NASKAH PUBLIKASI

AKTIVITAS ANTIBAKTERI INFUSA BIJI BUAH LANGSAT (*Lansium domesticum* Cor.) TERHADAP *Streptococcus pneumoniae*

SUCI PURNAMASARI

I11109023

PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS TANJUNGPURA

2013

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI INFUSA BIJI BUAH LANGSAT (*Lansium domesticum* Cor.) TERHADAP *Streptococcus pneumoniae*

Suci Purnamasari[1]; Isnindar[2]; Ita Armyanti[3]

Intisari

Latar Belakang: Delapan puluh persen dari populasi di dunia bergantung pada obat yang didapat dari tumbuhan untuk lini pertama pengobatan primer. Data empiris menunjukan pemanfaatan tanaman langsat salah satunya sebagai obat antibakteri, terutama disentri. Penelitian membuktikan ekstrak biji langsat memiliki aktivitas antibakteri melawan beberapa bakteri patogen saluran cerna seperti *Bacillus cereus, Staphylococcus aureus, Salmonella typhii, Escericia coli,* dan *Vibrio cholera* namun eksplorasi belum pernah dilakukan terhadap bakteri patogen pada sistem lainnya. Contohnya, Streptococcus pneumoniae yang menjadi masalah utama kesehatan global karena resistensi dan beban penyakit yang ditimbulkannya. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri infusa biji buah langsat (*Lansium domesticum* Cor.) terhadap *Streptococcus pneumoniae* dengan menentukan nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) serta mengetahui kandungan metabolit sekunder didalamnya. **Metodologi:** Penelitian ini merupakan studi eksperimental murni dengan rancangan *postest only control group design*. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode dilusi kaldu (makrodilusi) untuk mendapatkan KHM yang dilanjutkan dengan subkultur untuk mendapatkan KBM. Skrining fitokimia dilakukan dengan uji tabung dengan tiga kali pengulangan untuk setiap pemeriksaan. **Hasil:** KHM dan KBM infusa biji buah langsat terhadap *Streptococcus pneumoniae* tidak dapat ditentukan potensinya pada penelitian ini. Kandungan metabolit sekunder infusa biji buah langsat yaitu saponin. **Kesimpulan:** Infusa biji buah langsat tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus pneumoniae*.

Kata kunci: antibakteri, infusa, langsat, *Streptococcus pneumoniae*

Keterangan:
1. Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura, Pontianak, Kalimantan Barat
2. Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura, Pontianak, Kalimantan Barat
3. Departemen Farmakologi, Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura, Pontianak, Kalimantan Barat

ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF LANGSAT (*Lansium Domesticum* Cor.) SEED INFUSION AGAINST *Streptococcus pneumoniae*

Suci Purnamasari[1]; Isnindar[2]; Ita Armyanti[3]

Abstract

Eighty percent of the world population depends on plant-derived medicine for the first line of primary health care. Empiric data shows the use of langsat as antibacterial drug, especially for dysentery treatment. Research prove that its dried seed extract has an antibacterial activity against some digestive system pathogenic bacteria such as Bacillus cereus, Staphylococcus aureus, Salmonella typhii, Escericia coli, and Vibrio cholera but no exploration has been done for some pathogenic bacteria in other organ system. For example, Streptococcus pneumoniae that becomes a major global public health problem because of its resistant and disease burden. ***Objective:*** *The objective of this research was to investigates the antibacterial activity of langsat seed infusion against Streptococcus pneumonia by determine the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal activity (MBC) using broth dilution method and to knows its secondary metabolite content.* ***Method:*** *This research was a true experimental study with postest only control group design. Antibacterial activity investigation conducted by using broth dilution method (macrodilution) to determine the MIC and continued by subculture to determine the MBC. Phytochemical screening performed by test tube method with triple replication for each test.* ***Result:*** *Both MIC and MBC of langsat seed infusion against Streptococcus pneumonia can't be determined in this study. Secondary metabolite content of langsat seed infusion is saponin.* ***Conclusion:*** *Langsat seed infusion hasn't an antibacterial activity against Streptococcus pneumoniae.*

Keywords: *antibacterial, infusion, langsat, Streptococcus pneumoniae*

Notes:

1. *Medical School, Faculty of Medicine,* Universitas Tanjungpura, Pontianak, *West* Kalimantan
2. *Pharmacy, Faculty of Medicine,* Universitas Tanjungpura, Pontianak, *West* Kalimantan
3. *Department of Pharmacology, Faculty of Medicine,* Universitas Tanjungpura, Pontianak, *West* Kalimantan

PENDAHULUAN

Tanaman obat merupakan salah satu pengobatan tradisional yang semakin menunjukan peran dan eksistensinya dalam mewujudkan kesehatan global[1]. Pengobatan tradisional yang bersumber dari tumbuhan masih dipertahankan sebagai lini pertama untuk pengobatan primer oleh 80% penduduk di Negara berkembang di dunia.[2]

Indonesia adalah negara yang sangat potensial untuk mengembangkan tanaman obat karena hutan tropis Indonesia merupakan tempat tumbuh 80% dari tanaman obat yang ada di dunia.[3,4] Langsat (*Lansium domesticum* Cor.) merupakan salah satu tanaman obat potensial yang secara empiris air rebusannya digunakan sebagai obat disentri, antidiare, penurun panas, obat cacing, antikolik, dan malaria oleh masyarakat Jawa, Kalimantan, dan Malaya.[5,6] Pemanfaatannya sebagai obat disentri mengindikasikan langsat memiliki aktivitas antibakteri.

Identifikasi metabolit sekunder dalam ekstrak biji langsat (*Lansium domesticum* Cor.) menunjukan adanya kandungan alkaloid, flavonoid, terpenoid, dan saponin berpotensi sebagai senyawa antibakteri.[5,7,8] Chaisawadi berhasil membuktikan ekstrak alkohol biji langsat kering memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Bacillus cereus, Staphylococcus aureus,* dan *Salmonella typhii.*[9] Ekstrak etanol biji langsat kering juga memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escericia coli* dan *Vibrio cholera.*[3] Eksplorasi potensi antibakteri biji langsat telah banyak dilakukan pada bakteri patogen saluran cerna dan belum pernah dilakukan pada bakteri patogen sistem lainnya seperti *Streptococcus pneumoniae*.

Ragam penyakit yang disebabkan, beban penyakit, resistensi, dan efek samping antibiotik untuk terapi *Streptococcus pneumoniae* merupakan masalah besar yang menjadi tantangan. *Streptococcus pneumoniae* adalah bakteri gram positif penyebab tersering infeksi saluran pernapasan oleh bakteri yang didapat dari komunitas, meningitis, bakteremia, dan otitis media khususnya pada anak di bawah 2 tahun dan lanjut usia.[10] Terdapat

151,8 juta kasus baru pneumonia setiap tahunnya. Kawasan dengan jumlah kasus baru per tahun terbanyak adalah *South East Asia Region* (SEAR) sebanyak 60,95 juta kasus. Sekitar 74% (115,3 juta) kejadian pneumonia terkonsentrasi pada 15 negara, termasuk di dalamnya Indonesia (6 juta kasus baru per tahun) menduduki peringkat ke lima setelah India, China, Bangladesh dan Nigeria.[11] Pneumonia adalah penyebab kematian tertinggi kedua setelah diare diantara balita (15,5%) dan selalu menduduki 10 besar penyakit terbanyak di Indonesia.[12] Beban ekonomi yang harus ditanggung akibat resistensi *Streptococcus pneumoniae* terhitung EUR 150 juta per tahun.[13] Disamping itu, resistensi terhadap penisilin dan antibiotik golongan β-laktam lainnya telah ditemukan sejak tahun 1967 dan tahun 1978 telah berkembang *multi drug resistant Streptococcus pneumoniae* yang resisten terhadap makrolid dan beberapa golongan antibiotik lainnya.[14] Penemuan agen terapeutik juga semakin urgen seiring efek samping antibiotik pilihan yang menimbulkan efek samping seperti hipersensitivitas, diare, nefritis, dan hepatitis kolestatik.[15,16]

Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antibakteri biji buah langsat (*Lansium domesticum* Cor.) asal Kalimantan Barat yang belum pernah diteliti sebelumnya terhadap bakteri *Streptococcus pneumoniae.* Bahan uji yang yang digunakan serupa dengan data empiris yaitu infusa.

Infusa biji buah langsat diduga memiliki aktivitas antibakteri yang bersifat bakterisid terhadap *Streptococcus pneumoniae*. Hal ini berkaitan dengan kandungan metabolit sekunder berupa alkaloid, flavonoid, terpenoid, dan saponin yang dapat bekerja pada berbagai faktor virulensi seperti dinding sel, membrane sel, materi genetik, dan komponen protein selular lainnya. Metabolit sekunder tersebut juga karena polaritasnya diduga masih dapat terekstrak dengan metode infusa.

BAHAN DAN METODE

BAHAN

Bahan yang diperlukan meliputi biji buah langsat, akuades steril, *silica gell*, *tryptic soy broth* (TSB), Mueller Hinton Agar (MHA) dengan suplementasi 2% darah kambing, Mueller Hinton Broth dengan penambahan 2% darah kambing lisis (MHB), $MgCl_2.6H_2O$, $CaCl_2.2H_2O$, NaCl 0,9%, $FeCl_3$ 5%, CH_3COOH glasial, serbuk magnesium, HCl pekat, H_2SO_4 pekat, $FeCl_3$ 1%, pereaksi Mayer, kloroform, alkohol 70%, alkohol 96%, biakan murni *Streptococcus pneumoniae,* dan larutan standar (Mc Farland 0,5).

METODE

Pemeriksaan Kadar Air

Pemeriksaan kadar air dilakukan dengan metode gravimetri dengan mengeringkan cawan porselen pada suhu 105°C selama 1 jam. Kemudian cawan tersebut dikeluarkan, dinginkan dalam desikator selama 10 menit dan ditimbang. Satu gram simplisia dimasukan ke dalam cawan, dikeringkan di oven pada suhu 105°C selama 1 jam, dikeluarkan, dinginkan dalam desikator selama 10 menit dan ditimbang. Siklus pengeringan,pendinginan, dan penimbangan diulang hingga tercapai bobot konstan. Perlakuan ini dilakukan triplo. Kadar air ditentukan dengan rumus berikut:[17]

$$\text{Kadar air} = \frac{Bobot\ awal - Bobot\ akhir}{Bobot\ awal}\ x\ 100\%$$

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan terhadap beberapa golongan metabolit sekunder menggunakan uji tabung. Setiap uji dilakukan triplo.

Pemeriksaan alkaloid

Sampel sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan 5 tetes kloroform dan beberapa tetes pereaksi Mayer. Terbentuknya endapan putih mengindikasikan adanya alkaloid.[18]

Pemeriksaan fenol: sampel sebanyak 1 ml dimasukan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan beberapa tetes air panas dan beberapa tetes pereaksi FeCl3 1%. Perubahan warna larutan menjadi warna hijau, biru atau ungu menunjukkan adanya senyawa fenol.[19]

Pemeriksaan flavonoid

Sampel sebanyak 1 ml dimasukan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan dengan serbuk Mg sebanyak 1 gram dan larutan HCl pekat. Perubahan warna larutan menjadi warna kuning menandakan adanya flavonoid.[18]

Pemeriksaan saponin

Sampel sebanyak 2 ml dimasukan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 10 mL air, setelah itu dikocok dengan kuat selama 10 menit. Buih yang terbentuk menunjukkan adanya saponin.[18]

Pemeriksaan steroid dan terpenoid

Sampel sebanyak 1 ml dimasukan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan dengan 1 mL CH_3COOH glasial dan 1 mL larutan H_2SO_4 pekat. Jika warna larutan berubah menjadi biru atau ungu, menandakan adanya kelompok senyawa steroid, jika warna larutan berubah menjadi merah menunjukkan adanya kelompok senyawa terpenoid.[18]

Pemeriksaan tannin

Sampel sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan beberapa tetes $FeCl_3$ 5%. Bila terbentuk warna biru tua menunjukkan adanya tanin.[18]

Pembuatan Suspensi Bakteri

Tiga koloni *Streptococcus pneumoniae* diambil dengan cara menyentuh puncak setiap koloni dengan ose steril, kemudian dipindahkan ke dalam tabung yang berisi 5 ml media *tryptic soy broth.* Inokulum diinkubasi pada suhu 35 ± 2^oC hingga kekeruhannya mencapai atau melebihi standar 0,5 Mc Farland. Kekeruhan kemudian disamakan dengan standar Mc Farland 0,5 sehingga jumlah densitas bakteri setara dengan $5x10^8$ CFU/ml,

diamkan selama 15 menit. Masukan 0,1 ml inokulum standar ke dalam 14,9 ml media *Mueller Hinton Broth* sehingga densitasnya menjadi $1x10^6$ cfu/ml.[20]

Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode dilusi kaldu (makrodilusi) dengan 3 replikasi yang dihitung dengan rumus Frederer sebagai berikut (t=banyaknya kelompok perlakuan; r=jumlah replikasi):[21]

(t-1) (r-1) ≥ 15

(15-1) (r-1) ≥15

14 (r-1) ≥ 15

14 r – 14 ≥ 15

14r ≥ 15+14

r ≥ 29:14

r ≥ 2,07

Infusa biji langsat (*Lansium domesticum* Cor.) konsentrasi 200% dimasukan ke dalam tabung pertama dan ke-2 masing-masing sebanyak 1 ml. Akuades steril sebanyak 1ml ditambahkan pada tabung ke-2 sehingga konsentrasi di tabung tersebut menjadi 100%. Sebanyak 1ml larutan di tabung ke-2 yang telah dihomogenkan dimasukan ke dalam tabung ke-3 dan ditambah 1 ml akuades sehingga konsentrasinya menjadi 50%. Demikian seterusnya pengenceran dilakukan secara serial hingga tabung ke-12. Suspensi bakteri sebanyak 1 ml ditambahkan pada tabung ke-1 hingga ke-12. Tabung ke-13 (kontrol positif) berisi 1 ml *Mueller Hinton Broth* dan 1 ml suspensi bakteri. Tabung ke-14 (kontrol negatif) berisi 1 ml infusa biji buah langsat (*Lansium domesticum* Cor.) dan 1 ml *Mueller Hinton Broth*. Tabung ke-15 (kontrol pelarut) berisi 1 ml akuades dan 1 ml suspensi bakteri. Semua tabung diinkubasi pada suhu 37ºC, selama 18-24 jam. Pertumbuhan bakteri yang tampak (*visible growth*) diamati dengan cara melihat kekeruhan dengan bantuan garis hitam dan membandingkan

dengan kontrol positif dan negatif untuk menentukan nilai konsentrasi hambat minimum (KHM).[20,22,23]

Tabung yang menampakan kejernihan kemudian disubkultur pada MHA sebanyak 0,01 ml dan diinkubasi pada suhu 37ºC selama 18-24 jam. Pertumbuhan koloni diamati dan ditentukan nilai konsentrassi hambat minimumnya (KBM). [20,22,23]

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kadar Air

Simplisia yang bermutu baik memiliki kisaran kadar air tidak lebih dari 10%.[24] Hasil pengukuran menunjukan kadar air simplisia yaitu 9,05%, seperti yang diperlihatkan pada tabel 1 sehingga simplisia berkualitas baik.

Tabel 1. Hasil Pengukuran Kadar Air

Pengulangan ke-	Kadar Air
1	9.02%
2	9,06%
3	9,07%
Rata-rata	9,05%

Skrining Fitokimia

Metabolit sekunder yang berhasil teridentifikasi adalah saponin. Hal ini sesuai dengan studi literatur dimana ekstrak biji buah langsat mengandung alkaloid, flavonoid, terpenoid, dan saponin.[5,7,8] Ekstraksi dengan cara infusa tidak dapat menyari kandungan lainnya yang dapat disebabkan karena sifat kelarutan dan kerusakan yang ditimbulkan saat pengerjaan seperti proses perajangan dan pemanasan. [25,26] Hasil skrining fitokimia disajikan pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia

Senyawa	Reagen	Perubahan	Hasil Positif	Hasil Skrining
Alkaloid	Kloroform, Mayer	Endapan putih (-), gumpalan minyak (+)	Endapan putih	Negatif (-)
Fenol	Akuades panas, $FeCl_3$ 1%	Warna kuning kecokelatan	Warna hijau, biru, atau ungu	Negatif (-)
Flavonoid	Serbuk Mg, HCl pekat	Jernih	Warna kuning	Negatif (-)
Saponin	Akuades, HCl	Busa stabil	Busa stabil	Positif (+)
Terpenoid dan steroid	Asam asetat glasial, asam sulfat pekat	Dua pengulangan berwarna hitam pekat dan satu pengulangan berwarna cokelat jernih	Warna biru atau ungu untuk steroid Warna merah untuk terpenoid	Negatif (-)
Tanin	$FeCl_3$ 5%	Warna cokelat	Warna biru tua	Negatif (-)

Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian antibakteri dilakukan dengan metode dilusi kaldu (makrodilusi) mengikuti standar yang dikeluarkan CLSI. Uji terdiri atas dua tahap secara berurutan yaitu penentuan KHM dan KBM.

KHM adalah konsentrasi agen antimikrobial terendah yang menghambat pertumbuhan organisme pada tabung uji yang dinilai secara kasat mata. Pengujian dikatakan valid apabila pada tabung kontrol pertumbuhan (kontrol positif) memenuhi kriteria adanya kekeruhan yang nyata.

Penilaian kasat mata dapat dibantu dengan penggunaan garis hitam di belakang tabung untuk meningkatkan realibilitasnya. Kekeruhan akan membuat garis hitam di belakang tabung menjadi tidak terlihat sehingga lebih mudah untuk menentukan tabung mana yang memiliki kekeruhan nyata dan sebaliknya.[20] Hasil uji KHM dapat dilihat pada tabel 3.

Pengujian KHM pada penelitian ini valid karena tabung kontrol pertumbuhan (kontrol positif) menunjukan kekeruhan yang nyata sehingga membuat garis hitam di belakang tabung tidak terlihat. Kekeruhan yang sama tampak pada tabung kontrol pelarut yang tidak mengandung zat antibakteri. Hal ini menunjukan bahwa pelarut akuades pada infusa tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri uji. Garis hitam di belakang tabung kontrol negatif masih dapat terlihat walaupun terdapat sedikit kekeruhan. Sumber kekeruhan kemungkinan berasal dari organisme kontaminan, medium, atau infusa. Kemungkinan adanya kontaminasi kemudian dapat disingkirkan dengan hasil subkultur yang bersih sehingga dapat ditarik kesimpulan bahwa kekeruhan ditimbulkan akibat medium dan/atau infusa. Semua kelompok kontrol memberikan hasil seperti yang diharapkan sehingga kelompok uji dapat dinilai lebih lanjut dengan berpatokan pada kelompok kontrol.

Kelompok uji terdiri atas 12 konsentrasi yaitu 200%, 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,56%, 0,78%, 0,39%, 0,19%, dan 0,095%. Antar konsentrasi diencerkan dua kali secara serial sehingga perbedaannya menjadi 50%. Untuk menilai KHM, kekeruhan pada setiap tabung uji dibandingkan dengan kontrol positif dan kontrol negatif. Kontrol positif adalah batas kekeruhan karena tidak ada zat antibakteri yang menghambat pertumbuhan bakteri yang diberikan. Sebaliknya, kontrol negatif adalah batas kejernihan karena tidak ada bakteri uji atau organisme kontaminan yang dapat menghasilkan kekeruhan. Semua kelompok uji menunjukan adanya kekeruhan seperti pada kontrol positif sehingga nilai KHM pada penelitian ini tidak berhasil ditemukan.

Tabel 3 Hasil Uji KHM

Konsentrasi	Pengulangan:		
	I	II	III
Kontrol Positif	+	+	+
Kontrol Negatif	-	-	-
Kotrol Pelarut	+	+	+
200%	+	+	+
100%	+	+	+
50%	+	+	+
25%	+	+	+
12,5%	+	+	+
6,25%	+	+	+
3,125%	+	+	+
1, 56%	+	+	+
0,78%	+	+	+
0,39%	+	+	+
0,19%	+	+	+
0,095%	+	+	+

\+ Ada kekeruhan, garis hitam tidak tampak
\- Tidak ada kekeruhan, garis hitam tampak

Uji selanjutnya adalah penentuan KBM dengan hasil seperti yang tercantum pada Tabel 4. Hasil kultur untuk semua kontrol negatif adalah steril. Tidak ada satupun koloni yang tumbuh pada MHA. Ini menandakan bahwa tidak ada kontaminasi pada pengerjaan sehingga tidak ada faktor kontaminan yang mempengaruhi hasil. Semua kontrol positif dan kontrol pelarut tumbuh dengan jumlah koloni yang tidak dapat dihitung. Ini menunjukan bakteri uji dapat tumbuh dengan optimum dan pelarut (akuades) tidak memiliki aktivitas antibakteri. Hasil subkultur kelompok kontrol sejalan dengan hasil pada uji KHM dimana kontrol positif dan kontrol pelarut keruh (ada pertumbuhan bakteri) serta kontrol negatif lebih jernih (tidak ada pertumbuhan bakteri).

Tabel 4 Hasil Hitung Koloni

Konsentrasi	Jumlah koloni pengulangan ke-		
	1	2	3
Kontrol Positif	×	×	×
Kontrol Negatif	0	0	0
Kotrol Pelarut	×	×	×
200%	2680	2712	2484
100%	×	×	×
50%	×	1712	×
25%	×	×	×
12,5%	×	×	×
6,25%	×	×	×
3,125%	×	×	×
1, 56%	×	×	×
0,78%	×	×	×
0,39%	×	×	×
0,19%	×	×	×
0,095%	×	×	×

× tidak dapat dihitung

KBM adalah konsentrasi terkecil dari zat antibakteri yang dapat membunuh ≥99,9% dari jumlah koloni pada *final inoculum* yang tampak setelah inkubasi selama 24 jam pada kondisi yang ditentukan.[27] *Final inoculum* yaitu 1 ml suspensi bakteri yang ditambahkan ke dalam 1 ml CAMHB. Jumlah koloni dari hasil inokulasi *final inoculum* yang dilakukan segera setelah inokulum tersebut selesai dibuat yaitu 125, 197, dan 118 koloni dengan rata-rata 147 koloni. Dengan demikian, KBM pada penelitian ini adalah konsentrasi terkecil dari infusa biji buah langsat yang dapat membunuh secara keseluruhan atau paling banyak menyisakan 1 koloni yang tumbuh pada media agar. KBM pada penelitian ini tidak

didapatkan nilainya karena konsentrasi tertinggi (200%) masih ditumbuhi bakteri sebanyak rata-rata 2.625 koloni.

Sebagian besar koloni hasil subkultur tumbuh sangat padat sehingga tidak dapat dihitung. Penghitungan koloni digunakan untuk menghitung jumlah sel yang mampu bertahan hidup (*viable cell*) karena satu koloni berasal dari 1 sel bakteri induk. Pertumbuhan yang sangat padat tidak dapat dihitung karena membuat hasil hitungan menjadi tidak valid.[28]

Jumlah koloni pada konsentrasi 50% di pengulangan ke-2 dapat dihitung dengan jumlah 1.712 koloni. Ini terjadi pada 1 dari 3 pengulangan di konsentrasi yang sama. Artinya, terjadi penyimpangan hasil pada konsentrasi 50% di pengulangan ke-2 yang sebenarnya bisa diabaikan. Penyimpangan ini kemungkinan disebabkan oleh faktor personal dalam pengerjaan seperti volume yang berhasil ditransfer pada media agar, cara menggores, dan bentuk goresan. Volume yang berhasil terambil oleh ose standar bisa saja lebih sedikit sehingga jumlah inokulum yang seharusnya digores menjadi berkurang. Cara menggores dan bentuk goresan yang berbeda-beda juga mentransfer inokulum dalam jumlah yang berbeda. Ketiga faktor tersebut tidak dapat dibuat sama persis di setiap pengerjaan.

Pertumbuhan koloni pada kontrol positif secara kualitatif terlihat nyata lebih banyak dibandingkan dengan jumlah koloni pada konsentrasi 200%. Ini mengindikasikan infusa biji buah langsat konsentrasi 200% memiliki aktivitas antibakteri yang bersifat lemah. Penelitian lebih lanjut dengan metode penyarian lainnya, misalnya maserasi, yang dapat menarik zat aktif lebih banyak dan lebih spesifik diperlukan untuk mendapatkan nilai KHM dan/atau KBM biji buah langsat terhadap *Streptococcus pneumoniae.*

Infusa biji buah langsat pada penelitian ini tidak memiliki daya hambat dan daya bunuh terhadap *Streptococcus pneumoniae*. Hal ini dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor yang dibagi menjadi faktor biologis dan faktor teknis. Faktor teknis sebagian besar dapat dikendalikan oleh peneliti sedangkan faktor biologis tidak.[27]

Faktor biologis terdiri atas *persisters* dan resistensi.[27] *Persisters* berasal dari sel-sel yang dorman atau yang berplikasi dengan lambat sehingga tidak dapat dibunuh oleh zar antibakteri. Faktor *persisters* sudah dikendalikan dengan penggunaan inokulum pada fase logaritmik. Faktor biologis berikutnya adalah resistensi. Bakteri sangat mungkin untuk menjadi resisten selama pengujian antibakteri karena resistensi merupakan adaptasi yang dilakukan bakteri secara alami untuk tetap bertahan hidup.[29] Resistensi ini merupakan faktor yang mutlak tidak dapat dikendalikan.

Faktor teknis terdiri atas fase pertumbuhan, besar inokulum, insufisiensi kontak, *antibiotic carryover*, pemilihan media, penggunaan tabung, dan pengocokan saat menginokulasi.[27,30] Semua faktor teknis sebenarnya dapat dikendalikan.

Besar inokulum sebenarnya sudah disesuaikan dengan standar, yaitu sama dengan Mc Farland 0,5 untuk inokulum standar pada fase log. Namun karena pengukuran dilakukan secara visual dengan menyamakan kekeruan, masih ada kemungkinan untuk menghasilkan besar inokulum yang tidak sesuai. Pengukuran ini bersifat sangat subjektif. Untuk mendapatkan besar inokulum yang lebih akurat, penyamaan kekeruan inokulum standar dengan standar Mc Farland 0,5 harus dikonfirmasi menggunakan spektrofotometer.[31]

Faktor *antibiotic carryover* sudah diminimalisasasi dengan menggunakan ose standar untuk mentransfer volum dalam jumlah yang direkomendasikan. *Antibiotic carryover* tidak terjadi dalam penelitian ini, dibuktikan dengan tidak adanya zona hambat pada goresan-goresan yang dibuat.

Media yang digunakan pada penelitian ini, baik itu pada saat pengujian KHM maupun KBM, sudah disesuaikan dengan standar untuk pengujian *Streptococcus pneumoniae*. Dengan demikian faktor media kemungkinan besar bukanlah penyebab dari ketidakpuasan hasil uji.

Penggunaan tabung berkaitan dengan peristiwa adhesi. Adhesi menyebabkan bakteri yang bertahan semakin banyak karena dengan beradhesi bakteri dapat terhindar dari kontak dengan zat antibakteri. Adhesi bakteri pada tabung kaca lebih minimal dibandingkan pada tabung plastik. Pengocokan saat menginokulasi tidak boleh dilakukan karena dapat mensuspensikan bakteri-bakteri yang beradhesi pada tabung. Kemungkinan adanya adhesi pada penelitian ini sudah diminimalisasi dengan penggunaan tabung kaca namun pengocokan saat inokulasi dilakukan.

Faktor teknis yang tidak dapat dipenuhi karena keterbatasan fasilitas laboratorium adalah kontak yang cukup antara suspense bakteri uji dengan zat antibakteri. Untuk menjamin kontak yang sufisien, inkubasi seharusnya dilakukan pada *shaking incubator*.[27,30] Peneliti sudah mencoba meminimalisasi insufiensi kontak dengan melakukan pengocokan pada jam ke-20 dan jam ke 24 yang merupakan upaya yang direkomendasikan oleh CLSI.[27]

Selain dipengaruhi oleh faktor-faktor pada pengerjaan uji aktivitas antibakteri, hasil uji juga dipengaruhi oleh proses pada pengolahan simplisia dan teknik penyarian. Seperti yang telah dijelaskan sebelumnya, proses pengeringan, perajangan, penggilingan, dan pemanasan dapat mengakibatkan kerusakan pada kandungan metabolit sekunder. Bisa jadi ini merupakan faktor yang menyebabkan metabolit sekunder lain seperti flavonoid, terpenoid, dan alkaloid tidak dapat tersari. Dengan tidak tersarinya senyawa-senyawa tersebut maka tidak ada zat yang dapat bekerja sinergis dengan saponin menghasilkan efek antibakteri yang kuat melalui mekanisme yang beragam. Sedangkan *Streptococcus pneumoniae* adalah bakteri yang sangat kuat dengan berbagai faktor virulensi yang terdapat pada sruktur kapsul, dinding, maupun komponen protein intraseluler, seperti yang telah dijelaskan sebelumnya.[32] Dengan demikian, infusa biji buah langsat yang hanya mengandung saponin tidak dapat menghasilkan aktivitas antibakteri yang efektif.

Saponin sebenarnya merupakan senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri.[33] Penelitian menunjukan hasil isolat saponin memiliki aktivitas yang lebih baik pada bakteri Gram positif.[34,35,36] Avato menyatakan saponin memiliki aktivitas antibakteri yang tinggi melawan *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus* faecalis.[34] Apabila berpatokan pada uraian tersebut, seharusnya saponin yang terkandung di dalam infusa biji buah langsat sangat berpotensi menghambat/membunuh *Streptococcus pneumoniae* yang merupakan bakteri Gram positif. Namun, pada penelitian ini aktivitas antibakteri justru tidak didapatkan.

Aktivitas antibakteri saponin ditimbulkan oleh kemampuannya meningkatkan permeabilitas membran. Interaksi saponin dengan komponen membran diduga ditimbulkan oleh struktur bipolar yang dimilikinya. Komponen lipofilik saponin dapat dengan mudah berintegrasi dengan fraksi lipid dari membran plasma. Sedangkan komponen hidrofilik glikosidanya menyebabkan kerusakan yang ireversibel pada membran plasma sehingga mengganggu integritasnya.[33,37] Pratiwi mengemukakan senyawa saponin juga merupakan zat yang apabila berinteraksi dengan dinding bakteri maka dinding tersebut akan pecah atau lisis. Saponin akan mengganggu tegangan permukaan dinding sel. Saat tegangan permukaan terganggu zat antibakteri akan dengan mudah masuk ke dalam sel dan menyebabkan sel lisis.[37]

Peningkatan permeabilitas dinding dan membran sel oleh saponin ternyata bukan hanya dapat berefek menghambat/membunuh sel tersebut. Menurut Geyter *et al.,* efek perusakan yang ditimbulkan oleh saponin menyebabkan lisis sel apabila pajanan saponin diberikan dalam konsentrasi yang cukup besar.[37] Sebaliknya, dalam konsentrasi kecil efek perusakan tersebut justru sangat menguntungkan bagi sel karena peningkatan permeabilitas yang ditimbulkannya dapat meningkatkan influks nutrisi. Arabski uga mengemukakan hal yang sama. Peningkatan permeabilitas yang disebabkan pada konsentrasi kecil dapat

meningkatkan influx nutrisi namun tidak cukup kuat untuk membuat efluks molekul yang berukuran besar seperti protein dan material sel.[38]

Saponin pada hampir semua konsentrasi uji di penelitian ini kemungkinan besar tidak cukup kuat untuk menimbulkan kerusakan yang berefek kematian sel. Sementara pada konsentrasi uji 200%, ada kemungkinan konsentrasi saponin sudah mulai kuat untuk menimbulkan efek antibakteri pada *Streptococcus pneumoniae*. Untuk mendapatkan nilai KHM dan KBM perlu peningkatan konsentrasi infusa di atas 200% atau penyarian dengan cara lain untuk mendapatkan konsentrasi saponin yang lebih besar.

Penyarian dengan cara infusa hingga konsentrasi 200% pada penelitian ini tidak cukup efektif untuk mendapatkan konsentrasi saponin jumlah yang berefek antibakteri. Selain itu, juga tidak dapat menyari senyawa lainnya yang dapat secara sinergis bersama saponin menghasilkan efek antibakteri yang kuat melawan *Streptococcus pneumoniae*.

Faktor virulensi bakteri menggambarkan kekuatan suatu *strain* dalam pertahanan terhadap pajanan zat antibakteri. Semakin banyak dan semakin poten suatu faktor virulensi menyebabkan semakin kuat bakteri tersebut. Seperti yang telah dipaparkan sebelumnya *Streptococcus pneumoniae* memiliki berbagai faktor virulensi pada sruktur kapsul dan dinding, berbagai enzim, maupun komponen protein intraseluler. Ragam faktor virulensi yang ada pada *Streptococcus pneumoniae* ini membuatnya mampu bertahan di tubuh, terhindar dari perlawanan sistem imun, dan menyebabkan berbagai penyakit.[32] Virulensi bakteri uji yang digunakan juga dapat dipertimbangkan sebagai alasan tidak adanya aktivitas antibakteri infusa biji buah langsat terhadap bakteri tersebut.

Efek positif saponin terhadap pertumbuhan sel serta berbagai faktor seperti resistensi, insufisiensi kontak, pengocokan saat menginokulasi, besar inokulum, dan proses pengolahan simplisia, teknik penyarian, dan virulensi bakteri uji yang telah diuraikan sebelumnya adalah kemungkinan-kemungkinan yang dapat menjawab tidak ditemukannya aktivitas

antibakteri (KHM dan KBM) infusa biji buah langsat terhadap *Streptococcus pneumonia.*

KESIMPULAN

Infusa biji buah langsat (*Lansium domesticum* Cor.) tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus pneumoniae.*

DAFTAR PUSTAKA

1. World Health Organization (WHO), Herbal medicine research and global health: an ethical analysis diunduh dari http://www.who.int/bulletin/volumes/86/8/07-042820/en/index.html.
2. Verma, S. and S. P. Singh, 2008, Current and Future Status of Herbal Medicine, Veterinary World, 1(11): 347-350.
3. Korompis, G. E. C.; Vennita R. D.; Oksfriani J. S., 2010, Uji Invitro Aktivitas Antibakteri dari Lansium domesticum Correa (Langsat), Universitas Sam Ratulangi, Fakultas Kedokteran, Manado, (Skripsi).
4. Pribadi, E. R., 2009, Pasokan dan Permintaan Tanamanan Obat Indonesia Serta Arah Penelitian dan Pengembangannya, Perspektif 2(8): 52-64.
5. Arbiastutie, Y. dan Muflihati, 2008, Isolasi dan Uji Aktivitas Kandungan Kimia Bioaktif dari Biji Duku (Lansium domesticum Corr), Jurnal Penelitian Universitas Tanjungpura, 10(2).
6. Lim, T.K., 2012., Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants, Vol ke-3, Springer, New York.
7. Tanaka, T.; Masami I.; Haruhiro F.; Emi O.; Takashi K.; Thaworn K.; Masashiko H.; Kanki K., 2002, New Onoceranoid Triterpenoid Constituents from Lansium domesticum, Journal of Natural Product, (65): 1709-1711.
8. Dong, S. H.; Chuan R. Z.; Lei D.; Yan W.; Jian M. Y., 2010. *Onoceranoid-Type Triterpenoids from Lansium domesticum*, Journal of Natural Products.
9. Chaisawadi, S.; Surachai, K.; Orapan, N.; Juthathip P., Antimicrobial Activities on Seed and Peel Extract from Longkong, King Mongkut's University of Technology Thonburi, Thailand.

10. World Health Organization (WHO), 2011, Streptococcus pneumoniae (Pneumococcus) diunduh dari http://www.who.int/nuvi/pneumococcus/en/.
11. Rudan, I.; Cynthia B. P.; Zrinka B.; Kim, 2008, Epidemiology and Etiology of Childhood Pneumonia, WHO International.
12. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2010, Pneumonia Balita, Buletin Jendela Epidemiologi, Vol. 3.
13. Norrby, S. R., 1995., Emerging antibiotic resistance in gram positive bacteria: return to the pre-antibiotic era?, HKMJ (1): 129-135.
14. Chiou, C. C., 2006. Does Penicillin Remain the Drug of Choice for Pneumococcal Pneumonia in View of Emerging in Vitro Resistance?, CID, 42: 224-233.
15. Golan, D. E.; Armen H. T.; Ehrin J. A.; April W. A, 2008, Principles of Pharmacology: The Pathophysiologic Basis of Drug Therapy, ed ke-2, Lippincott William dan Wilkins, Philadelphia.
16. Pharm, R. F.; Michelle A. C.; Luigi X. C., 2009, Pharmacologi, Ed ke-4, Lippincott William dan Wilkins, Philladelphia.
17. Departemen Kesehatan Republik Indonesia., 1979, *Farmakope Indonesia*, Edisi III, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
18. Lailatul, L.; Kadarohman A.; Eko R., 2010, Efektivitas Biolarvasida Ekstrak Etanol Limbah Penyulingan Minyak Akar Wangi (*Vetiveria zizanoidess*) terhadap Larva Nyamuk *Aedes aegypti, Culex sp*., *Anopheles sundaicus*, Jurnal Sains dan Teknologi Kimia, 1(1):60-1.
19. Atmoko, T. dan Ma'ruf A., 2009, Uji Toksisitas dan Skrining Fitokimia Ekstrak Tumbuhan Sumber Pakan Orangutan terhadap Larva *Artemia salina* L. (Toxicity Testing and Phytochemical Screening of Orangutan Food Extracts to Larvae of *Artemia salina* L.), Jurnal Penelitian dan Konservasi Alam, 6(1):37-45.
20. CLSI, 2012. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Test For Bacteria That Grow Aerobically, Ed ke-9, CLSI 32(2).

21. Supranto, J., 2000, *Teknik Sampling untuk Survei dan Eksperimen*, Penerbit PT Rineka Cipta, Jakarta.
22. Saputra, T. dan Lilis S., 2012, Aktivitas Antimikroba Infusa Buah Asam Jawa *(Tamarindus indica* Linn) terhadap Berbagai Mikroba Patogen, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta, Fakultas Kedokteran, Yogyakarta, (Skripsi).
23. Ramadanti, I. A., 2008, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Bawang Putih (*Alium sativum* Linn) terhadap Eschericia Coli in Vitro, Universitas Diponegoro, Fakultas Kedokteran Umum, Semarang, (Skripsi).
24. Pratiwi, A., 2012, Aktivitas Antimikroba Infusa Kulit Batang Kedawung *(Parkia Roxburghii G.Don*) Terhadap Bakteri Patogen. FKIK (Pendidikan Dokter), 8(9).
25. Ma'mun, S. S.; F. Manoi; B. S. Sembiring; Triatiningsih; M. Sukmasari; A. Gani; Tjitjah F.; D. Kustiwa, 2006, Teknik Pembuatan Simplisia dan Ekstrak Purwoceng, Laporan Pelaksanaan Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik.
26. Grafianita, 2011, Kadar Kurkuminoid, Total Fenol, dan Aktivitas Antioksidan Simplisia Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) pada Berbagai Teknik Pengeringan. Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret, Surakarta, (Skripsi).
27. CLSI, 1999, Methods for Determining Bactericidal Activity of Antimicrobial Agents, 19(18).
28. Hogg, S., 2005 , Essential Microbiology, John Wiley dan Sons Ltd., Inggris.
29. Choffnes, E. R.; David, A. R.; Alison M., 2010, Antibiotic Resistance, The National Academies Press.
30. Taylor, P. C.; F. D. Schoenknecht; J. C. Sherris; E. C. Linner, 1983, Determination of Minimum Bactericidal Concentration of Oxacillin for Staphylococcus Aureus: Influence and Significance of Technical Factor, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 23(1): 142-150.

31. Maliana, Y.; Siti K.; dan Farah, D., 2013, Aktivitas Antibakteri Kulit *Garcinia mangostana* Linn. Terhadap Pertumbuhan *Flavobacterium* dan *Enterobacter* dari *Coptoterms curvignathus* Holmgren, Jurnal Protobiont, 2(1): 7-11.
32. Velasco, E. A.; A. F. M. Verheul; J. Verhoef; H. Snippe, 1995. Streptococcus pneumonia: Virulence Factors, Pathogenesis, and Vaccines, American Society for Mocrobiology, 59(4): 591-603.
33. Siswandono dan Soekardjo, 2000, *Kimia Medisinal, Ed ke-2,* Airlangga University Press, Surabaya.
34. Avato, P.; Rosella, B.; Aldo, T.; Cesare, V.; Antonio, R.; Zbigniew, B.; dan Marian, J., 2006, Antimicrobial Activity of Saponins from *Medicago* sp.: Structure-Activity Relationship, Phytotherapy Research, 20: 454-457.
35. Soetan, K. O.; Oyekunle, M. A.; Aiyelaagbe, O. O.; dan Fafunso, M. A., 2006, African Journal of Biotechnology: 5(23): 2405-2407.
36. Hassan, S. M., 2008,Antimicrobial Activities of Saponin-Rich Guar Meal Extract, Universitas Texas A&M, Texas, (Disertasi).
37. Geyter, E. D.; Ellen, L.; Danny, G.; dan Guy, S., 2007, Novel Advance With Plant Saponins As Natural Insecticides To Control Pest Insects, Pest Technology, 1(2): 96-105.
38. Arabski, M.; Aneta, W. C.; Grzegorz, C.; Anna, L.; dan Wieslaw, K., 2012, Effects of Saponins Against Clinical *E. coli* Strains and Eukaryotic Cell Line, Journal of Biomedicine And Biotechnology, 2012.