

Potensi Antibakteri Daun Nanas Kerang terhadap *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae*

Antibacterial Potential of Nanas Kerang Leaves against Escherichia coli dan Shigella dysenteriae

Tiana Milanda,^{1*} Moelyono Muktiwardojo¹, Firda Aryanti Widyana¹

¹Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran, Jawa Barat, Indonesia

A B S T R A K

Nanas kerang (*Tradescantia spathacea* Swartz) merupakan tanaman yang digunakan sebagai obat tradisional di berbagai negara dan telah diketahui memiliki berbagai aktivitas farmakologi, termasuk antibakteri. Untuk mengetahui aktivitasnya terhadap *Shigella dysenteriae* dan *Escherichia coli*, maka dilakukan pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun nanas kerang dan berbagai fraksinya terhadap kedua bakteri tersebut serta penentuan golongan senyawa yang terkandung di dalamnya. Penelitian dilakukan melalui ekstraksi simplisia, fraksinasi ekstrak, pengujian aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi, penetapan nilai KHTM dan KBM dan penentuan golongan senyawa dalam fraksi teraktif. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak etanol daun nanas kerang memiliki aktivitas terhadap *S. dysenteriae* dan *E. coli* isolat klinik sampai konsentrasi 200 mg/mL, dengan aktivitas terbesar terhadap *E. coli* isolat klinik. Fraksi air, etil asetat asam dan n-heksan dari ekstrak ini juga memiliki aktivitas terhadap *S. dysenteriae* dan *E. coli* isolat klinik sampai konsentrasi 300 mg/mL. Pada konsentrasi yang sama, fraksi etil asetat basa hanya memiliki aktivitas terhadap *E. coli* isolat klinik. Fraksi etil asetat sebagai fraksi teraktif memiliki KBM 37,5 dan 11,8 mg/mL berturut-turut terhadap *S. dysenteriae* dan *E. coli* isolat klinik. Pada fraksi etil asetat asam terdeteksi senyawa flavonoid dan kuinon, yang diduga merupakan senyawa antibakteri dalam fraksi tersebut.

A B S T R A C T

Nanas kerang is a plant commonly used as traditional medicine in various countries and has been known to have various pharmacological activities, including antibacterial properties. To determine the activity against Shigella dysenteriae and Escherichia coli, the antibacterial activity of ethanol extract of nanas kerang leaves and its various fractions against these bacteria and the determination of the class of compounds contained them were carried out. The research was carried out by simplicia extraction, extract fractionation, antibacterial activity testing of these extracts and fractions, determining of the MIC and MBC values, and determining group of compounds in the most active fraction. The results showed that the ethanol extract of nanas kerang leaves shown activity against clinical isolates of S. dysenteriae and E. coli up to 200 mg/mL, with the greatest activity against clinical isolates of E. coli. The water, ethyl acetic acid and n-hexane fractions of this extract also shown activity against clinical isolates of S. dysenteriae and E. coli up to 300 mg/mL. At the same concentration, the basic ethyl acetate fraction only shown activity against clinical isolates of E. coli. The ethyl acetate fraction as the most active fraction shown MBC as 37.5 and 11.8 mg/mL against clinical isolates of S. dysenteriae and E. coli, respectively. Flavonoids and quinones were detected in the ethyl acetic acid fraction, which were expected to be antibacterial compounds in this fraction.

Kata kunci/keyword : Diare, Flavonoid, Kuinon, Shigellosis, Tradescantia spathacea, Diarrhea, Flavonoids, Quinones.

INFO ARTIKEL

Received: 10 Jun 2021;
Revised: 12 Jul 2021;
Accepted: 20 Aug 2021

* corresponding author: tiana.milanda@unpad.ac.id
DOI: <https://doi.org/10.22437/jisic.v13i2.14504>

PENDAHULUAN

Nanas kerang (*Tradescantia spathacea* Swartz) atau *Rhoeo discolor* atau *Rhoeo spathacea* merupakan tanaman yang berasal dari Teluk Meksiko, daerah Karibia dan pesisir Amerika Tengah (Tan *et al.*, 2015; Garcia-Varela *et al.*, 2015; Shinde *et al.*, 2021). Di beberapa negara Barat, daun, bunga dan batang tanaman ini digunakan sebagai teh (Pulipaka, 2020). Infus, rebusan, atau rendaman daun nanas kerang digunakan secara tradisional untuk mengobati demam, batuk, asma, bronkhitis, tuberkulosis, bahkan kanker (Yasurin & Piya-Isarakul, 2015). Gerusan daunnya dapat ditempelkan langsung ke kulit untuk mengobati luka, bisul, radang, rinitis alergi, psoriasis dan mikosis superfisial (Luciano-Montalvo *et al.*, 2013; Gutierrez *et al.*, 2014, Garcia-Varela *et al.*, 2015).

Berbagai penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak daun nanas kerang memiliki aktivitas antiinflamasi, antifertilitas dan sebagai insektisida (Yasurin & Piya-Isarakul, 2015; Shinde *et al.*, 2021). Penelitian lainnya menunjukkan daun tanaman ini memiliki aktivitas antitumor, kemoprevensi dan antimalignansi (Rosales-Reyes *et al.*, 2008), kemampuan mengikat oksigen reaktif dan antimutagenik (Gonzalez-Avila *et al.*, 2003), kemampuan menstimulasi respon proliferasi limfosit (Pulipaka *et al.*, 2007), antimikroba (Garcia-Varela *et al.*, 2015; Aswani *et al.*, 2015), antioksidan (Tan *et al.*, 2015), antivirus (Chan *et al.*, 2016) dan antituberkulosis (Radji *et al.*, 2015).

Daun nanas kerang diketahui mengandung berbagai senyawa fenolik, tanin dan flavonoid (Tan *et al.*, 2015). Garcia-Varela *et al.*, (2015) membuktikan bahwa daun tanaman ini mengandung senyawa flavonoid, saponin, karotenoid, antosianin, terpenoid, asam ferulat, asam klorogenat, asam vanilat, asam p-kumarat dan steroid. Kebanyakan senyawa tersebut diketahui memiliki berbagai aktivitas farmakologi, khususnya sebagai senyawa antimikroba (Mujeeb *et al.*, 2014).

Yasurin & Piya-Isarakul (2015) menunjukkan bahwa ekstrak etanol dan kloroform daun nanas kerang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* ATCC25822, *Salmonella enterica*, *Bacillus cereus* dan *Listeria monocytogenes*. Shinde *et al.* (2015) menunjukkan adanya aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan ekstrak air daun tanaman ini terhadap *S. aureus* dan *E. coli*. Garcia-Varela *et al.* (2015) membuktikan adanya aktivitas antibakteri berbagai ekstrak daun nanas kerang terhadap bakteri Gram-negatif (*E. coli* dan *P. aeruginosa*), bakteri Gram positif (*Listeria innocua* dan *Streptococcus mutans*) serta jamur (*Candida albicans*). Dekok dan infus daun juga diketahui memiliki aktivitas terhadap berbagai bakteri, termasuk *Methicillin Resistance S. aureus* dan *Neisseria gonorrhoeae* (Tan *et al.*, 2015).

Sampai saat ini, belum ada informasi aktivitas antibakteri daun nanas kerang terhadap *Shigella dysenteriae*, yaitu bakteri Gram negatif penyebab disentri basiler atau shigellosis. Penyakit ini ditularkan melalui rute feses-oral melalui air dan makanan. Patogenesis *S. dysenteriae* disebabkan kemampuannya menghasilkan toksin dan protease ekstraseluler. Protease ini bertanggung jawab terhadap penguraian lapisan glikokogen pada usus inang, penyerangan antibodi dan zimogen inang, memfasilitasi penempelan, integrasi, invasi dan kolonisasi bakteri pada sel inang. Antidiare seperti loperamid, difenoksilat dan beberapa antibiotik dengan mekanisme serupa sudah tidak mampu mengatasi shigellosis. Resistensi bakteri ini hanya dapat diatasi antibiotik dengan mekanisme yang berbeda (Segun *et al.*, 2015).

Beberapa jenis *E. coli* juga menyebabkan diare yang ditularkan melalui air atau makanan terkontaminasi atau melalui kontak dengan hewan dan manusia (Yasurin & Piya-Isarakul, 2015). Untuk mengetahuinya perlu dilakukan pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun nanas kerang dan berbagai fraksinya terhadap *S. dysenteriae* dan *E. coli*, menentukan fraksi antibakteri teraktif, menetapkan nilai Konsentrasi Hambat Tumbuh Minimum

(KHTM) serta Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) fraksi teraktif serta mengetahui golongan senyawa yang terkandung di dalamnya.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Tanaman nanas kerang diperoleh dari Perkebunan Manoko, Lembang, Jawa Barat. Bakteri uji yang digunakan adalah *S. dysenteriae* isolat klinis dari Laboratorium Mikrobiologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran, Sumedang, Jawa Barat, sedangkan *E. coli* isolat klinis diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Achmad Yani, Cimahi, Jawa Barat. Medium pertumbuhan yang digunakan adalah *Mueller-Hinton Agar/MHA* (Oxoid) dan *Mueller-Hinton Broth/MHB* (Oxoid).

Bahan lain yang digunakan adalah etanol 70% (Agung Menara Abadi), n-butanol (Agung Menara Abadi), n-heksan (Bratachem), etil asetat (Bratachem), kloroform (Quadrant), eter (Merck), toluen (Bratachem), asam klorida (Bratachem), asam sulfat (Bratachem), asam asetat (Merck), natrium hidroksida (Merck), natrium klorida (Merck), amonia (Merck), pereaksi Mayer (Bratachem), pereaksi Dragendorf (Bratachem), pereaksi Liebermann-Burchard (Bratachem), amil alkohol (Merck), pelat silika gel GF 254 (Merck), dimetil sulfoksida/DMSO (Merck), serbuk magnesium (Agung Menara Abadi), besi (III) klorida (Merck), gelatin (Medilabs), vanilin (Bratachem), larutan standar McFarland 0,5 dan air suling.

Alat

Alat-alat yang digunakan adalah maserator, *rotary evaporator* (Buchi Rotavapor R-300, Swiss), neraca analitik (Mettler Toledo AL204, Swiss), penangas air (Mommert, Jerman), destilator toluen (Barstead, USA), otoklaf (Hirayama, Jepang), oven (Mommert 400-800, Jerman), inkubator (Sakura IF-4, Jepang), *vacuum freeze dryer* (Scientz-12N, Jerman), corong pisah, bejana kromatografi, lampu UV 254

nm dan 366 nm (Camag, Inggris), lemari es, mikropipet volume 10-100 μL (Biohit Proline, Finlandia), mikropipet volume 100-1000 μL (Socorex Acura 825, Swiss), tip mikropipet kuning dan biru, *vortex* (Health H-VM-300, Afrika Selatan), 96 *wells-microplates* (Iwaki, Jepang), perforator, jangka sorong dan alat-alat yang umum digunakan di Laboratorium Mikrobiologi Farmasi dan Laboratorium Farmasi Bahan Alam.

Metode

Determinasi Tanaman dan Penyiapan Simplisia

Tanaman nanas kerang dideterminasi di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjadjaran, Sumedang, Jawa Barat. Daun nanas kerang segar dikumpulkan, dicuci, dipotong-potong kecil dan dikeringkan, sehingga diperoleh simplisia daun nanas kerang (Yasurin & Piya-Isarakul, 2015; Garcia-Varela *et al.*, 2015).

Ekstraksi Simplisia

Simplisia daun nanas kerang diekstraksi melalui metode maserasi menggunakan berbagai pelarut dengan polaritas yang berbeda (Yasurin & Piya-Isarakul, 2015; Shinde *et al.*, 2015; Garcia-Varela *et al.*, 2015). Sebanyak 500 g simplisia dimasukkan ke dalam maserator, lalu direndam dalam 1,9 L etanol 70% selama 24 jam pada suhu kamar. Pelarut dalam jumlah yang sama diganti setiap 24 jam sebanyak tiga kali (3 x 24 jam). Ekstrak dikumpulkan, lalu pelarutnya diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C. Ekstrak dipekatkan di atas penangas air pada suhu 60°C. Ekstrak kental diamati secara organoleptik meliputi bentuk, warna, bau dan rasa, lalu ditentukan rendemennya.

Kadar air ekstrak ditetapkan dengan cara destilasi toluen (Milanda *et al.*, 2021). Sebanyak 2 g ekstrak dimasukkan ke dalam labu, lalu dihubungkan dengan alat destilasi. Sebanyak 200 mL toluen dituangkan ke dalam labu melalui alat pendingin, lalu dipanaskan selama 15 menit. Setelah toluen

mendidih, penyulingan dilakukan dengan kecepatan 2 tetes per detik, sehingga sebagian air tersuling. Kecepatan penyulingan dinaikkan sampai 4 tetes per detik. Setelah semua air tersuling, tabung penerima dидiamkan sampai suhu kamar. Setelah air dan toluen terpisah sempurna, volume air dibaca dan kadar air ekstrak dihitung.

Penyiapan Suspensi Bakteri Uji

S. dysenteriae dan *E. coli* isolat klinis ditumbuhkan dalam 5 mL agar miring MHA, lalu diinkubasi dalam inkubator bersuhu 37°C selama 18-24 jam. Biakan bakteri disuspensikan dalam 2 mL larutan natrium klorida 0,9% b/v dalam tabung reaksi. Kekeruhan suspensi bakteri disesuaikan dengan larutan standar McFarland 0,5, yang setara dengan $1,5 \times 10^8$ CFU/mL (Yasurin & Piya-Isarakul, 2015; Garcia-Varela *et al.*, 2015; Shinde *et al.*, 2015).

Pengujian Aktivitas Antibakteri Ekstrak

Ekstrak etanol daun nanas kerang ditentukan aktivitasnya terhadap kedua bakteri uji menggunakan metode difusi agar dengan teknik perforasi (Tannu *et al.*, 2011). Sebanyak 1 g ekstrak dilarutkan dalam 2 mL DMSO 2% v/v untuk mendapatkan larutan stok 500 mg/mL. Larutan tersebut diencerkan secara bertingkat, sehingga diperoleh variasi konsentrasi ekstrak sebesar 500, 400, 300 dan 200 mg/mL.

Sebanyak 20 μ L masing-masing suspensi bakteri uji dimasukkan ke cawan petri, lalu ditambahkan 20 mL MHA yang masih cair. Setelah dikocok perlahan sampai homogen, campuran medium dibiarkan memadat pada suhu kamar. Medium dilubangi menggunakan perforator berdiameter 9 mm. Sebanyak 50 μ L masing-masing larutan ekstrak dimasukkan ke dalam lubang. Sebagai kontrol negatif disiapkan cawan petri berisi MHA, sedangkan untuk kontrol positif disiapkan cawan petri berisi MHA yang diinokulasi bakteri uji. Semua cawan diinkubasi dalam inkubator bersuhu 37°C selama 18–24 jam. Aktivitas antibakteri ekstrak ditunjukkan oleh daerah hambat di

sekitar lubang, yang diukur menggunakan jangka sorong.

Fraksinasi Ekstrak

Fraksinasi ekstrak daun nanas kerang yang dilakukan dengan metode ekstraksi cair-cair (Milanda *et al.*, 2021). Sebanyak 15 g ekstrak dilarutkan dalam air suling dan etanol 70% hingga larut sempurna, kemudian ditambah air suling hingga 200 mL. Larutan ekstrak dimasukkan ke dalam corong pisah, lalu ditambah 200 mL n-heksan. Campuran dikocok beberapa lama, lalu dibiarkan hingga kedua fasa memisah. Fasa n-heksan dipisahkan dan ditampung. Proses ini diulangi hingga diperoleh fasa n-heksan yang tidak berwarna. Fraksinasi dilanjutkan dengan penambahan etil asetat dalam jumlah yang sama ke fasa air. Campuran ini dibagi menjadi 2 bagian. Bagian pertama ditambahkan asam klorida sampai pH 4,0, dikocok dan dibiarkan sampai kedua fasa memisah. Fasa etil asetat asam dipisahkan dan ditampung. Pada bagian kedua, fasa air ditambahkan etil asetat dan natrium hidroksida hingga pH 8,0, lalu dilakukan pemisahan fasa etil asetat basa.

Pelarut berberbagai fraksi diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C. Fraksi dipekatkan di atas penangas air pada suhu 60°C, kecuali fraksi air dipekatkan menggunakan *vacuum freeze dryer*. Seluruh fraksi diamati secara organoleptik meliputi bentuk, warna, bau dan rasa. Masing-masing fraksi ditimbang, lalu dihitung rendemennya.

Pengujian Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak dan berbagai fraksi daun nanas kerang dilakukan menggunakan metode yang sama dengan pengujian aktivitas antibakteri ekstrak (Tannu *et al.*, 2011). Ekstrak dan berbagai fraksinya masing-masing dilarutkan dalam DMSO 2 % v/v, sehingga diperoleh konsentrasi yang sama, yaitu 300 mg/mL. Aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi ditunjukkan oleh daerah hambat di sekitar lubang. Diameter hambat diukur, lalu dibandingkan untuk menentukan fraksi teraktif.

Penetapan Nilai KHTM dan KBM Fraksi Teraktif

Penetapan nilai KHTM dan KBM fraksi teraktif terhadap *S. dysenteriae* dan *E. coli* isolat klinis dilakukan menggunakan metode mikrodilusi (Milanda *et al.*, 2021). Larutan stok ekstrak disiapkan pada konsentrasi 600 mg/mL dalam DMSO 2% v/v. Suspensi bakteri uji diencerkan 20 kali dengan penambahan larutan natrium klorida 0,9% b/v, sehingga diperoleh inokulum yang setara dengan 5×10^6 CFU/mL. Larutan kontrol negatif terdiri dari 20 mL MHB, sedang larutan kontrol positif berupa 20 mL MHB yang diinokulasi 20 μ L masing-masing suspensi bakteri uji.

Kolom ke-1 diisi 100 μ L kontrol negatif, kolom ke-2 diisi 100 μ L kontrol positif, sedang kolom ke-3 dan ke-4 diisi 100 μ L larutan stok fraksi teraktif. Kolom ke-4 hingga kolom ke-12 diisi masing-masing oleh 100 μ L MHB. Proses pengenceran dilakukan dengan cara memipet 100 μ L larutan dari kolom ke-4 ke kolom ke-5. Proses ini dilakukan secara berulang sampai kolom ke-12, lalu 100 μ L hasil pengenceran terakhir dibuang. Dengan cara ini, maka larutan pada kolom ke-4 merupakan konsentrasi fraksi teraktif tertinggi (300 mg/mL) dan pada kolom ke-12 merupakan konsentrasi fraksi teraktif terendah (1,2 mg/mL). Sebanyak 10 μ L bakteri uji masing-masing dimasukkan ke dalam lubang. Mikroplat ditutup plastik selofan, lalu diinkubasi dalam inkubator bersuhu suhu 37°C selama 18-24 jam. KHTM ditentukan dari konsentrasi fraksi terkecil yang tidak menunjukkan pertumbuhan bakteri uji (larutan tampak bening dan tidak ada endapan).

Penetapan KBM dilakukan dengan cara menggoreskan larutan dari yang terlihat bening ke 5 mL MHA dalam cawan petri kecil. Cawan-cawan tersebut diinkubasi dalam inkubator bersuhu 37°C selama 18-24 jam. KBM ditentukan dari cawan petri dengan konsentrasi fraksi terkecil yang tidak menunjukkan pertumbuhan bakteri uji (tidak ada pertumbuhan koloni bakteri) (Yasurin & Piya-Isarakul (2015),

Penapisan Fitokimia Simplisia, Ekstrak dan Fraksi Teraktif

Penapisan fitokimia simplisia, ekstrak dan fraksi teraktif daun nanas kerang dilakukan dengan dengan metode Farnsworth (Milanda *et al.*, 2021). Penapisan fitokimia dilakukan terhadap senyawa alkaloid, flavonoid, polifenol, tanin, monoterpenoid, seskuiterpenoid, steroid, triterpenoid, kuinon dan saponin.

Penentuan Profil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Ekstrak dan Fraksi Teraktif

Penentuan profil KLT ekstrak dan fraksi teraktif dilakukan untuk menemukan keberadaan sejumlah senyawa. Fase diam berupa pelat silika gel GF 254 dan fase gerak berupa kombinasi n-butanol : asam asetat : air (4:1:5). Ekstrak dan fraksi teraktif diaplikasikan pada pelat KLT menggunakan pipa kapiler, lalu ditempatkan pada bejana kromatografi yang telah dijenuhkan fase gerak. Pola kromatogram diamati di bawah pada sinar tampak, lampu UV 254 dan 366 nm. Setiap bercak yang teramati dihitung nilai Rf-nya (Shinde *et al.*, 2021).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Determinasi Tanaman dan Penyiapan Simplisia

Hasil determinasi menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah nanas kerang (*Tradescantia spathacea*) dari divisi Tracheopyta, kelas Magnoliopsida, ordo Commelinales, keluarga Commelinaceae dan genus *Tradescantia*, sesuai penelitian Pulipaka *et al.* 2020. Proses penyiapan simplisia menghasilkan simplisia kering berwarna coklat kehitaman, berasa pahit dan berbau khas.

Hasil Ekstraksi Simplisia

Proses ekstraksi simplisia menghasilkan ekstrak kental, berwarna coklat kemerahan, berasa pahit, berbau khas. Dari 500 g simplisia diperoleh ekstrak kental sebanyak 53,48 g, dengan rendemen sebesar

10,69% (b/b). Dari penentuan kadar air, diketahui kadar air ekstrak sebesar 9,8 % (b/v). Hasil ini berbeda dengan penelitian Shinde *et al.* (2015) yang menyebutkan kadar air ekstrak etanol daun nanas kerang sebesar 3,51% b/b, namun masih memenuhi persyaratan kadar air, yaitu tidak lebih dari 10% (Depkes, 2000).

Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri Ekstrak

Hasil pengujian aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun nanas kerang menunjukkan aktivitas terhadap kedua bakteri uji sampai konsentrasi 200 mg/mL. Aktivitas antibakteri terbesar ditunjukkan ekstrak tersebut terhadap *E.coli* isolat klinis.

Tabel 1. Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun nanas kerang terhadap *S. dysenteriae* dan *E. coli* isolat klinis.

Konsentrasi ekstrak (mg/m)	Rata-rata diameter hambat (mm)	
	<i>S. dysenteriae</i> isolat klinis	<i>E. coli</i> isolat klinis
200	12,4	13,0
300	14,7	16,9
400	15,8	18,2
500	16,8	19,6

Keterangan: diameter lubang = 9 mm

Hasil Fraksinasi Ekstrak

Proses fraksinasi ekstrak menghasilkan empat fraksi, yaitu fraksi air sebanyak 10 g dengan rendemen 66,7 % (b/b), fraksi etil asetat basa sebanyak 0,104 g dengan rendemen 0,69% (b/b), fraksi etil asetat asam sebanyak 0,418 g dengan rendemen 2,7 % (b/b) dan fraksi n-heksan sebanyak 2,01 g dengan rendemen 13,4 % (b/b).

Fraksi air berbentuk serbuk, berwarna coklat, berbau khas, dan berasa pahit, sedangkan fraksi etil asetat asam berupa cairan kental, berwarna coklat, berbau khas, dan berasa pahit. Fraksi etil asetat basa berupa cairan kental, berwarna coklat, berbau khas dan berasa pahit, sedangkan fraksi n-heksan berupa cairan kental, berwarna hijau kehitaman, berbau khas dan berasa pahit.

Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi

Hasil pengujian aktivitas ekstrak dan berbagai fraksi menunjukkan bahwa fraksi air, etil asetat asam, dan n-heksan dari ekstrak etanol daun nanas kerang memiliki aktivitas

terhadap *S. dysenteriae* dan *E. coli* isolat klinik sampai konsentrasi 300 mg/mL. Fraksi etil asetat basa pada konsentrasi yang sama hanya mempunyai aktivitas terhadap *E. coli* isolat klinis. Fraksi etil asetat asam, sebagai fraksi teraktif, memiliki diameter hambat terhadap *S. dysenteriae* yang lebih besar dibanding ekstraknya.

Adanya informasi mengenai aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun nanas kerang dan berbagai fraksinya terhadap *S. dysenteriae* isolat klinis merupakan informasi baru, sedangkan hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak tersebut terhadap *E. coli* isolat klinis sesuai dengan penelitian sebelumnya. Yasurin & Piya-Isarakul (2015) menunjukkan adanya aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan kloroform daun nanas kerang terhadap *E. coli* ATCC25822. Shinde *et al.* (2015) menunjukkan adanya aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan ekstrak air daun nanas kerang terhadap *E. coli*. Garcia-Varela *et al.* (2015) juga menunjukkan adanya aktivitas antibakteri 10 ekstrak daun nanas kerang, terutama ekstrak polar, terhadap *E. coli*.

Tabel 2. Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan fraksi daun nanas kerang terhadap *S. dysenteriae* dan *E. coli* isolat klinis.

Sampel	Konsentrasi (mg/mL)	Rata-rata diameter hambat (mm)	
		<i>S. dysenteriae</i> isolat klinis	<i>E. coli</i> isolat klinis
Ekstrak etanol	300	11,3	13,9
Fraksi etil asetat asam	300	19,1	23,8
Fraksi etil asetat basa	300	-	17,4
Fraksi n-heksan	300	11,9	17,1
Fraksi air	300	10,7	15,3

Keterangan: diameter lubang = 9 mm

Hasil Penetapan Nilai KHTM dan KBM Fraksi Teraktif

Nilai KHTM fraksi etil asetat asam sulit ditentukan dengan metode mikrodilusi, karena adanya endapan fraksi yang menghalangi pengamatan pertumbuhan

bakteri. Pertumbuhan bakteri hanya dapat diamati dengan menggoreskan larutan ke MHA dalam cawan petri, sekaligus menentukan nilai KBMnya. KBM fraksi etil asetat asam terhadap *S. dysenteriae* dan *E. coli* isolat klinis masing-masing sebesar 37,5 dan 11,8 mg/mL.

Tabel 3. Hasil Penentuan KBM Fraksi Etil Asetat Asam Daun Nanas Kerang terhadap *S. dysenteriae* dan *E. coli* isolat klinis

Konsentrasi fraksi (mg/mL))	Pertumbuhan <i>S. dysenteriae</i> isolat klinis	Pertumbuhan <i>E. coli</i> isolat klinis
300,0	-	-
150,0	-	-
75,0	-	-
37,5	-	-
18,8	+	-
9,4	+	+
4,7	+	+
2,3	+	+
1,2	+	+

Keterangan : - = tidak terdapat pertumbuhan bakteri
+ = terdapat pertumbuhan bakteri

Hasil Penapisan Fitokimia Simplisia, Ekstrak dan Fraksi Teraktif

Hasil penapisan fitokimia menunjukkan bahwa simplisia daun nanas kerang mengandung senyawa flavonoid, kuinon, monoterpenoid, seskuiterpenoid, steroid dan saponin. Hasil ini agak berbeda dengan hasil penelitian Tan *et al.* (2015) yang menyebutkan daun nanas kerang mengandung berbagai senyawa fenolik, tanin dan flavonoid. Pulipaka *et al.* (2020) menyatakan daun nanas kerang mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, senyawa fenolik, glikosida, terpenoid, antosianin, karotenoid, lilin, kumarin dan steroid.

Garcia-Varela *et al.* (2015) menyebutkan daun tanaman ini mengandung berbagai senyawa flavonoid, saponin, karotenoid, antosianin, terpenoid, asam ferulat, asam klorogenat, asam vanilat, asam p-kumarat dan steroid. Kebanyakan senyawa tersebut dilaporkan mempunyai berbagai aktivitas farmakologi (Garcia-Varela *et al.*, 2015), khususnya sebagai senyawa antimikroba (Cisowska *et al.*, 2011, Mueller *et al.*, 2011, Mujeeb *et al.*, 2014; Kozyra *et al.*, 2015).

Pada ekstrak etanol daun nanas kerang terdeteksi adanya senyawa flavonoid, kuinon, monoterpenoid, eskuiterpenoid, dan steroid. Pada fraksi etil asetat asam dari daun

nanas kerang terdapat senyawa flavonoid dan kuinon. Dari hasil tersebut dapat diketahui bahwa senyawa aktif antibakteri dari fraksi etil asetat asam daun nanas kerang diduga merupakan senyawa flavonoid dan kuinon.

Menurut Garcia-Varela *et al.* (2015), kebanyakan senyawa flavonoid memiliki aktivitas antibakteri. Senyawa ini diproduksi oleh tumbuhan sebagai respon menghadapi infeksi mikroba. Senyawa flavonoid mampu berikatan dengan protein ekstraseluler dan protein terlarut serta membentuk kompleks dengan dinding sel bakteri, yang diikuti keluarnya senyawa intraseluler. Semakin lipofilik suatu senyawa flavonoid, maka semakin tinggi kemampuan senyawa tersebut untuk mengganggu stabilitas membran sel bakteri. Senyawa flavonoid juga berperan dalam inhibisi sintesis DNA-RNA, dengan cara terinterkalasi atau membentuk ikatan hidrogen antar basa pada asam nukleat. Senyawa ini juga mengganggu metabolisme energi, dengan menghambat sistem respirasi.

Kuinon adalah senyawa yang memiliki cincin aromatis dengan dua gugus keton tersubstitusi. Kuinon mampu membentuk kompleks *irreversibel* dengan nukleofilik asam amino pada protein, sehingga menyebabkan inaktivasi dan

hilangnya fungsi protein. Efek antimikroba kuinon terjadi melalui penyerangan *target surface-exposed adhesin*, polipeptida dinding sel dan *membrane-bound enzymes* (Garcia-Varela *et al.*, 2015).

Hasil Penentuan Profil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Ekstrak Etanol dan Fraksi Teraktif

Dari hasil penentuan profil KLT diketahui bahwa ekstrak etanol daun nanas kerang menghasilkan dua bercak yang teramati di bawah sinar tampak, sinar UV 254 nm dan 366 nm. Di bawah sinar UV 366 nm, bercak tersebut menunjukkan warna merah (Rf 0,75) dan biru muda (Rf 0,19). Fraksi etil asetat asam menghasilkan empat bercak, satu teramati di bawah sinar tampak, dua teramati di bawah sinar UV 254 nm dan empat teramati di bawah sinar UV 366 nm. Keempat bercak itu berwarna biru tua (Rf 0,7), biru muda (Rf 0,38), biru muda (Rf 0,31) dan coklat (Rf 0,25). Bercak-bercak ini diduga berasal dari senyawa golongan flavonoid dan kuinon. Hasil penelitian Shinde *et al.* (2015) menunjukkan adanya bercak coklat Rf 0,74 yang teramati di bawah sinar UV, yang diduga berasal dari senyawa flavonoid.

Tabel 4. Hasil Penentuan Profil KLT Ekstrak Etanol Daun Nanas Kerang

No. bercak	Rf	Sinar tampak	Sinar UV	
			254 nm	366 nm
1	0,74	Coklat	Coklat	Merah
2	0,19	Kuning	Coklat	Biru Muda

Keterangan : + = terdeteksi
- = tidak terdeteksi

Tabel 5. Hasil Penentuan Profil KLT Fraksi Etil Asetat Asam Daun Nanas Kerang

No. bercak	Rf	Sinar tampak	Sinar UV	
			254 nm	366 nm
1	0,74	-	Coklat	Biru Tua
2	0,38	-	-	Biru Muda
3	0,31	-	-	Biru Muda
4	0,25	Coklat	Coklat Kehitaman	Coklat

Keterangan : + = terdeteksi
- = tidak terdeteksi

KESIMPULAN

Ekstrak etanol daun nanas kerang menunjukkan aktivitas terhadap *S. dysenteriae* dan *E. coli* isolat klinik sampai konsentrasi 200 mg/mL, dengan aktivitas antibakteri terbesar terhadap *E. coli* isolat klinik. Fraksi air, etil asetat asam, dan n-heksan dari ekstrak etanol daun nanas kerang juga memiliki aktivitas terhadap *S. dysenteriae* dan *E. coli* isolat klinik sampai konsentrasi 300 mg/mL. Fraksi etil asetat basa pada konsentrasi yang sama hanya mempunyai aktivitas terhadap *E. coli* isolat klinik. Fraksi etil asetat asam, sebagai fraksi teraktif, memiliki diameter hambat terhadap *S. dysenteriae* yang lebih besar dibanding ekstraknya. KBM fraksi etil asetat asam

terhadap *S. dysenteriae* dan *E. coli* isolat klinik masing-masing sebesar 37,5 dan 11,8 mg/mL.

Simplisia daun nanas kerang mengandung senyawa flavonoid, kuinon, monoterpenoid, seskuiterpenoid, steroid dan saponin. Pada ekstrak etanol daun nanas kerang terdeteksi adanya senyawa flavonoid, kuinon, monoterpenoid, eskuiterpenoid, dan steroid, sedang pada fraksi etil asetat asam dari daun nanas kerang terdapat senyawa flavonoid dan kuinon. Hasil ini diperkuat dengan profil KLT yang menunjukkan bercak dari senyawa golongan flavonoid dan kuinon. Diduga senyawa aktif antibakteri dalam fraksi etil asetat asam daun nanas kerang merupakan senyawa golongan flavonoid dan kuinon.

DAFTAR PUSTAKA

- Aswani, K., and M. Sabu. 2015. Reproductive Biology of *Alpinia mutica* Roxb. (Zingiberaceae) with Special Reference to Flexistylly Pollination Mechanism. *The International Journal of Plant Reproductive Biology* 7(1):48-58.
- Chan, Y.K., K.S. Khoo and N.W. Sit. 2016. Investigation of Twenty Selected Medicinal Plants from Malaysia for Anti-Chikungunya Virus Activity, *International Microbiology* 19(3): 175-182.
- Cisowska, A., D. Wojnicz and A.B. Hendrich. 2011. Anthocyanins as Antimicrobial Agents of Natural Plant Origin. *Nat. Prod. Commun.* 6:149-156.
- Depkes. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Dirjen Pengawasan Obat dan Makanan. Jakarta: 3-38.
- García-Varela, R., R.M. García-García, B.A. Barba-Dávila, O.R. Fajardo-Ramírez, S.O. Serna-Saldívar and G.A. Cardineau. 2015. Antimicrobial Activity of *Rhoeo discolor* Phenolic Rich Extracts Determined by Flow Cytometry *Molecules* 20:18685-18703.
- González-Ávila, M., M. Arriaga-Alba, M. De la Garza, M.C. Hernández-Pretelín M.A. Domínguez-Ortíz, S. Fattel-Fazenda S, *et al.* 2003. Antigenotoxic, Antimutagenic and ROS Scavenging Activities of a *Rhoeo discolor* Ethanolic Crude Extract. *Toxicology In Vitro* 17:77-83.
- Gutierrez, L.G., R.R. Chilpa and H.B. Jaime. 2014. Medicinal Plants for The Treatment of "Nervios", Anxiety and Depression in Mexican Traditional Medicine. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 24(5):101-110.
- Kozyra, M., A. Biernasiuk, A. Malm and M. Chowaniec. 2015. Chemical Compositions and Antibacterial Activity of Extracts Obtained from The Inflorescences of *Cirsium canum* (L.) *all. Nat. Prod. Res* 29:2059-2063.
- Luciano-Montalvo, C., I. Boulogne and J. Gavillan-Suarez. 2013. A Screening for Antimicrobial Activities of Caribbean Herbal Remedies. *BMC Complementary and Alternative Medicine (ISCMR)* 13:126.

- Mueller, U., T. Sauer, I. Weigel, R. Pichner and M. Pischetsrieder. 2011. Identification of H₂O₂ as A Major Antimicrobial Component in Coffee. *Food Funct* 2:265–272.
- Mujeeb, F., P. Bajpai and N. Pathak. 2014. Phytochemical Evaluation, Antimicrobial Activity, and Determination of Bioactive Components from Leaves of *Aegle marmelos*. *Biomed. Res. Int* 2014:497606.
- Milanda, T., S. Mustikawati dan A.Y. Chaerunisaa. 2021. Antibacterial Activity of The Most Active Fraction of Trengguli Bark (*Cassia fistula* L.) against *Propionibacterium acnes* Clinical Isolate and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 in Ointment Preparation. *Journal of The Indonesian Society of Integrated Chemistry* 13(1):1-13.
- Pulipaka, S., A. Suttee, M.R. Kumar and P. Sriram. 2020. A Review on Phytopharmacological Activities of *Alpinia mutica* and *Tradescantia spathacea*. *Plant Archives* 20(2):9011-9018.
- Radji, M., M. Kurniati and A. Kiranasari. 2015. Comparative Antimycobacterial Activity of Some Indonesian Medicinal Plants against Multi-drug Resistant *Mycobacterium tuberculosis*. *Journal of Applied of Pharmaceutical Sciences* 5(1): 019-022.
- Rosales-Reyes, T., M. de la Garza, C. Arias-Castro, M. Rodríguez-Mendiola, S. Fattel-Fazenda, E. Arce-Popoca, et al. 2008. Aqueous Crude Extract of *Rhoeo discolor*, a Mexican Medicinal Plant, Decreases The Formation of Liver Preneoplastic Foci in Rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 115(3): 381–386.
- Segun, A.A., O.S. Folorunso and A.T. Aminat. 2015. Assessment of Antibacterial Activity of Essential Oil Extracted from Leaves of *Thaumatococcus danielli* (Benn.) Benth. In Light of Its Inhibitory Impact on Extracellular Protease of *Shigella dysenteriae*. *International Journal of Biochemistry Research & Review* 5(1): 9-19.
- Shinde, P.R., P.V. Gujrani, A.R. Gupta, P.G. Dhondge and S.J. Sangle. 2021. Exploration of Pharmacognostic, Phytochemical and Antibacterial Potential of *Rhoeo discolor* Hance. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 10(1):1625-1630.
- Tannu, G., A. Gupta, S. Kumar and K. Singh. 2011. Antimicrobial Activity of *Nerium oleander* Stem Extract. *International Journal of Pharmaceutical Professional Research* 2(1):210-211.
- Tan, J.B.L., Y.Y. Lim and S.M. Lee. 2015. Antioxidant and Antibacterial Activity of *Rhoeo spathacea* (Swartz) Stearn Leaves. *J Food Sci and Technol* 52(4):2394-2400.
- Yasurin P. and S. Piya-Isarakul. 2015. In Vitro Antibacterial Activity Screening of Herb Extracts against Foodborne Pathogenic Bacteria from Thailand. *Journal of Pure and Applied Microbiology* 9(3):2175-2184.