

Pengaruh kombinasi ekstrak etanol herba cecendet (*Physalis angulata L.*) dengan beberapa antibiotik terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Klebsiella pneumoniae*

Anna Choirunnisa, Afifah Bambang Sutjiatmo

Fakultas Farmasi Universitas Jenderal Achmad Yani, Jalan Terusan Jend. Sudirman, Cimahi.

Corresponding author email: annachoirunnisa@gmail.com

Abstrak

Penyakit infeksi merupakan salah satu masalah kesehatan terbesar tidak saja di Indonesia, namun di seluruh dunia. Bakteri merupakan agen penting dalam menyebabkan penyakit infeksi. Seringkali masyarakat Indonesia menggunakan antibiotik bersamaan dengan penggunaan obat herbal. Cecendet (*Physalis angulata L.*) merupakan salah satu tanaman tradisional yang memiliki aktivitas antibakteri dan banyak digunakan oleh masyarakat Indonesia secara turun menurun. Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antibakteri herba cecendet dan pengaruhnya jika digunakan kombinasi dengan antibiotik. Pembuatan ekstrak herba cecendet dilakukan menggunakan metode refluks dengan pelarut etanol 50%. Terhadap simplisia dan ekstrak yang diperoleh, dilakukan pemeriksaan karakteristik dan penapisan fitokimia. Penentuan aktivitas antibakteri dari ekstrak herba cecendet dilakukan dengan metode uji mikrodilusi dengan menilai konsentrasi hambat minimum (KHM). Penentuan efektivitas kombinasi ekstrak herba cecendet dengan antibiotik (ampisilin/tetrasiklin) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Klebsiella pneumoniae* dilakukan dengan menggunakan metode papan catur (*Checkerboard*). Hasil penapisan fitokimia menunjukkan bahwa simplisia dan ekstrak etanol herba cecendet mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, polifenol, monoterpenoid, seskuiterpen, steroid dan triterpenoid. Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak etanol herba cecendet mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *S.aureus* dan *K.pneumoniae* dengan konsentrasi hambat minimum berturut-turut adalah 128 µg/mL, 256 µg/mL. Interaksi yang sinergis terhadap *S.aureus* ditunjukkan oleh kombinasi ekstrak herba cecendet dengan tetrasiklin. Interaksi yang aditif/indifferent terhadap *S.aureus* ditunjukkan oleh kombinasi ekstrak herba cecendet dengan ampisilin, dan terhadap *K.pneumoniae* ditunjukkan oleh kombinasi ekstrak herba cecendet dengan ampisilin atau tetrasiklin. Ekstrak etanol herba cecendet memiliki aktivitas antibakteri dan kombinasi dengan antibiotik (ampisilin/tetrasiklin) dapat memberikan efek sinergis atau aditif bakteri *S.aureus* dan *K.pneumoniae*.

Kata kunci: Cecendet, *Physalis angulata L.*, konsentasi hambat minimum, antibakteri, kombinasi antibiotik

The effect of a combination of ethanol extract of Physalis angulata L. with antibiotic against Staphylococcus aureus and Klebsiella pneumoniae

Abstract

Infectious disease is one of the biggest health problems not only in Indonesia, but worldwide. Bacteria are important agents in causing infectious diseases. Indonesian people often use antibiotics along with herbal medicines. Cecendet (*Physalis angulata L.*) is one of the traditional plants that have antibacterial activity and widely used by the Indonesian community. This study aims to test the antibacterial activity of cecendet herbs and their effects when used in combination with various antibiotics. The preparation of *P.angulata* extract was carried out using reflux method with ethanol 50%. The characteristic examination and phytochemical screening are examined on simplicia and the extract. Determination of antibacterial activity from *P.angulata* extract was done by microdilution test method by assessing minimum inhibitory concentration (MIC). Determination of the effectiveness of combination of antibiotics with herbal cecendet against test microbes *Staphylococcus aureus* and *Klebsiella pneumoniae* was done by using checkerboard method. The results of phytochemical screening showed that simplicia and *P.angulata* extract contained alkaloids, flavonoids, saponins,

polyphenols, monoterpenoids, sesquiterpenes, steroids and triterpenoids. The result of antibacterial activity test showed that *P.angulata* extract had antibacterial activity against *S.aureus* and *K.pneumoniae* with the MIC was 128 µg/mL, 256 µg/mL. The synergistic interaction of *S.aureus* is demonstrated by the combination of *P.angulata* herb extract with tetracycline. The additive/indifferent interaction of *S.aureus* is demonstrated by the combination of *P.angulata* extracts with ampicillin, and against *K.pneumoniae* shown by the combination of *P.angulata* extract of cecendet with ampicillin or tetracycline. Ethanol extract of *P.angulata* has antibacterial activity and combination with antibiotics (ampicillin/tetracyclin) can give synergistic effect or additive of *S.aureus* and *K.pneumoniae* bacteria.

Keywords: Cecendet, *Physalis angulata* L., MIC, antibiotic combination

Pendahuluan

Penyakit infeksi merupakan salah satu masalah kesehatan terbesar tidak saja di Indonesia, tapi juga di seluruh dunia. Selain virus, bakteri juga dapat menyebabkan penyakit infeksi, dengan infeksi terbanyak (18%) adalah infeksi saluran nafas akut. Kerugian yang ditimbulkan akibat infeksi adalah lamanya rawat inap. Hal ini dapat menimbulkan infeksi lanjutan seperti infeksi nosokomial. (Mardiastuti, 2007). Berdasarkan hasil penelitian Layuk (2010), dapat dilihat bahwa bakteri yang paling banyak teridentifikasi dari spesimen darah, urin, sputum, feses, dan cairan tubuh pasien rawat jalan maupun rawat inap pada tahun 2010 ialah *Staphylococcus aureus* dan *Klebsiella pneumoniae*; *Escherichia coli*; *Streptococcus viridians* dan *Klebsiella pneumoniae*; *E.coli* non-patogen dan *E.coli* patogen; dan *E.coli*. Hal ini menunjukkan bahwa masih banyak bakteri resisten terhadap antibiotik.

Gaya hidup kembali ke alam (*back to nature*) menjadi tren saat ini sehingga masyarakat Indonesia khususnya kembali memanfaatkan berbagai bahan alam, termasuk pengobatan dengan tumbuhan obat (herbal) walaupun sebenarnya sudah sejak zaman dahulu masyarakat mengenal dan menggunakan tanaman berkhasiat obat sebagai salah satu upaya menanggulangi berbagai masalah kesehatan. Penggunaan tanaman obat untuk penyembuhan suatu penyakit didasarkan pada pengalaman yang secara turun menurun diwariskan oleh generasi terdahulu. (Agromedia, 2008).

Cecendet (*Physalis angulata* L.) merupakan tanaman tradisional yang memiliki banyak khasiat yang salah satunya dapat digunakan sebagai diabetes mellitus, sakit paru-paru, ayan dan borok (Dalimartha, 2006). Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak etanol 96% daun cecendet memiliki efek antimikroba terhadap bakteri *Methicillin resistant S.aureus*

dan *Pseudomonas aeruginosa* secara *in vitro*. (Fitriani, 2011; Rivera, 2015). Seringkali masyarakat Indonesia menggunakan antibiotik bersamaan dengan penggunaan obat herbal. Data penggunaan kombinasi antibiotik dengan ekstrak cecendet belum ditemukan. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antibakteri herba cecendet dan pengaruhnya jika digunakan kombinasi dengan berbagai antibiotik terhadap *S.aureus* dan *K.pneumoniae*.

Metode penelitian

Bahan. Herba cecendet dikumpulkan dari desa Haurwangi, kabupaten Cianjur, Propinsi Jawa Barat. Determinasi herba Cecendet (*Physalis angulata* L.), dilakukan di Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati ITB.

Pembuatan Ekstrak. Pembuatan ekstrak etanol herba cecendet dilakukan dengan ekstraksi berkesinambungan menggunakan perangkat alat refluks dengan pelarut etanol 50%. Ekstrak yang didapat selanjutnya diuapkan dengan penguap putar (*rotavapor*), sampai didapatkan ekstrak kental, kemudian ekstrak kental dikeringkan di oven pada suhu 90 °C.

Penapisan Fitokimia. Penapisan fitokimia dilakukan untuk mendeteksi adanya flavonoid, tanin, quinon, saponin, alkaloid, dan steroid/terpenoid sesuai (Harborne, 1973).

Penyiapan Bakteri Uji. Masing-masing bakteri uji diinokulasikan pada agar miring Mueller Hinton Agar (MHA) dengan cara digoreskan rapat secara zigzag dari bawah ke atas menggunakan jarum ose bundar dan diinkubasi pada inkubator selama 24 jam pada suhu 37°C. Bakteri yang telah diinkubasi dan tumbuh pada agar miring diambil dengan jarum Ose bundar dan disuspensikan pada 5 mL media Mueller Hinton Broth (MHB), lalu diinkubasi

selama 24 jam pada suhu 37°C. Hari berikutnya, suspensi bakteri uji diencerkan dengan MHB hingga menghasilkan absorbansi 0,08–0,13 menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 625 nm (setara dengan 0,5 McFarland). Setelah dihasilkan absorbansi pada rentang tersebut, suspensi bakteri diencerkan lagi dengan MHB sehingga diperoleh jumlah akhir bakteri yang terkandung pada tiap satu sumur pelat setara dengan kira-kira 5×10^5 CFU/mL (rentang $2-8 \times 10^5$ CFU/mL).

Pengujian Aktivitas Antibakteri (Lorian, 2005) (CLSI, 2012).

Penentuan nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) dengan metode mikrodilusi. Metode yang digunakan untuk menilai KHM ekstrak uji adalah mikrodilusi. Sejumlah 100 µL media steril ditambahkan pada 96 sumur pelat mikro. Kemudian, 100 µL larutan ekstrak uji ditambahkan pada posisi ke-12A (baris pertama (A), kolom ke-12) pada pelat mikro. Larutan ini diaduk perlahan menggunakan mikropipet hingga homogen, lalu 100 µL larutan ini dipipet dan dipindahkan ke posisi 11A pelat mikro. Pengenceran ini dilanjutkan hingga posisi 3A. Pengenceran dilakukan dari kanan ke kiri pada pelat. Hal yang sama dilakukan untuk pengenceran antibiotik pembanding. Setelah pengenceran dilakukan pada seluruh sumur, 100 µL suspensi bakteri yang telah dibuat ditambahkan pada masing-masing pelat mikro hingga volume total tiap sumur 200 µL. Pada kontrol negatif diisi 200 µL media, sedangkan pada kontrol positif diisi dengan 100 µL media dan 100 µL suspensi bakteri uji. Pelat mikro yang telah mengandung kontrol negatif, kontrol positif, ekstrak uji dan antibiotik pembanding kemudian diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu $35 \pm 2^\circ\text{C}$.

KHM diamati sebagai konsentrasi paling rendah dimana tidak terdapat endapan bakteri pada dasar sumur (jernih) yang mengindikasikan terhambatnya pertumbuhan bakteri. Pengujian dilakukan sebanyak tiga kali.

Penentuan Sifat Kombinasi dengan Metode Papan Catur (Checkerboard). Penentuan sifat kombinasi dilakukan dengan metode papan catur yang disederhanakan. Kombinasi melibatkan satu antibiotik dan satu ekstrak uji. Ekstrak tanaman yang akan diuji ada 3 macam. Masing-masing larutan dikombinasikan dengan konsentrasi tertinggi masing-masing 2 KHM lalu dilakukan pengenceran dengan cara yang sama seperti pada

penentuan nilai KHM sehingga diperoleh konsentrasi masing-masing kelompok ekstrak uji 2 KHM, 1 KHM, $\frac{1}{2}$ KHM, $\frac{1}{4}$ KHM dan $\frac{1}{8}$ KHM. Selanjutnya ditentukan sifat interaksi kombinasi ekstrak uji terhadap mikroba uji dengan menggunakan parameter Fraksi Konsentrasi Inhibisi (FKI). Sifat kombinasi sinergis bila FKI kurang dari 1, sedangkan aditif/*indifferent* diperoleh bila nilai FKI sama dengan 1 dan antagonis jika nilai FKI lebih dari 1.

Penentuan Sifat Kombinasi dengan Metode Pita Kertas. Sifat interaksi yang terjadi pada metode pita kertas ditentukan dengan melihat secara visual pola yang terjadi pada kombinasi ekstrak uji dengan antibiotik yang dicelupkan pada pita kertas kemudian diletakkan diatas media agar yang telah dicampurkan dengan suspensi bakteri pada cawan petri. Kemudian cawan petri ini diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Pola yang menunjukkan kombinasi aditif/*indifferent* dilihat dari 2 zona hambatan masing-masing obat yang berdiri sendiri. Kombinasi sinergis dilihat oleh adanya peningkatan atau penghubung antara atau dekat 2 zona hambatan. Sedangkan kombinasi antagonis dapat dilihat dari potongan atau pengecilan kedua zona hambatan.

Hasil dan pembahasan

Hasil Karakterisasi Herba Cecendet. Hasil karakterisasi dan penapisan fitokimia simplisia dan ekstrak etanol herba cecendet dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Pemeriksaan Karakteristik dan Penapisan Fitokimia Simplisia Herba Cecendet

Jenis Pemeriksaan	Herba Cecendet	
	Simplisia	Ekstrak
Bentuk	Rajangan	Serbuk halus higroskopis
<u>Organoleptik</u>		
Warna	Kekuningan dan hijau	Coklat kehitaman
Rasa	Pahit	Pahit
Bau	Khas	Khas
Kadar air (v/b)	2,09%	1,2%
Susut pengeringan (b/b)	1,55%	9,87%
Kadar abu total (v/b)	16,94%	5,85%
Kadar abu larut air (b/b)	9,58%	2,55%
Kadar abu tidak larut asam (b/b)	1,44%	1,02%
Kadar sari larut air (b/v)	31,23%	td
Kadar sari larut etanol (b/v)	11,29%	td
Penapisan fitokimia		
Alkaloid	+	+
Flavonoid	+	+
Polifenol	+	+
Tanin	-	-
Kuinon	-	-
Saponin	+	+
Monoterpenoid dan Seskuiterpeneoid	+	+
Steroid dan Triterpenoid	+	+

Keterangan :

+ = mengandung senyawa yang diuji.

- = tidak mengandung senyawa yang diuji.

td = tidak terdeteksi

Hasil penapisan fitokimia menunjukkan bahwa simplisia dan ekstrak etanol herba cecendet mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, polifenol, monoterpenoid, seskuiterpeneoid, steroid dan triterpenoid.

Pengujian Aktivitas Antibakteri. Hasil aktivitas antibakteri dengan metode mikrodilusi dari ekstrak etanol dapat dilihat pada Tabel 2. Penentuan KHM atau Konsentrasi Hambat Minimum secara *in vitro* dapat dilakukan dengan beberapa metode, diantaranya metode difusi agar dan pengenceran agar. Pada pengujian ini, KHM dari masing-masing ekstrak uji dilakukan dengan metode *broth microdilution* (pengenceran agar) dengan waktu inkubasi 24 jam. Pertimbangan pemilihan metode ini adalah karena metode pengujian lebih sederhana, sampel yang dibutuhkan lebih sedikit, sensitivitasnya lebih tinggi dan hasilnya kuantitatif.

Tabel 2. Hasil Konsentrasi Hambat Minimum dan Konsentrasi Bunuh Minimum Ekstrak Etanol Herba Cecendet

Bahan Uji	Nilai KHM dan KBM pada bakteri			
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>	
	KHM (µg/ml)	KBM (µg/ml)	KHM (µg/ml)	KBM (µg/ml)
Ekstrak Etanol Herba Cecendet	256	> 4096	128	1024
Ampisilin	512	> 4096	1024	2048
Tetrasiklin	2	256	2	64

Keterangan :

KHM = konsentrasi hambat minimum

KBM = konsentrasi bunuh minimum

Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak etanol 50% herba cecendet mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *S.aureus* dengan konsentrasi hambat minimum 128 µg/mL, sedangkan terhadap *K.pneumoniae* mempunyai konsentrasi hambat minimum 256 µg/mL. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak etanol 50% herba cecendet mempunyai aktivitas terhadap *K.pneumoniae* dan *S.aureus* dengan kepekaan bakteri resisten. Suatu zat/antibiotik dikatakan sensitif terhadap bakteri jika KHM ≤ 4 µg/ml, dikatakan intermediate jika KHM 8-16 µg/ml dan dikatakan resisten jika KHM > 16 µg/ml (Lorian, 2005). Untuk hasil Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM), hasil penelitian menunjukkan KBM ekstrak etanol 50% herba cecendet pada bakteri *S. aureus* terlihat pada konsentrasi 1024 µg/ml sehingga dapat diketahui bahwa ekstrak etanol herba cecendet bersifat bakterisid terhadap *S.aureus*. Sedangkan KBM terhadap *K.pneumoniae* tidak terlihat hingga konsentrasi tertinggi, sehingga dapat diketahui bahwa ekstrak etanol herba cecendet bersifat bakteriostatik terhadap *K.pneumoniae*.

Penentuan sifat kombinasi dilakukan dengan metode papan catur yang disederhanakan. Hal ini untuk menunjukkan interaksi yang terjadi antara antibiotik dengan tanaman herbal (Williamson dkk., 2009). Kombinasi melibatkan satu antibiotik dan satu ekstrak uji. Pada pengujian ini, hasil kombinasi yang didapatkan adalah sinergis dan aditif/*indifferent*. Dari hasil kombinasi tetrasiklin dengan ekstrak etanol 50% herba cecendet terhadap *S.aureus* bersifat sinergis. Kombinasi yang baik dapat dilihat dari nilai FKI yang paling kecil.

Tabel 3. Sifat Kombinasi Ekstrak Etanol Herba Cecendet Dengan Antibiotik Terhadap *Klebsiella pneumoniae* dan *Staphylococcus aureus*

Bakteri	Tanaman	Kombinasi		FKE	FKO	FKI	Sifat Kombinasi
		KHM dalam kombinasi (µg/mL)	Antibiotik				
<i>Staphylococcus aureus</i>	Cecendet	128	Ampisilin	0,5	0,5	1	Aditif
		64	Tetrasiklin	0,5	0,25	0,5	Sinergis
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Cecendet	64	Ampisilin	0,5	0,5	1	Aditif
		64	Tetrasiklin	1	0,5	0,5	1

Keterangan:

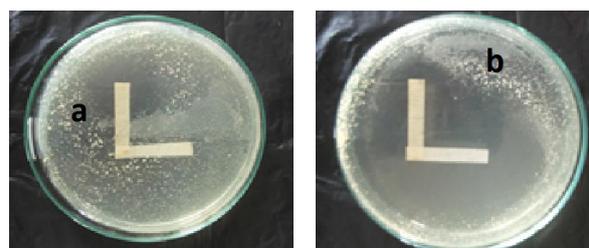
FKE = Fraksi Konsentrasi Ekstrak

FKO = Fraksi Konsentrasi Obat

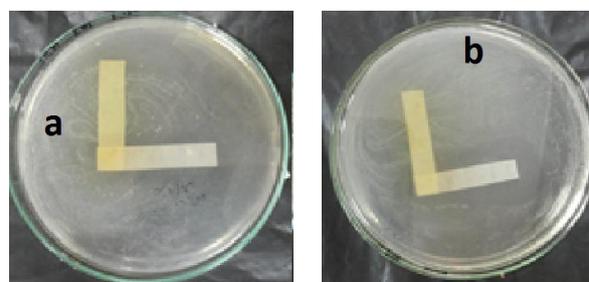
FKI = Fraksi Konsentrasi Inhibisi

Karena dengan nilai FKI yang lebih kecil maka konsentrasi yang dibutuhkan antara kedua bahan uji lebih sedikit pula atau efek yang dihasilkan lebih besar. Hasil kombinasi ampisilin atau tetrasiklin dengan ekstrak etanol herba cecendet terhadap *Klebsiella pneumoniae* dan kombinasi ampisilin dengan ekstrak etanol herba cecendet terhadap *Staphylococcus aureus* bersifat aditif/indifferent. Hasil kombinasi dapat dilihat pada Tabel 3. Interaksi yang sinergis terhadap *S.aureus* ditunjukkan oleh kombinasi ekstrak etanol herba cecendet dengan tetrasiklin. Interaksi yang aditif /indifferent ditunjukkan oleh kombinasi ekstrak etanol herba cecendet dengan ampisilin terhadap *S.aureus* dan kombinasi ekstrak etanol herba cecendet dengan tetrasiklin atau ampisilin terhadap *K.pneumoniae*.

Pengujian sifat kombinasi dengan pita kertas bertujuan untuk mengkonfirmasi hasil dari pengujian sifat kombinasi checkerboard. Sifat interaksi yang terjadi pada metode pita kertas ditentukan dengan melihat secara visual pola yang terjadi pada kombinasi ekstrak uji dengan antibiotik yang dicelupkan pada pita kertas kemudian diletakkan diatas media agar yang telah dicampurkan dengan suspensi bakteri pada cawan petri. Hasil pola sifat kombinasi antara ekstrak uji dan antibiotik dapat dilihat pada Gambar 1 dan 2. Hasil menunjukkan bahwa pola pada pengujian sifat kombinasi dengan metode pita kertas sesuai dengan pola dan hasil pada pengujian sifat kombinasi dengan metode checkerboard.



Gambar 1. Pola kombinasi ekstrak etanol herba cecendet dengan (a) ampisilin, (b) tetrasiklin terhadap *S.aureus*



Gambar 2. Pola kombinasi ekstrak etanol herba cecendet dengan (a) ampisilin, (b) tetrasiklin terhadap *K.pneumoniae*

Kesimpulan

Kesimpulan pada penelitian ini adalah ekstrak etanol herba cecendet memiliki aktivitas antibakteri dan kombinasi dengan antibiotik (ampisilin/tetrasiklin) dapat memberikan efek sinergis atau aditif bakteri *S.aureus* dan *K.pneumoniae*.

Ucapan terima kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat (LPPM) Universitas Jenderal Achmad Yani (UNJANI) yang telah mendukung penelitian ini melalui Hibah Penelitian Kompetisi.

Daftar pustaka

- Agromedia, R. (2008). *Buku Pintar Tanaman Obat*. Jakarta: PT Agromedia Pustaka.
- CLSI. (2012). *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard—Ninth Edition, CLSI document M07-A9*. USA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Dalimartha, S. (2006). *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 4*. Jakarta: Trubus Agriwidya.
- Fitriani, D. (Agustus 2011). Efektivitas Ekstrak Daun Cecendet sebagai antimikroba terhadap Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus In Vitro. *Jurnal Kedokteran Brawijaya Volume 26*, No. 4.
- Harborne, J. (1973). *Pytochemical Methods*. London: Chapman and Hall.
- HW, Mardiasuti; Karuniawati, Anis; Kiranasari, Ariyani; Ikaningsih; Kadarsih, Retno. (2007). Emerging Resistance Pathogen: Situasi Terkini di Asia, Eropa, Amerika Serikat, Timur Tengah dan Indonesia. *Majalah Kedokteran Indonesia, Volum: 57, Nomor: 3*, 76.
- Layuk, A. (2010). Prevalensi dan Kepekaan Bakteri Terhadap Antibiotik Golongan Beta-Laktam dan Kuinolon di Rumah Sakit Dr Hasan Sadikin Bandung. Bandung: Skripsi, ITB.
- Lorian, V. (2005). *Antibiotics in Laboratory Medicine*, 5th Edition. Lippincott Williams & Wilkins.
- Rivera, D. E. (2015). Antibacterial activity of *Physalis angulata* L., *Merremia umbellata* L., and *Cryptostegia grandiflora* Roxb. Ex R.Br. - medicinal plants of the Colombian Northern Coast. *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine Volume 15, Issue 1*, 95-1-2.
- Williamson, E., Driver, S., & Baxter, K. (2009). *Stokley's Herbal Medicine Interactions*. London: Pharmaceutical Press.