengan metode difusi cakram berisi infusa daun asam jawa yang dilakukan pada agar Mueller-Hinton dilakukan pengamatan zona inhibisi dan antibiotik ampicillin sebagai pembanding serta dilanjutkan dengan pemeriksaan MIC dengan metode *macro broth dilution* dan MBC. Hasil penelitian dengan difusi cakram menunjukkan daun asam jawa tidak terdapat zona inhibisi, sedangkan zona inhibisi ampicillin rata-rata 17,2 mm. MIC dari daun asam jawa yaitu 62,5 mg/mL. Rata-rata pertumbuhan bakteri pada MBC dari daun asam jawa dengan konsentrasi 125 mg/mL dan 62,5 mg/mL adalah 13 CFU/mL dan >300 CFU/mL. Simpulan infusa daun asam jawa memiliki aktivitas antimikroba yang bersifat bakteriostatik terhadap *Escherichia coli*.

Kata kunci: *Tamarindus indica* Linn, *Escherichia coli*, MIC, MBC

Research Article

Pendahuluan

Lebih dari satu milyar penduduk di dunia terkena satu atau lebih episode diare akut per tahun. Berdasarkan Survei Kesehatan Rumah Tangga (SKRT), Studi Mortalitas dan Riset Kesehatan Dasar dari tahun ke tahun diketahui bahwa diare masih menjadi penyebab utama kematian balita di Indonesia.¹ Sebagian besar kasus diare disebabkan oleh makanan atau air yang terkontaminasi oleh mikroba yaitu Rotavirus 25,4%, *Escherichia coli* 25,1%, *Shigella* 5,6%, *Campylobacter* 4,5%, dan *Salmonella* 4,4%, dan lain-lain yang tidak diketahui penyebabnya 35%.²

Untuk mengobati diare yang disebabkan bakteri diperlukan antibiotik. Antibiotik mempunyai efek samping dan dapat menyebabkan resistensi sehingga perlu dicari obat alternatif yang relatif lebih aman. Pembuatan ekstrak etanol lebih kompleks dan memerlukan biaya yang lebih mahal dibandingkan dengan membuat infusa.

Kegunaan daun asam jawa sebagai antimikroba, antiseptik, penurun demam.³ Berdasarkan penelitian Sri Widya Kurniawati, ekstrak etanol daun asam jawa dapat berefek antimikroba terhadap *Escherichia coli*.⁴ Pada penelitian ini ingin diketahui aktivitas antimikroba infusa daun asam jawa terhadap *Escherichia coli* secara *in vitro* dengan metode difusi cakram, MIC (*minimum inhibitory concentration*) dan MBC (*minimum bactericidal concentration*).

Metode

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Escherichia coli* sebagai mikroba uji dengan kerapatan sesuai standar 0,5 McFarland, daun asam jawa (*Tamarindus indica* Linn.), akuades, agar MacConkey, agar Mueller-Hinton, Mueller-Hinton *broth*, cakram kosong steril, cakram antibiotik ampicillin 10 µg.

Persiapan Bahan Uji

Daun asam jawa diperoleh dari salah satu daerah di Jawa Timur dan kemudian dikeringkan.

Pembuatan Infusa Daun Asam Jawa

Pada percobaan ini, 25 gram daun asam jawa dicampur dengan 100 mL akuades. Akuades dipanaskan sampai suhu mencapai 90°C, kemudian bahan di atas dimasukkan dan dibiarkan selama 15 menit. Setelah itu cairan dikeluarkan dan disaring dengan menggunakan kain perca bersih kemudian ditampung di tabung kaca steril.⁵

Research Article

Persiapan Mikroorganisme Uji

Mikroorganisme yang digunakan adalah *Escherichia coli* yang diambil dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Kristen Maranatha. Mikroba uji ditanam pada agar *MacConkey* untuk pembiakan dan identifikasi.

Pembuatan Suspensi Mikroorganisme

Larutan NaCl 0,9% dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Bakteri *Escherichia coli* yang telah dibiakkan pada medium *MacConkey* diambil menggunakan ose dan dimasukkan dalam tabung yang berisi NaCl 0,9%, kemudian dikocok agar homogen. Kekeruhan tabung reaksi yang berisi bakteri dibandingkan dengan tabung standar 0,5 *McFarland*, yakni 10^8 CFU (*Colony Forming Unit*) /mL.⁶

Pengujian Aktivitas Antimikroba

a. Penentuan difusi cakram:

Biakan bakteri *Escherichia coli* yang sudah memenuhi standar 0,5 *McFarland* diinokulasikan menggunakan kapas lidi steril pada permukaan agar Mueller-Hinton dengan metode *spread plate*. Permukaan plat diapus tiga arah agar inokulum terdistribusi merata pada plat agar. Setelah inokulasi dalam waktu 15 menit, cakram yang berisi infusa daun asam jawa dengan konsentrasi 250 mg/mL sebagai perlakuan dan cakram antibiotik ampicillin 10 µg sebagai kontrol pembanding diletakkan mendatar menggunakan pinset steril supaya menempel pada permukaan agar Mueller-Hinton. Plat di atas diletakkan terbalik kemudian diinkubasi selama 24-48 jam dalam suhu 35°C. Data yang diukur adalah zona inhibisi yang terbentuk di sekeliling cakram pada medium dengan menggunakan jangka sorong dalam satuan milimeter (mm) dan jika terdapat zona inhibisi dibandingkan dengan kontrol pembanding.⁶

b. Penentuan MIC:

Sepuluh tabung steril disiapkan dengan masing-masing tabung diisi 1 mL Mueller-Hinton *broth*. Satu mL stok infusa daun asam jawa (konsentrasi 250 mg/mL) dimasukkan ke dalam tabung pertama sehingga didapatkan konsentrasi daun asam jawa 125 mg/mL. Satu mL larutan daun asam jawa pada tabung ke-1 dipindahkan ke tabung ke-2. Tabung ke-2 dikocok sampai homogen, diambil 1 mL dan dipindahkan ke tabung ke-3 dan seterusnya sampai tabung ke-8. Tabung ke-1 sampai tabung ke-8 diisi masing-masing 0,1 mL larutan yang berisi suspensi bakteri uji. Konsentrasi akhir dari asam jawa murni pada tiap tabung adalah ke-1 125 mg/mL, ke-2 62,5 mg/mL, ke-3 31,25 mg/mL, ke-4 15,62 mg/mL, ke-5 7,81 mg/mL,

Research Article

ke-6 3,90 mg/mL, ke-7 1,95 mg/mL, dan ke-8 0,97 mg/mL. Untuk kontrol positif dimasukkan 0,1 mL larutan yang berisi suspensi bakteri uji, sedangkan untuk kontrol negatif dimasukkan 1 mL infusa daun asam jawa murni. Seluruh tabung termasuk kontrol positif dan kontrol negatif diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam. Kemudian diamati ada tidaknya pertumbuhan kuman dengan cara melihat kejernihan pada tabung dan membandingkan dengan kontrol positif.⁶

c. Penentuan MBC:

Setelah inkubasi dan penentuan MIC, setiap tabung yang menunjukkan penghambatan pertumbuhan bakteri secara visual disubkultur pada agar *MacConkey*. Agar tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam kemudian ditentukan apakah terdapat pertumbuhan koloni atau tidak. MBC adalah konsentrasi antimikroba dimana koloni tidak tumbuh. Kemudian ditentukan sifat antimikroba, jika masih terdapat pertumbuhan setelah subkultur maka zat yang diuji bersifat bakteristatik, sedangkan jika tidak terdapat pertumbuhan maka zat tersebut bersifat bakterisid.^{6,7}

Hasil

Berdasarkan penelitian yang dilakukan didapatkan hasil yang ditampilkan pada Tabel 1, 2, dan 3.

Tabel 1 Zona Inhibisi Infusa Daun Asam Jawa terhadap *E. coli*

	Pengulangan (mm)			Rata-rata (mm)
	1	2	3	
Ampicillin	17	17	17,5	17,2
Infusa 250 mg/mL	0	0	0	0

Tabel 2 Hasil MIC Infusa Daun Asam Jawa terhadap *E. coli*

Konsentrasi Infusa Daun Asam Jawa (mg/mL)	Pengulangan		
	1	2	3
125	jernih	jernih	jernih
62,5	jernih	jernih	jernih
31,25	keruh	keruh	keruh
15,62	keruh	keruh	keruh
7,81	keruh	keruh	keruh
3,90	keruh	keruh	keruh
1,95	keruh	keruh	keruh
0,97	keruh	keruh	keruh

Research Article

Tabel 3 Hasil MBC Infusa Daun Asam Jawa terhadap *E. coli*

Konsentrasi Infusa Daun Asam Jawa (mg/mL)	Pengulangan			CFU/mL
	1	2	3	
125	+	+	+	13
62,5	+	+	+	>300

Diskusi

Penghambatan terhadap *E.coli* karena adanya senyawa aktif pada daun asam jawa yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri yaitu flavonoid, alkaloid, tannin, dan saponin. Senyawa flavonoid, alkaloid, dan tannin merusak dinding sel bakteri sehingga inti sel bakteri lisis. Selain itu fenolik dan saponin dapat merusak membran sel sehingga terjadi kebocoran protein dan enzim tertentu.^{3, 8,9,10}

Pada hasil MBC daun asam jawa untuk konsentrasi 125 mg/mL dan 62,5 mg/mL didapatkan adanya pertumbuhan bakteri *E. coli*, sehingga infusa daun asam jawa bersifat bakteriostatik.

Simpulan

Pada uji aktivitas antimikroba Infusa daun asam jawa (*Tamarindus indica* Linn.) terhadap *Escherichia coli* secara *in vitro* dengan difusi cakram tidak tampak adanya zona inhibisi. MIC infusa daun asam jawa terhadap *Escherichia coli* secara *in vitro* adalah 62,5 mg/mL. Infusa daun asam jawa dengan konsentrasi 125 mg/mL dan 62,5 mg/mL bersifat bakteriostatik.

Daftar Pustaka

1. Kementerian Kesehatan RI. Situasi diare di Indonesia. Buletin Jendela Data dan Informasi Kesehatan. 2011 [cited 2013 Dec 2]. Available form: [http://www.depkes.go.id/downloads/Buletin%20Diare_Final\(1\).pdf](http://www.depkes.go.id/downloads/Buletin%20Diare_Final(1).pdf).
2. A simple solution. Time. 2006 [cited 2013 Dec 2]. Available form: http://www.who.int/maternal_child_adolescent/documents/pdfs/time_diarrhoea_article.pdf?ua=1.
3. Gracelin DHS, De Britto AJ, Kumar PBJR. Tamarindus Indica Linn-A potential antibacterial agent. Int J Universal Pharm Life Sci. 2012;2(4):99-104.
4. Kurniawati SW. Aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol daun asam jawa (*Tamarindus indica* Linn) terhadap kultur aktif *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. 2008 [cited 2013 Dec 20]. Available from:http://perpus.fkik.uinjkt.ac.id/file_digital/Sri%20Widya%20Kurniawati.pdf.
5. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Farmakope Indonesia. Vol. IV; 1995.
6. Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. Bailey & Scott's Diagnostic microbiology. 11th. Missouri: Mosby, 2002.
7. Atwah BA. Antibiotic Assay. 2010 [cited 2013 Dec 20]. Available from: http://www.uqu.edu.sa/files2/tiny_mce/.../Practical_8_Antibiotic_Assay.pdf.
8. Gowri SS, Vasantha K. Phytochemical screening and antibacterial activity of *Syzygium cumini* (L.) (Myrtaceae) leaves extracts. Int J PharmTech Res. 2010;2(2):1569-73.

Research Article

9. Shihabudeen SM, Thirumurugan K, Priscilla DH. Antimicrobial activity and phytochemical analysis of selected Indian Folk Medicinal Plants. *Int J Pharm Sci Res.* 2010;1(10):430-4.
10. Ramesh M, Lakshmia NP, Adarsha G, Satyanarayanab SV, MuralidharaRaoc D. Antimicrobial and antioxidant activity of leaf extracts of four common plants. *Inter J Biol Pharm Res.* 2012; 3(3):488-97.
11. Johnson TR, Case CL. *Laboratory experiments in microbiology.* 6th. San Francisco: Benjamin Cummings; 2001.