

PENGARUH EKSTRAK DAUN COCOR BEBEK (*Bryophyllum pinnatum*) TERHADAP PERTUMBUHAN *Escherichia coli* WILD-TYPE DAN ATCC 35218

EFFECT OF COCOR BEBEK LEAF EXTRACT (*Bryophyllum pinnatum*) ON THE GROWTH OF *Escherichia coli* WILD-TYPE AND ATCC 35218

Nurul Fadiyah¹, Nia Krisniawati^{2*}, Ismiralda Oke Putranti³

1 Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Soedirman Jl. Dr. Gumbreg No. 1, Purwokerto, Indonesia

2 Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Soedirman Jl. Dr. Gumbreg No. 1, Purwokerto, Indonesia

3 Departemen Departemen Kulit dan Kelamin Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Soedirman Jl. Dr. Gumbreg No. 1, Purwokerto, Indonesia

ABSTRAK

Indonesia merupakan negara yang memiliki banyak keanekaragaman hayati dan hewani yang bermanfaat sebagai obat tradisional yang dapat menjadi pengobatan alternatif. Salah satu tumbuhan yang dapat digunakan adalah bagian daun dari tumbuhan Cocor Bebek yang memiliki manfaat seperti antibakteri, anti diabetes, anti oksidan, dan sebagainya serta mengandung senyawa aktif seperti flavonoid, alkaloid, saponin dan steroid. *Escherichia coli* adalah flora normal yang bersifat patogen dalam tubuh. Pemberian ekstrak daun Cocor Bebek yang bersifat antibakteri diperkirakan memiliki efek yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli wild-type* dan ATCC 35218. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun Cocor Bebek dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli wild-type* dan ATCC 35218. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental nyata dengan rancangan *Post-Test-Only Control Group Design*. Daun Cocor Bebek diekstraksi dengan metanol menggunakan metode maserasi. Sampel penelitian terdiri dari biakan murni *Escherichia coli wild-type* dan ATCC 35218 dengan kepadatan $1,5 \times 10^8$ sel/ ml. Pengujian dengan metode Difusi Cakram Kirby Bauer dengan konsentrasi ekstrak 20%, 40%, 60%, 80%, aquades sebagai kontrol negatif dan amoxicillin-clavulanat sebagai kontrol positif. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak daun Cocor Bebek tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 35218 dan *Escherichia coli wild-type* karena kemungkinan kedua bakteri termasuk dalam bakteri ESBL. Pada penelitian sebelumnya mengatakan bahwa 66,7% komunitas yang ada di Purwokerto merupakan carrier tanpa gejala. Kesimpulan penelitian ini, ekstrak daun Cocor Bebek tidak memiliki efek penghambatan dalam pertumbuhan bakteri *Escherichia coli wild-type* dan ATCC 35218.

Kata Kunci: Daun Cocor Bebek, Difusi Cakram, *Escherichia coli*, Kirby Bauer

ABSTRACT

Indonesia is a country that has a lot of biodiversity and animals that are useful as a traditional medicine that can be alternative medicine. One of the plants that can be used is the leaf part of the Cocor Bebek plant, which has benefits such as antibacterial, anti-diabetic, anti-oxidant, and so on and contains active compounds such as flavonoids, alkaloids, saponins, and steroids. *Escherichia coli* is a normal flora of a pathogenic nature in the body. Giving antibacterial Cocor Bebek leaf extract is thought to have an effect that can inhibit the growth of *Escherichia coli* wild-type bacteria and ATCC 35218. This study aimed to determine the impact of giving Cocor Bebek leaf extract in inhibiting the growth of *Escherichia coli* wild-type bacteria and ATCC 35218. This research is experimental with the design of the Post-Test-Only Control Group Design. Cocor Bebek leaves are extracted with methanol using the maceration method. The study sample consisted of pure cultures of *Escherichia coli* wild-type and ATCC 35218 with a 1.5×10^8 cells/ml density. It is tested with the Kirby Bauer Disc Diffusion method with extract concentrations of 20%, 40%, 60%, and 80%, aqua dest as a negative control, and amoxicillin-clavulanate as a positive control. The results showed that Cocor Bebek leaf extract could not inhibit the growth of *Escherichia coli* ATCC 35218 and *Escherichia coli* wild-type bacteria because both bacteria may be included in ESBL bacteria. In previous research, it was said that 66.7% of communities in Purwokerto were asymptomatic carriers. The conclusion of this study, Cocor Bebek leaf extract did not have an inhibitory effect on the growth of *Escherichia coli* wild-type bacteria and ATCC 35218.

Keywords: Cocor Bebek Leaf, Disc Diffusion, *Escherichia coli*, Kirby Bauer

Penulis korespondensi:

Nia Krisniawati

Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Soedirman Jl. Dr. Gumbreg No. 1, Purwokerto, Indonesia

Email: nia.krisniawati@unsoed.ac.id

PENDAHULUAN

Cocor Bebek merupakan salah satu keanekaragaman hayati yang dimiliki Indonesia yang dapat bermanfaat sebagai obat tradisional yang berasal dari Madagaskar serta tersebar di daerah tropis seperti Australia, Selandia Baru, India Barat, Afrika, Hawaii, Amerika, China dan Indonesia (Khooshbu dan Ansari, 2019). Cocor Bebek memiliki banyak manfaat seperti anti diabetes, antibakteri, anti kanker, anti jamur, antioksidan, anti asma dan sebagainya serta memiliki banyak kandungan metabolit sekunder yang dapat bermanfaat seperti flavonoid, alkaloid, saponin dan steroid. Salah satu metabolit sekunder yang memiliki manfaat sebagai antibakteri adalah flavonoid (Hasanah dan Putri, 2017; Purwatiningsih dan Lestari, 2020; Tagousop et al., 2018).

World Health Organization (WHO) menyatakan bahwa tanaman obat dapat menjadi obat dari berbagai macam penyakit karena banyak kandungan yang bersifat

terapeutik yang terkandung dalam seluruh bagian tumbuhan, obat herbal yang berasal dari tanaman obat ini tergolong lebih aman dan ekonomis sehingga menarik banyak perhatian para peneliti untuk meneliti lebih lanjut terkait efek terapeutik yang dimiliki oleh tanaman obat (Latief et al., 2019; Maulidiah et al., 2020).

Escherichia coli adalah flora normal yang ada dalam usus manusia tetapi dapat menjadi penyebab dari suatu penyakit seperti diare sekretorik, diare disertai darah, infeksi saluran kemih, meningitis, infeksi dalam aliran darah. *Escherichia coli* yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah *Escherichia coli wild-type* yang merupakan bakteri tanpa rekayasa genetika dan *Escherichia coli* ATCC 35218 yang merupakan bakteri yang telah resistansi dengan antibiotik golongan beta-laktam (Cho, et al., 2018; Li et al., 2021).

Dalam penelitian yang dilakukan oleh Pinilih dan Hidayat (2014) diketahui bahwa konsentrasi 20%, 40%, 60% dan 80% ekstrak daun cocor memiliki berpengaruh dalam penghambatan pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan dalam penelitian Ngatin dan Saputra (2019) yang menggunakan berbagai pelarut seperti n-heksana, asam asetat 5%, metanol, aseton, dan etil asetat didapatkan hasil bahwa metanol dapat menarik flavonoid cukup baik karena merupakan pelarut yang bersifat polar. Berdasarkan penelitian diatas, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang Pengaruh Ekstrak Daun Cocor Bebek (*Bryophyllum pinnatum*) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia Coli Wild-Type* dan ATCC 35218.

METODE PENELITIAN

Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah autoclave, inkubator, bejana maserasi, rotary evaporator dan waterbath.

Bahan

Bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah alkohol, media Mueller-Hilton Agar, ekstrak daun cocor bebek, aquades steril, pelarut methanol, pelarut etil asetat, biakan *Escherichia coli* ATCC 35218 dan *wild-type*, cakram kloramfenikol 30µg, cakram DMSO, spiritus, peptone (*Pancreatic Digest of gelatin*), *Proteose peptone (meat and casein)*, *lactose monohydrate*, *bile salt*, *sodium chloride*, *neutral red*, *crystal violet*, *agar*, *aquades*, *beef extract*, *acid hydrolysate of casein*, *starch*.

Jalannya Penelitian

1. Tahap Persiapan

Sterilisasi Alat dan Bahan

Seluruh alat dan bahan (hanya aquades) yang akan digunakan distereilisasi dengan menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1,5 atm yang mana sebelum disterilisasi alat telah dicuci dengan bersih, dikeringkan dan dibungkus dengan menggunakan kertas.

Pembuatan Ekstrak Daun Cocor Bebek dengan Pelarut Metanol

Daun cocor bebek yang telah dikeringkan ditimbang 500g lalu dimasukkan kedalam bejana maserasi yang sudah dilembabkan dengan cairan metanol hingga simplisia tertutupi seluruhnya oleh metanol. Kemudian diamkan selama 5 hari yang mana harus

pengaruh ekstrak daun cocor bebek (*bryophyllum pinnatum*) terhadap pertumbuhan *escherichia coli* wild-type dan atcc 35218 (nurul fadiyah)

terlindungi dari matahari dan aduk sesekali. Setelah 5 hari disaring ampasnya, kemudian ekstraksi metanol yang diperoleh akan dipekatkan dengan *rotary evaporator* hingga didapatkan ekstrak yang kental.

Pembuatan Ekstrak Daun Cocor Bebek dengan Pelarut etil asetat

Daun cocor bebek yang telah dikeringkan ditimbang 500g lalu dimasukkan kedalam bejana maserasi yang sudah dilembabkan dengan cairan etil asetat hingga simplisia tertutupi seluruhnya oleh etil asetat. Kemudian diamkan selama 5 hari yang mana harus terlindungi dari matahari dan aduk sesekali. Setelah 5 hari disaring ampasnya, kemudian ekstraksi metanol yang diperoleh akan dipekatkan dengan *rotary evaporator* hingga didapatkan ekstrak yang kental.

Pembuatan Stok Variabel Konsentrasi

Variabel yang akan digunakan dalam penelitian terdapat 3 variabel, kontrol negatifnya adalah *disc* DMSO, variasi konsentrasi ekstrak daun cocor bebek metanol 25%, 50%, 75%, 100% dengan menggunakan pelarut metanol dan pelarut etil asetat, serta kontrol positifnya berupa *disc* yang berisikan kloramfenikol.

Pembuatan Media Mac Conkey Agar

- 1) Timbang 50 gram bubuk Media Mac Conkey, larutkan dengan 1 liter aquades.
- 2) Panaskan sampai mendidih untuk melarutkan media.
- 3) Sterilkan dalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit.
- 4) Tunggu suhu sampai hanga-hangat kuku (45°C – 50°C)
- 5) Homogenkan, tuang ke dalam cawan petri

Kultur Bakteri

Kultur bakteri ini dilakukan untuk memperbanyak stok bakteri dengan cara, menginokulasikan 1 jarum ose biakan murni *Eschericia coli* ke dalam Media Mac Conkey Agar, kemudian diamkan pada suhu 37° selama 24 jam.

Pembuatan Media Mueller-Hilton Agar

- 1) Timbang 38 gram media, tambahkan 1 liter aquades
- 2) Panaskan sampai mendidih untuk melarutkan media
- 3) Sterilkan dengan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit
- 4) Tunggu suhu sampai hangat-hangat kuku (45°C - 50°C)
- 5) Tuang ke dalam cawan petri steril
- 6) Simpan pada suhu 2-8°C

2. Tahapan Pengujian

Uji penghambatan pertumbuhan bakteri dengan cara cakram

- a. Bakteri diencerkan dengan mencampurkan 1 ose suspense *Eschericia coli wild-type* dan ATCC 35218 ke dalam 2 tabung reaksi yang telah berisi larutan NaCl.
- b. Dihomogenkan dengan menggunakan vortex dan kekeruhannya distandarisasi dengan konsentrasi 0.5 Mc Farland sehingga jumlah bakteri memenuhi standarisasi untuk uji kepekaan yaitu: 10⁵-10⁸/ml.

- c. Kemudian larutan bakteri yang telah distandarisasi tadi, dioleskan pada media pertumbuhan *Mueller-Hilton Agar* (MHA).
- d. Cakram uji kosong yang telah direndam selama 15 menit di dalam masing-masing stok konsentrasi ekstrak daun cocor bebek tadi diletakkan di atas permukaan agar secara higienis.
- e. Lalu media yang telah kita buat tadi, diinkubasi ke dalam incubator dengan suhu 37°C selama 24 jam, keesokan harinya diukur diameter zona transparan/ terang (*clear zone*) yang terbentuk dengan menggunakan jangka sorong.

Analisis Data

Data hasil penelitian uji antibakteri ekstrak daun cocor bebek pada *Escherichia coli wild-type* dan ATCC 35218 dianalisis dengan menggunakan SPSS untuk melihat apakah ada perbedaan aktivitas antibakteri yang bermakna dari masing-masing cakram uji yang mengandung kontrol negatif, kontrol positif dan berbagai konsentrasi ekstrak daun cocor bebek yang dilarutkan dengan pelarut metanol dan etil asetat dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli wild-type* dan ATCC 35218. Data penelitian ini berupa variabel numerik lebih dari 2 kelompok tidak berpasangan sehingga menggunakan uji *One Way ANOVA* jika distribusi data normal. Jika distribusi data tidak normal maka menggunakan uji nonparametric yaitu Uji *Kruskall-Wallis*. Kemudian untuk membandingkan, menggunakan Uji T untuk melihat perbandingan antara ekstrak dengan pelarut metanol dan etil asetat.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan tanaman *Bryophyllum pinnatum*. Dari serbuk simplisia daun Cocor Bebek 500 gram yang diekstraksi dengan pelarut metanol, didapatkan hasil ekstrak 38 gram dengan metode maserasi. Ekstrak daun Cocor Bebek berwarna coklat kehijauan pekat. Hasil skrining fitokimia secara kualitatif diketahui bahwa ekstrak daun Cocor Bebek mengandung flavonoid, alkaloid, saponin dan steroid (Tabel I)

Tabel I Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Daun Cocor Bebek

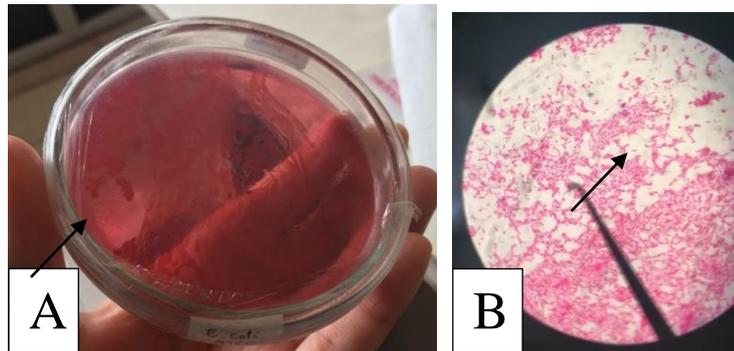
Senyawa Aktif	Warna	Hasil
Flavonoid	Kuning kehijauan	+
Saponin	Kuning kehijauan dengan busa stabil (1 cm)	+
Alkaloid	Hijau dan terdapat endapan putih	+
Steroid	Biru hijau	+

Keterangan (+) : menunjukkan positif

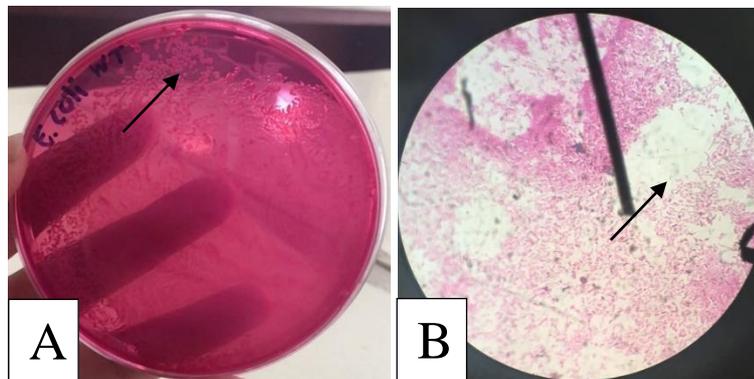
Morfologi sel dari hasil pengamatan diketahui bahwa bakteri uji yaitu *Escherichia coli* karena termasuk dalam bakteri gram negatif, batang pendek, tidak berspora dan bersifat anaerob fakultatif. Pada media Mc Conkey Agar koloni *E.coli* berwarna pink karena

pengaruh ekstrak daun cocor bebek (*bryophyllum pinnatum*) terhadap pertumbuhan *escherichia coli* wild-type dan atcc 35218 (nurul fadiyah)

memfermentasi laktosa berbentuk bulat, cembung, halus, disertai dengan tepi yang berbatas tegas (Jawetz *et al.*, 2013).



Gambar 1 (A). Morfologi koloni media Mc Conkey Agar *E.coli* ATCC 35218 (B) Morfologi sel pewarnaan gram *E.coli* ATCC 35218



Gambar 2 (A). Morfologi koloni media Mc Conkey Agar *E.coli* wild-type (B) Morfologi sel pewarnaan gram *E.coli* wild-type

Berdasarkan hasil pengamatan pada cawan petri setelah diinkubasi di dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 18-24 jam didapatkan bahwa zona inhibisi dapat terlihat pada kontrol positif pada *Escherichia coli* ATCC 35218. Namun, tidak terlihat zona inhibisi pada ekstrak daun Cocor Bebek konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan aquades sebagai kontrol negatif. Berdasarkan hasil pengamatan pada tabel 4.3 ditemukan tidak adanya zona inhibisi di seluruh konsentrasi pada *Escherichia coli* wild-type yang mana sampel untuk *Escherichia coli* wild-type menggunakan swab anal bayi di daerah Purwokerto.

Dalam penelitian ini, hasil yang didapatkan tidak sesuai hipotesis karena ekstrak daun Cocor Bebek tidak memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* ATCC 35218 dan *Escherichia coli* wild-type. Berdasarkan standar CLSI (2021), *Escherichia coli* ATCC 35218 masih sensitif terhadap antibiotik Amoxicillin-clavulanat dan hal tersebut terbukti dalam penelitian ini. Sedangkan, *Escherichia coli* wild-type, antibiotik Amoxicillin-clavulanat didapatkan hasil resisten sehingga dapat

disimpulkan bahwa isolat *Escherichia coli wild-type* memiliki tingkat resistensi yang lebih tinggi dibandingkan dengan *Escherichia coli* ATCC 35218. Peneliti juga mencoba menguji pola sensitivitas antibiotik meropenem pada *Escherichia coli wild-type* dan memiliki hasil yang sensitif. Mekanisme resisten oleh bakteri ESBL terhadap enzim beta-laktam seperti inaktivasi enzim beta-laktam oleh enzim beta-laktamase, produksi *Penicillin Binding Protein* (PBP) dengan afinitas yang lebih rendah terhadap senyawa aktif yang bersifat antibakteri, perubahan pada kanal porin yang dapat menyebabkan penurunan permeabilitas terhadap senyawa aktif yang bersifat antibakteri dan pompa *efflux* yang akan mendorong senyawa aktif yang bersifat antibakteri lepas dari sel bakteri (Wiyogo *et al.*, 2021). Pengendalian resisten antimikroba dapat berpacu pada Permenkes No. 8 tahun 2015 seperti mengendalikan berkembangnya mikroba resisten akibat tekanan seleksi oleh antibiotik, melalui penggunaan antibiotik secara bijak dan mencegah penyebaran mikroba resisten melalui peningkatan ketaatan terhadap prinsip pencegahan dan pengendalian infeksi.

Berdasarkan klasifikasi enzim betalaktamase, *Escherichia coli wild-type* dalam penelitian ini termasuk dalam grup 1 *cephalosporinases* (*Bush-Jacoby-Medeiros (integron) system*) yang memiliki aktivitas *enzyme chromosomal AmpC* resistance. Di Indonesia, berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan di 5 rumah sakit pada tahun 2013, menunjukkan bahwa prevalensi bakteri yang menghasilkan ESBL sebanyak 32-68% (Kuntaman K *et al.*, 2013). Prevalensi yang cukup tinggi ini tidak sebanding dengan penelitian tentang bahan alam yang diujikan terhadap bakteri resisten karena jumlah penelitian yang telah dilakukan masih sedikit. Sebagian besar penelitian yang dilakukan menggunakan bakteri yang masih sensitif. Pada penelitian yang dilakukan Krisniawati dan Widhi (2021) menyebutkan bahwa 66,7% masyarakat dalam komunitas sehat Purwokerto merupakan *asymptomatic carriers* dari *ESBL producing Enterobacteriaceae* (EPE).

KESIMPULAN

Ekstrak daun Cocor Bebek (*Bryophyllum pinnatum*) tidak memiliki potensi menghambat pertumbuhan *Escherichia coli wild-type* dan ATCC 35218.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang berperan dalam penyusunan artikel ilmiah ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Cho, S., Hiott, L. M., Barrett, J. B., McMillan, E. A., House, S. L., *et al.*, 2018. Prevalence and characterization of *Escherichia coli* isolated from the Upper Oconee Watershed in Northeast Georgia. *PLOS ONE*. 13 (5): e0197005.
- CLSI. 2021. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. 31 ed. *CLSI Supplement M100*. USA : Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Hasanah, A. N., Putri, V. 2017. Review: Profiling Senyawa Kuersetin dari Tanaman Cocor Bebek (*Kalanchoe pinnata*) dengan Menggunakan Berbagai Metode Analisis. *JFarmaka*. 15(1) :134–14.
- Jawetz, E., Melnick, J. L., Adelberg, E. A., Brooks, G. F. 2013. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi ke-25. Jakarta: EGC.

-
- Krisniawati, N., Widhi, A. P. K. N. 2021. Prevalance and Risk Factors of ESBL-producing Enterobacteriaceae in The Community. *Journal of Biomedicine and Translational Research*. 7(1) : 1-6.
- Kuntaman, K *et al.* 2013. The Surveillance of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* producing ESBL in Indonesia.
- Latief, A., Ashiq, K., Qayyum, M., Ashiq, S., Ali, E., & Anwer, I. 2019. Phytochemical And Pharmacological Profile Of The Medicinal Herb: *Bryophyllum pinnatum*. *The Journal of Animal & Plant Sciences*. 29(6) : 1528-1534.
- Li, D., Li, P., Yu, X., Zhang, X., Guo, Q., Xu, X., Wang, M., Wang, M. 2021 Molecular Characteristics of *Escherichia coli* Causing Bloodstream Infections During 2010–2015 in a Tertiary Hospital, Shanghai, China. *Infect Drug Resist.* 14:2079-2086.
- Maulidiah., Winandari, O. P., Saputri, D. A. 2020. Pemanfaatan Organ Tumbuhan Sebagai Obat Yang Diolah Secara Tradisional Di Kecamatan Kebun Tebu Kabupaten Lampung Bara. *Jurnal Ilmu Kedokteran Dan Kesehatan*. 7(2) : 443-447.
- Ngatin, A., Saputra, T.R. 2019. Ekstraksi Daun Cocor Bebek Menggunakan Berbagai Pelarut Organik Sebagai Inhibitor Korosi Pada Lingkungan Asam Klorida. *Journal of Chemistry*. 4 (1) : 21-27.
- Purwatiningsih, E dan Lestari, D. 2020. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Cocor Bebek (*Kalanchoe pinnata* (Lam)) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Salmonella typhi* Dengan Metode Kirby Bauer. *Jurnal Ilmiah Kesehatan*. 12(2) : 142-148.
- Pinilih, S., Hidayat. 2014. Uji Sensitivitas Ekstrak Daun Cocor Bebek (*Kalanchoe pinnata*) Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*. 1 (1).
- Tagousop, C. N., Tamokou, Jd. D., Ekom, S. E., Ngnokam, D., Nazabadioko, L.V. 2018. Antimicrobial Activities of Flavonoid Glycosides from *Graptophyllum grandulosum* and Their Mechanism of Antibacterial Action. *BMC Complement Altern Med*. 18(252) : 1-10.
- Wiyogo, I. O., Endraswari, P. D., Setiawati, Y. 2021. Antibacterial Activity of Ethanol Extract of Kemuning (*Murraya paniculate*) Against *Klebsiella pneumoniae* ESBL by In Vitro Test. *Indonesian Journal of Tropical and Infectious Disease*. 9(2) : 102-107.