

Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Bawang Sabrang (*Eleutherine americana*) Terhadap *Shigella dysenteriae* dan *Salmonella enteritidis*

(Antibacterial Ability of Ethanol Extract Sabrang Onion (*Eleutherine americana*) on *Shigella dysenteriae* and *Salmonella enteritidis*)

RIZQY DIMAS MONICA^{1*}, ACHADIYANI¹, ASTRID F. KHAIRANI¹,
MICHAEL VALLERY LOUEIS TUMBOL²

¹Masters of Basic Medical Sciences, Padjadjaran University, Jl. Eyckman No. 38 Bandung, West Java

²Department of Medical Laboratory Engineering, Poltekkes Kemenkes Manado, Jl. R.W Mongisidi, Manado, North Sulawesi

Diterima 1 Agustus 2018, Disetujui 25 Maret 2020

Abstrak: Bakteri *Shigella dysenteriae* dan *Salmonella enteritidis* merupakan bakteri gram negatif dalam famili *Enterobacteriaceae* penyebab gastroenteritis. Bawang sabrang (*Eleutherine americana*) adalah family *Iridaceae*, mengandung flavonoid, alkaloid dan saponin. Tujuan penelitian mengetahui daya antibakteri dan waktu kontak dari ekstrak etanol bawang sabrang terhadap *Shigella dysenteriae* dan *Salmonella enteritidis*. Metode penelitian eksperimental laboratorium. Daya antibakteri bawang sabrang diukur dengan metode modifikasi difusi agar, sedangkan waktu kontak diukur berdasarkan nilai konsentrasi bunuh minimal *Shigella dysenteriae* dan *Salmonella enteritidis*. Data penelitian dianalisis dengan *One way ANOVA*. Hasil penelitian ekstrak etanol bawang sabrang mempunyai daya antibakteri terhadap *Shigella dysenteriae* dan *Salmonella enteritidis*, terdapat korelasi antara konsentrasi ekstrak bawang sabrang terhadap diameter zona hambat. Waktu kontak terhadap *Shigella dysenteriae* menunjukkan ekstrak etanol bawang sabrang pada konsentrasi bunuh minimal dengan waktu kontak 8 jam mempunyai efek bakterisidal dengan hasil laju penurunan jumlah bakteri 1000 kali terhadap inokulum awal. Efek bakterisidal terhadap *Salmonella enteritidis* menunjukkan ekstrak etanol bawang sabrang pada konsentrasi bunuh minimal dengan waktu kontak 5 dan 10 menit. Ekstrak etanol bawang sabrang memiliki daya antibakteri terhadap *Shigella dysenteriae* dan *Salmonella enteritidis*. Terdapat perbedaan efek antibakteri ekstrak etanol bawang sabrang terhadap *Shigella dysenteriae* dan *Salmonella enteritidis* pada waktu kontak yang sama dengan konsentrasi bunuh minimal yang berbeda.

Kata Kunci: Bawang sabrang (*Eleutherine americana*), daya antibakteri, *Salmonella enteritidis*, *Shigella dysenteriae*, waktu kontak

Abstract: The bacteria *Shigella dysenteriae* and *Salmonella enteritidis* are gram-negative bacteria in the family *Enterobacteriaceae* that cause gastroenteritis. Sabrang onion (*Eleutherine americana*) is a family *Iridaceae*, containing flavonoids, alkaloids and saponins. The aims of this study was to determine the antibacterial ability and contact time of ethanol extracts sabrang onion on *Shigella dysenteriae* and *Salmonella enteritidis*. Research methods of Laboratory experimental. The antibacterial ability of sabrang onions was measured by the agar diffusion modification method and contact time was measured based on the minimum kill concentration values of *Shigella dysenteriae* and *Salmonella enteritidis*. Research data analyzed with *One way ANOVA*. The results of ethanol extract of Sabrang onion have antibacterial ability against *Shigella dysenteriae* and *Salmonella enteritidis*, there is a correlation between the concentration of Sabrang onion extract on inhibition zone diameter. The contact time for *Shigella dysenteriae* showed ethanol extract of Sabrang on minimal kill concentration with an 8 hour contact time had a bactericidal effect with the result of a decrease in the number of bacteria 1000 times on the initial inoculum. The bactericidal effect on *Salmonella enteritidis* shows ethanol extract of Sabrang onions at a minimum kill concentration with contact time of 5 and 10 minutes. Ethanol extract of Sabrang onion has antibacterial ability against *Shigella dysenteriae* and *Salmonella enteritidis*. There are differences in the antibacterial effects of ethanol extracts of Sabrang onions against *Shigella dysenteriae* and *Salmonella enteritidis* at the same contact time with different minimum kill concentration.

Keywords: Onion sabrang (*Eleutherine americana*), antibacterial ability, *Salmonella enteritidis*, *Shigella dysenteriae*, contact time

*Penulis korespondensi

E-mail: monicarizqydimas@yahoo.com

PENDAHULUAN

SHIGELLA adalah penyebab utama terjadi penyakit infeksi saluran pencernaan yaitu *shigellosis* atau disentri basiler yang ditandai dengan nyeri perut hebat, diare akut yang sering dengan volume tinja sedikit disertai dengan adanya lendir, darah dan nanah⁽¹⁾. Gejala akut *shigellosis* meliputi tenesmus, sepsis, perforasi usus, megacolon beracun, dehidrasi, hiponatremia, ensefalopati, sindrom uremik hemolitik dan pneumonia⁽²⁾.

Penyakit ini terjadi pada anak umur 1-10 tahun dengan penderita mengalami diare yang hebat hingga 20-30 kali sehari yang mengakibatkan terjadinya dehidrasi sampai terjadinya kematian⁽³⁾. Setiap tahun, diperkirakan ada sekitar 165 juta kasus diare yang disebabkan oleh bakteri *Shigella*, dan 100 juta di antaranya terjadi di negara berkembang⁽⁴⁾. Diperkirakan dari sekitar 140 juta kasus *shigellosis* pada anak dengan usia di bawah 5 tahun di dunia setiap tahunnya, sekitar 600.000 diantaranya meninggal dunia⁽⁵⁾.

Shigella dysenteriae merupakan bakteri gram negatif, berbentuk batang pendek atau basil tunggal, tidak berspora, tidak berflagel dan bersifat aerob, peptidoglikan tipis, membran terdapat didalam⁽⁶⁾. Bakteri ini menghasilkan eksotoksin yaitu racun yang menyebabkan kerusakan pada *host* dengan menghancurkan sel-sel atau mengganggu metabolisme sel yang normal dengan mempengaruhi usus halus, sehingga menyebabkan masuknya cairan secara berlebihan ke dalam rongga usus sehingga menyebabkan diare dan muntah-muntah. Eksotoksin ini mempunyai sifat neurotoksik sehingga anak-anak yang terjangkiti *shigellosis* dapat menderita konvulsi^(7,8).

Salmonella enteritidis merupakan salah satu bakteri genus *Salmonella* dari family *Enterobacteriaceae*⁽⁹⁾, bersifat gram negatif, berbentuk batang dan tidak berspora dengan flagella peritrikus, bersifat fakultatif anaerobik, katalase positif, oksidase negatif, mampu memfermentasi karbohidrat dengan menghasilkan asam dan gas serta dapat menggunakan sitrat sebagai sumber karbon. Habitat utamanya berada dalam saluran pencernaan hewan ternak dan manusia. *Salmonella enteritidis* ditemukan pada spesies unggas dan dengan mudah dapat ditularkan ke manusia melalui telur atau daging ayam yang terkontaminasi. Infeksi bakteri ini pada hewan atau manusia dapat mengakibatkan penyakit dengan gangguan pada bagian saluran pencernaan atau gastroenteritis⁽¹⁰⁾.

Salmonellosis sering dilaporkan akibat mengkonsumsi makanan yang mengandung telur

mentah. Makanan mengandung telur yang dimasak kurang sempurna dapat bertindak sebagai sumber penularan *Salmonella enteritidis*⁽¹¹⁾. Prevalensi terinfeksi *Salmonella enteritidis* diseluruh dunia masih rendah namun infeksi *Salmonella enteritidis* dapat menyebabkan kejadian luar biasa karena infeksi ini ditularkan melalui produk yang berasal dari unggas^(12,13).

Penggunaan antibiotik spektrum luas dalam penanganan infeksi bakteri telah mengakibatkan terjadinya resistensi bakteri terhadap antibiotik tertentu. Survei di beberapa provinsi di Indonesia tahun 2010, menunjukkan *Shigella dysenteriae* masih sensitif terhadap siprofloksasin, fluorokuinolon dan resistensi terhadap antibiotik ampisilin 90%, khloramfenikol 83%⁽¹⁴⁾. Resistensi *Shigella dysenteriae* di India terhadap trimetoprim 64,3%, kanamisin 21,4%⁽¹⁵⁾.

Akibat resistensi bakteri terhadap beberapa antibiotik, maka pencarian senyawa aktif sebagai zat antimikroba yang berasal dari tumbuhan sangat diperlukan untuk alternatif pemecahan masalah resistensi. Obat tradisional menjadi alternatif karena memiliki efek samping yang relatif lebih sedikit dari pada antibiotik yang menyebabkan resistensi^(16,17). Sebagian tanaman obat merupakan sumber zat antimikroba yang kaya dan umumnya menghasilkan banyak metabolit sekunder yang merupakan sumber obat-obatan farmasi⁽¹⁸⁾. Tanaman masih menjadi sumber utama obat farmaseutikal dan agen yang digunakan dalam pengobatan tradisional^(19,20).

Bawang sabrang merupakan tanaman khas Provinsi Kalimantan Barat ini turun temurun dipergunakan masyarakat sebagai tanaman obat dan tumbuh subur di perkebunan dan pegunungan. Tanaman ini memiliki adaptasi yang baik dapat tumbuh dalam berbagai tipe iklim dan jenis tanah juga dapat diperbanyak dan dipanen dalam waktu yang singkat, sehingga dapat dengan mudah dikembangkan dalam skala industri^(21,22).

Potensi bawang sabrang mengandung senyawa aktif alkaloid, flavonoid, glikosida, saponin, dan tannin. Senyawa aktif saponin dan golongan tanin pada bawang sabrang diketahui memiliki sifat antibakteri. Beberapa penelitian menginformasikan bahwa bawang sabrang memiliki efek farmakologis sebagai antikanker, antioksidan, menurunkan tekanan darah, menurunkan kadar kolesterol dalam darah, antipiretik, anti inflamasi, anti bakteri, antiparasit dan antijamur⁽²³⁾. Flavonoid, saponin, alkaloid pada bawang sabrang merupakan zat aktif yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme secara *in vitro* antara lain *Staphylococcus aureus*, *Bacillus*

Stearothermophilus, *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli*⁽²³⁾.

Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui daya antibakteri ekstrak etanol bawang sabrang (*Eleutherine americana*) terhadap *Shigella dysenteriae* dan *Salmonella enteritidis* dan pengaruh waktu kontak terhadap pertumbuhan bakteri.

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Bahan Penelitian adalah bawang sabrang diambil dari kebun yang tumbuh secara liar di daerah Arjasari. Tiap 1 siung bawang sabrang mempunyai panjang sekitar 2,8-4,3 cm dengan berat 0,65-1,3 gram (rata-rata 1 gram), dihaluskan dengan blender sampai berbentuk hancur, kemudian di ekstraksi dengan menggunakan pelarut etanol 95%. Dosis yang diberikan 1 mg⁽¹²⁾.

Media dan Reagensia adalah Media cair Muller-Hinton, Media agar Muller-Hinton, Aquades, NaCl 0,9 %. Bakteri uji yang di gunakan adalah *Shigella dysenteriae* ATCC 12022 dan *Salmonella enteritidis* ATCC 13076 yang diperoleh dari laboratorium Mikrobiologi Fakultas MIPA Institut Teknologi Bandung.

Alat. Alat penelitian adalah cawan petri, inkubator, tabung reaksi, autoklaf, nefelometer standar Mc farland 0,5, labu Erlenmeyer 25 ml, 50 ml dan 250 ml, gelas ukur 10 ml, 50 ml, pipet mikro 100 µl, 250 µl, dan 1000 µl, alat suntik sekali pakai ukuran 1 cc, timbangan analitik, gelas ukur, tabung reaksi, ose ukuran 0,01 ml (10 µl), sarung tangan, spidol, kertas label, kaliper untuk mengukur diameter zona hambat.

METODE. Metode penelitian ini adalah eksperimen laboratorium dimana pada penelitian ini dilakukan uji daya antibakteri ekstrak bawang sabrang (*Eleutherine americana Merr*) terhadap *Shigella dysenteriae* dan *Salmonella enteritidis* melalui pengamatan besarnya zona hambat, kadar bunuh minimal (KBM) dan jumlah koloni *Shigella dysenteriae* dan *Salmonella enteritidis* pada agar Mueller-Hinton.

Prosedur Penelitian Pembuatan Ekstrak Etanol Bawang Sabrang (*Eleutherine americana Merr*). Bahan yang digunakan untuk pembuatan ekstrak adalah 3 kg bawang sabrang yang didapat dari pegunungan Arjasari lalu dihaluskan dengan menggunakan alat penghalus sampai berbentuk serbuk. Kemudian direndam dengan etanol 95% dalam suatu tempat yang disebut maserator selama 24 jam. Setelah di rendam selama 24 jam kran percolator dibuka dan ditampung cairan perkolatnya, proses maserasi dilakukan 3 kali (3x24 jam). Semua cairan perkolat di campur, kemudian dilakukan

proses penguapan zat pelarut (etanol 95 %) dengan menggunakan alat rotary evaporator dan dilakukan proses penguapan pengeringan yang menggunakan prinsip destilasi (pemisahan) dengan menggunakan oven pada suhu 40°C selama 24 jam. Ekstrak berbentuk pasta yang diperoleh dimasukan dalam botol yang tertutup kemudian di simpan dalam lemari es (10-15°C) sebelum digunakan untuk penelitian.

Pemeriksaan Sterilitas Ekstrak Etanol Bawang Sabrang. Ekstrak tumbuhan yang digunakan untuk pengujian daya antibakteri harus steril. Sebanyak 2 tabung yang berisi 1 ml media cair Mueller Hinton steril dan diberi kode A dan B. Pada tabung A masukan 1 gram ekstrak etanol bawang sabrang, sedangkan pada tabung B hanya berisi media cair Mueller Hinton sebagai kontrol negatif, diinkubasi selama 20 jam pada suhu 37°C. Setelah itu inokulasikan kembali masing-masing tabung pada media agar Mueller-Hinton, diinkubasi selama 20 jam pada suhu 37°C. Amati adanya pertumbuhan koloni bakteri.

Persiapan Bakteri Uji. Bakteri *Shigella dysenteriae* dan *Salmonella enteritidis* dikultur pada masing-masing 2 lempeng agar Mueller-Hinton. Kemudian inkubasi pada suhu 37°C selama 20 jam. Koloni yang tumbuh digunakan untuk pembuatan suspensi bakteri uji.

Pembuatan Suspensi Bakteri untuk Uji Daya Antibakteri, Nilai KBM dan Waktu kontak. Koloni *Shigella dysenteriae* dan *Salmonella enteritidis* disuspensikan dengan 5,0 ml medium cair Mueller-Hinton dengan kekeruhan 0,5 MacFarland yang setara dengan $1,5 \times 10^8$ CFU/ml, suspensi ini digunakan sebagai suspensi primer. Suspensi bakteri yang akan digunakan sebagai inokulum untuk uji daya hambat adalah 1 ml suspensi bakteri $1,5 \times 10^8$ CFU/ml. Suspensi bakteri yang akan digunakan sebagai inokulum untuk uji nilai KBM dan waktu kontak adalah 1×10^6 CFU/ml, terhadap jumlah volume pengujian yang diambil dari suspensi primer.

Penentuan Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Bawang Sabrang dengan Metode Modifikasi Difusi Agar. Dibuat serial pengenceran dari ekstrak bawang sabrang dengan 8 konsentrasi yang berbeda yaitu 1%, 5%, 10%, 15%, 25%, 50%, 75% dan 100% dengan menggunakan media mueller-Hinton cair sebagai larutan pengencer. Pada cawan petri, masukkan 1 ml suspensi bakteri uji $1,5 \times 10^8$ CFU/ml (0,5 Mc Farland) dan 30 ml agar Mueller-Hinton pada suhu 37°C selagi masih cair, campurkan suspensi bakteri dan agar Mueller - Hinton tersebut dengan cara menggoyang-goyangkan di atas permukaan yang rata hingga campuran homogen dan biarkan hingga mengeras. Tiap satu lempeng media agar Mueller - Hinton dibuat 3 sampai 4 sumur dengan kedalaman masing masing

sumur 5 mm dan diameter 8 mm. Sumur-sumur tersebut diisi dengan ekstrak bawang sabrang dari 8 serial konsentrasi, dengan volume masing-masing 250 µl. Kemudian inkubasi pada suhu 37°C selama 20 jam. Diamati dan diukur zona hambat yang terjadi pada setiap sumur dengan menggunakan kaliper.

Penentuan Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM). Disiapkan 11 tabung reaksi yang bersih dan steril, kemudian masukan 1 ml ekstrak etanol bawang sabrang pada masing-masing tabung reaksi konsentrasi 1%, 5%, 10%, 15%, 25%, 50%, 75% dan 100% dengan menggunakan media cair Mueller-hinton sebagai larutan pengencer. Pada masing-masing tabung 1-11 ditambahkan 1 ml suspensi bakteri uji sekunder (1×10^6). Semua tabung 1-11 diinkubasi selama 20 jam pada suhu 37°C. Kemudian amati hasil kekeruhan yang terjadi pada masing-masing tabung. Tabung yang tidak menunjukkan adanya kekeruhan (jernih) dilakukan subkultur pada media agar Mueller-hinton dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 20 jam. Nilai KBM ditentukan dengan melihat konsentrasi ekstrak terendah yang tidak menunjukkan adanya kekeruhan pada media cari Mueller-Hinton dan tidak menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri pada media agar Mueller-Hinton.

Penentuan Waktu Kontak Ekstrak Etanol Bawang Sabrang terhadap *Shigella dysenteriae* dan *Salmonella enteritidis* secara *in vitro*. Pemeriksaan waktu kontak dilakukan berdasarkan hasil penentuan nilai KBM ekstrak etanol bawang sabrang terhadap masing-masing bakteri uji. Siapkan 12 tabung steril reaksi masing-masing diisi dengan 1 ml ekstrak etanol bawang sabrang dengan konsentrasi yang memberikan nilai KBM pada *Shigella dysenteriae* dan juga masing-masing tabung dimasukkan 1 ml suspensi *Shigella dysenteriae* dalam media cair Mueller Hinton dengan jumlah bakteri 1×10^6 CFU/ml. Untuk bakteri *Salmonella enteritidis*, dilakukan hal yang sama yaitu 12 tabung steril reaksi masing-masing diisi dengan 1 ml ekstrak etanol bawang sabrang dengan konsentrasi yang memberikan nilai KBM pada *Salmonella enteritidis* dan juga masing-masing tabung dimasukkan 1 ml suspensi *Salmonella enteritidis* dalam media cair Mueller Hinton dengan jumlah bakteri 1×10^6 CFU/ml. Kemudian semua tabung pengujian *Shigella dysenteriae* dan *Salmonella enteritidis* di inkubasi pada suhu 37°C Pada jam ke 2, 4, 6 dan 8 setelah di inkubasi diambil masing-masing 3 tabung dari *Shigella dysenteriae* untuk ditanam pada media agar Mueller-Hinton dan dinkubasi kembali selama 20 jam. Untuk *Salmonella enteritidis* diinkubasi pada suhu 37°C dan pada menit ke 5, 10, 15 dan 20 setelah inkubasi diambil masing-masing 3 tabung dari

Salmonella enteritidis untuk ditanam pada media agar Mueller-Hinton selama 20 jam. Kemudian dihitung jumlah koloni pada masing-masing media agar Mueller-Hinton sesuai dengan nilai KBM dan waktu kontakanya dari tiap bakteri uji.

Interval waktu yang menunjukkan terjadinya penurunan jumlah koloni bakteri $\geq 99,9\%$ CFU/ml dari jumlah bakteri awal dinyatakan sebagai waktu kontak. Jumlah bakteri awal diperiksa dengan cara membuat pengenceran 150 kali dari 0,5 Mc Farland dengan menggunakan media cair Mueller-Hinton sebagai pengencernya, kemudian di inokulasikan pada plat media agar Mueller-Hinton, diinkubasi pada suhu 37°C selama 20 jam dan dihitung jumlah koloni yang tumbuh dengan satuan CFU/ml, pemeriksaan dilakukan dengan 4 kali ulangan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

HASIL. Data hasil pengujian aktifitas antibakteri dengan mengukur diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* dan *Salmonella enteritidis* oleh ekstrak bawang sabrang dengan metode modifikasi difusi agar (Lihat Tabel 1) menunjukkan zona hambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* terjadi pada konsentrasi 25% sebesar $7,61 \pm 0,02$ mm dan semakin meningkat sampai pada konsentrasi 100% yaitu $18,21 \pm 0,07$ mm. Sedangkan pada *Salmonella enteritidis* zona hambat pertumbuhan terjadi pada konsentrasi 75% yaitu sebesar $11,13 \pm 0,02$ mm dan konsentrasi 100% sebesar $20,51 \pm 0,03$ mm.

Konsentrasi bunuh minimal (KBM) adalah konsentrasi ekstrak bawang sabrang terendah yang dapat membunuh bakteri *Shigella dysenteriae* dan *Salmonella enteritidis* hingga terjadi penurunan jumlah bakteri $\geq 99,9\%$ dari jumlah bakteri awal. Data hasil penelitian menunjukkan (Lihat tabel 2), nilai KBM ekstrak bawang sabrang yang dapat membunuh bakteri *Shigella dysenteriae* pada konsentrasi 25%, sedangkan *Salmonella enteritidis* pada konsentrasi 75%.

Hasil analisis uji *one way anova* menunjukkan adanya perbedaan zona hambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* dan *Salmonella enteritidis* dengan nilai signifikansi p adalah 0,00 ($p < 0.05$) yang berarti terdapat perbedaan yang signifikan zona hambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* dan *Salmonella enteritidis*. Untuk melihat perbedaan zona hambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* dilanjutkan dengan uji *post hoc* menunjukkan nilai p adalah 0,00 ($p < 0.05$) pada konsentrasi ekstrak etanol bawang sabrang 25%, 50%, 75% dan 100%. Sedangkan pada bakteri *Salmonella enteritidis* uji *post hoc* menunjukkan nilai p adalah 0,000 ($p < 0.05$)

Tabel 1. Perbandingan diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysentriae* dan *Salmonella enteritidis* oleh berbagai konsentrasi ekstrak etanol bawang sabrang dengan metode modifikasi difusi agar.

Jenis bakteri	Konsentrasi ekstrak bawang sabrang	Rata-rata diameter zona hambat (mm)
<i>Shigella dysentriae</i>	1 %	0,00 ± 0,00
	10%	0,00 ± 0,00
	15%	0,00 ± 0,00
	25%	7,61 ± 0,02
	50%	8,69 ± 0,03
	75%	9,49 ± 0,05
	100%	18,21 ± 0,07
<i>Salmonella enteritidis</i>	1 %	0,00 ± 0,00
	10%	0,00 ± 0,00
	15%	0,00 ± 0,00
	25%	0,00 ± 0,00
	50%	0,00 ± 0,00
	75%	11,13 ± 0,02
	100%	20,51 ± 0,03

Tabel 2. Nilai konsentrasi hambat minimum ekstrak etanol bawang sabrang terhadap pertumbuhan *Shigella dysentriae* dan *Salmonella enteritidis*.

Konsentrasi (%) ekstrak bawang sabrang	Pertumbuhan koloni bakteri	
	<i>Shigella dysentriae</i>	<i>Salmonella enteritidis</i>
1 %	+	+
5%	+	+
10%	+	+
15%	+	+
25%	-	+
50%	-	+
75%	-	-
100%	-	-
Kontrol media	-	-
Kontrol media + ekstrak	-	-
Kontrol media + bakteri	+	+

Keterangan: (+) : terdapat pertumbuhan bakteri pada media MHA; (-) : tidak terdapat pertumbuhan pada media MHA

pada konsentrasi ekstrak etanol bawang sabrang 75% dan 100%.

Waktu kontak adalah waktu yang dibutuhkan ekstrak etanol bawang sabrang (*Eleutherine americana Merr*) yang pada konsentrasi tertentu mampu membunuh bakteri hingga terjadi penurunan bakteri $\geq 99,9\%$ dari jumlah bakteri awal. Pada penelitian ini penentuan waktu kontak digunakan berdasarkan nilai KBM sebagai tolak ukur konsentrasi awal ekstrak etanol bawang sabrang. Kemudian untuk melihat efek konsentrasi ekstrak etanol bawang sabrang terhadap daya bunuh bakteri dari nilai KBM dinaikan dengan kelipatan dua. Hasil penelitian menunjukkan pengaruh waktu kontak ekstrak bawang sabrang konsentrasi 25% terhadap pertumbuhan jumlah koloni (CFU) bakteri *Shigella dysentriae* (lihat tabel 3) mulai dari 2 jam dengan jumlah koloni adalah 293 CFU/ml dan nilai pertumbuhan ini terus mengalami penurunan sampai pada waktu kontak 8 jam yaitu 81 CFU/ml.

Sedangkan pada konsentrasi yang lebih tinggi yaitu 50%, pada waktu kontak 4, 6 dan 8 jam sudah tidak terdapat pertumbuhan koloni bakteri *Shigella dysentriae*. Hasil uji statistik *one way anova* pada konsentrasi 25% menunjukkan nilai signifikansi

p adalah 0.000 ($p < 0.05$) yang berarti terdapat perbedaan yang signifikan pertumbuhan jumlah koloni (CFU/ml) bakteri *Shigella dysentriae* terhadap variasi waktu kontak pada konsentrasi 25% ekstrak bawang sabrang. Pengujian dilanjutkan ke uji *post hoc* dan diperoleh nilai p adalah 0.00 ($p < 0.05$) pada waktu kontak 6 dan 8 jam.

Sedangkan hasil uji statistik *one way anova* terhadap *Shigella dysentriae* konsentrasi 50% menunjukkan nilai signifikansi p adalah 0.00 ($p < 0.05$) yang berarti terdapat perbedaan yang signifikan pertumbuhan jumlah koloni (CFU/ml) bakteri *Shigella dysentriae* terhadap variasi waktu kontak pada konsentrasi 50% ekstrak bawang sabrang. Pengujian dilanjutkan ke uji *post hoc* dan diperoleh nilai p adalah 0.00 ($p < 0.05$) pada waktu kontak 4, 6 dan 8 jam.

Pada pertumbuhan koloni bakteri *Salmonella enteritidis* terhadap waktu kontak ekstrak etanol bawang sabrang (*Eleutherine americana Merr*), hasil penelitian menunjukkan (Lihat tabel 4) pada konsentrasi 75% dimulai waktu kontak 5 menit sampai dengan jumlah pertumbuhan koloni 147 CFU/ml terus mengalami penurunan sampai pada waktu kontak 20 menit dengan jumlah pertumbuhan koloni 38

Tabel 3. Pengaruh waktu kontak dan konsentrasi ekstrak bawang sabrang terhadap pertumbuhan jumlah koloni (CFU/ml) bakteri *Shigella dysenteriae*.

Waktu (jam)	Jumlah koloni (CFU/ml) bakteri <i>Shigella dysenteriae</i>	
	Konsentrasi ekstrak	Konsentrasi ekstrak
	25%	50%
2	293	119
4	217	0
6	156	0
8	81	0
Nilai p	0,00	0,00

Keterangan: $p > 0.05$ tidak terdapat perbedaan yang signifikan; $p < 0.05$ terdapat perbedaan yang signifikan

Tabel 4. Pengaruh waktu kontak dan konsentrasi ekstrak bawang sabrang terhadap pertumbuhan jumlah koloni (CFU/ml) bakteri *Salmonella enteritidis*.

Waktu (menit)	Jumlah koloni (CFU/ml) bakteri <i>Salmonella enteritidis</i>	
	Konsentrasi ekstrak	Konsentrasi ekstrak
	75%	100%
5	147	42
10	104	31
15	76	0
20	38	0
Nilai p	0,00	0,00

Keterangan: $p > 0.05$ tidak terdapat perbedaan yang signifikan; $p < 0.05$ terdapat perbedaan yang signifikan

CFU/ml sedangkan pada konsentrasi ekstrak etanol bawang sabrang 100% pada waktu kontak 15 dan 20 menit tidak terdapat pertumbuhan koloni bakteri *Salmonella enteritidis*. Hasil uji statistik *one way anova* pada jumlah koloni pertumbuhan *Salmonella enteritidis* terhadap ekstrak etanol bawang sabrang konsentrasi 75% menunjukkan nilai signifikansi p adalah 0.00 ($p < 0.05$) yang berarti terdapat perbedaan yang signifikan pertumbuhan jumlah koloni (CFU/ml) bakteri *Salmonella enteritidis* terhadap variasi waktu kontak pada konsentrasi 75% ekstrak etanol bawang sabrang. Pengujian dilanjutkan ke uji *Post Hoc* dan diperoleh nilai p adalah 0.000 ($p < 0.05$) pada semua waktu kontak.

Sedangkan hasil uji statistik *one way anova* pada jumlah koloni pertumbuhan *Salmonella enteritidis* terhadap konsentrasi ekstrak etanol bawang sabrang konsentrasi 100% menunjukkan nilai signifikansi p adalah 0.00 ($p < 0.05$) yang berarti terdapat perbedaan yang signifikan pertumbuhan jumlah koloni (CFU/ml) bakteri *Salmonella enteritidis* terhadap variasi waktu kontak pada konsentrasi 100% ekstrak bawang sabrang.

PEMBAHASAN. Pengujian aktifitas antibakteri dengan menggunakan metode modifikasi difusi agar bertujuan untuk memperlihatkan adanya aktifitas penghambatan pertumbuhan bakteri yang terjadi

saat ekstrak etanol bawang sabrang ditempatkan pada sumur yang dibuat di media MHA. Difusi ekstrak bawang sabrang pada berbagai konsentrasi akan menunjukkan besarnya zona hambat tersebut yang diukur diameternya dalam satuan milimeter. Kemampuan berdifusi ekstrak bawang sabrang pada media MHA menunjukkan sifat absorpsi dan distribusi yang baik pada media MHA. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak, maka semakin besar pula zona hambat yang ditunjukkan. Data pada Tabel 1 menunjukkan pada konsentrasi minimal 25% ekstrak bawang sabrang sudah terjadi penghambatan pertumbuhan bakteri. Hal ini berbeda dengan zona hambat yang terjadi pada pertumbuhan bakteri *Salmonella enteritidis*, dimana zona hambat pertumbuhan bakteri terjadi pada konsentrasi 75% dan 100%. Hal yang serupa juga teramati pada penentuan nilai KBM ekstrak bawang sabrang terhadap pertumbuhan *Shigella dysenteriae* dan *Salmonella enteritidis*. Tabel 2 menunjukkan tidak adanya pertumbuhan koloni *Shigella dysenteriae* terjadi mulai pada konsentrasi ekstrak bawang sabrang 25% sedangkan bakteri *Salmonella enteritidis* terjadi pada konsentrasi lebih tinggi yaitu 75%.

Bawang sabrang mengandung fenol, sterol, flobatanin, protein, steroid, tanin dan gula tereduksi yang memiliki aktifitas antibakteri kuat⁽²⁴⁾. Adanya perbedaan konsentrasi zona hambat pada bakteri *Shigella dysenteriae* dan *Salmonella enteritidis* disebabkan perbedaan sifat biokimia dari kedua bakteri tersebut. Bakteri *Shigella dysenteriae* merupakan bakteri yang tidak memfermentasikan laktosa tetapi menghasilkan asam tanpa menghasilkan gas, sedangkan *Shigella dysenteriae* tidak menghasilkan gas H_2S ⁽²⁵⁾. Aktifitas penghasil asam yang dilepaskan ke media MHA tanpa menghasilkan gas dari bakteri *Shigella dysenteriae* yang dapat meningkatkan penetrasi ekstrak bawang sabrang ke media sehingga meningkatkan aktifitas antibakteri. Sedangkan bakteri *Salmonella enteritidis* tidak menghasilkan asam tetapi menghasilkan gas H_2S yang dapat bereaksi dengan komponen fitokimia dalam ekstrak bawang sabrang sehingga mempengaruhi aktifitas antibakterinya⁽²⁵⁾.

Ekstrak etanol bawang sabrang (*Eleutherine americana Merr*), juga mengandung flavonoid yang memiliki efek antibakteri⁽²²⁾. Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri yaitu menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel dan menghambat metabolisme energi. Kemungkinan lain adalah flavonoid berperan secara langsung dengan mengganggu fungsi sel mikroorganisme dan penghambatan siklus sel bakteri *Shigella dysenteriae* dan *Salmonella enteritidis*⁽²⁶⁾. Flavonoid menghambat sintesis asam nukleat adalah cincin A dan B yang memegang peran penting dalam proses interkelas atau

ikatan hidrogen dengan menumpuk basa asam nukleat yang menghambat pembentukan DNA dan RNA⁽²⁶⁾.

Waktu kontak ekstrak etanol bawang sabrang juga dapat mempengaruhi aktifitas penghambatan pertumbuhan koloni bakteri *Shigella dysenteriae* dan *Salmonella enteritidis*. Pada Tabel 3 dan Tabel 4 menunjukkan semakin lama waktu kontak ekstrak bawang sabrang maka semakin tinggi daya hambat pertumbuhan koloni bakteri *Shigella dysenteriae* dan *Salmonella enteritidis*. Semakin lama waktu kontak ekstrak bawang sabrang dengan koloni pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* dan *Salmonella enteritidis* akan semakin meningkatkan efek antibakterinya hal ini disebabkan meningkatnya penetrasi senyawa-senyawa bioaktif yang terkandung dalam ekstrak bawang sabrang ke dalam sel bakteri, khususnya sel bakteri yang sedang bertumbuh.

Kandungan flavonoid, saponin, alkaloid pada ekstrak bawang sabrang merupakan zat aktif yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme secara *in vitro*⁽²²⁾. Senyawa alkil yang terdapat pada alkaloid dapat berinteraksi dengan membran sel bakteri, menyebabkan terjadinya mekanisme difusi elektrolit keluar menyebabkan bakteri lisis⁽²⁷⁾. Mekanisme saponin sebagai antimikroba adalah saponin akan membentuk ikatan kompleks irreversible dengan kolesterol atau sterol yang terdapat pada membran bakteri, menyebabkan terjadinya perubahan tegangan permukaan sel bakteri yang menyebabkan sel bakteri lisis⁽²⁸⁾. Flavonoid merupakan senyawa yang dapat masuk ke dalam sel bakteri gram negatif melalui porin dengan mekanisme difusi pasif, kemudian flavonoid akan berikatan dengan enzim dihidrofolat reductase (DHFR) yang akan menghambat aktivitas enzim girase. Adanya hambatan pada aktivitas enzim girase mengakibatkan sintesis asam nukleat dan mekanisme metabolisme energi bakteri terhambat⁽²⁷⁾.

Mekanisme yang terjadi adalah alkaloid dan saponin akan merusak permeabilitas dinding sel bakteri secara spontan yang mengakibatkan elektrolit bakteri keluar sel, keluarnya elektrolit bakteri mengakibatkan terjadinya perbedaan tekanan osmotik sehingga cairan dari luar bakteri sel akan terus masuk ke dalam bakteri melalui dinding sel menyebabkan terjadinya pemasukan cairan berlebih ke dalam sel bakteri yang pada akhirnya bakteri menjadi lisis dan mati⁽²⁵⁾, sehingga bila konsentrasi ekstrak bawang sabrang semakin tinggi, maka kerja alkaloid dan saponin sebagai zat antibakteri akan lebih dominan dibandingkan dengan kerja flavonoid yang menghambat kerja enzim girase ketika bakteri mengalami mekanisme pembelahan sel, sedangkan bila konsentrasinya rendah kerja flavonoid sebagai antibakteri akan lebih dominan dibandingkan dengan

alkaloid dan saponin. Hal ini dibuktikan bahwa pada pemeriksaan uji daya antibakteri metode dilusi dalam waktu 4 jam, 8 jam bersifat bakterisidal dan *Salmonella enteritidis* dalam waktu 5 menit, 10 menit juga bersifat bakterisidal, artinya terdapat interval waktu antara mekanisme bakterisidal, sehingga dapat dikatakan bahwa :

1. Alkaloid, saponin dan flavonoid bekerja secara sinergis, artinya untuk bakteri yang tidak melakukan pembelahan sel (tidak berkembang baik) akan mati oleh kerja alkaloid dan saponin, sedangkan untuk bakteri yang aktif melakukan perkembangbiakan (pembelahan sel) akan mati oleh kerja flavonoid. Pada konsentrasi rendah kerja alkaloid dan saponin sebagai zat antibakteri lebih dominan dibandingkan kerja flavonoid, sedangkan pada konsentrasi tinggi kerja flavonoid sebagai zat antibakteri lebih dominan dibandingkan alkaloid dan saponin⁽²⁵⁾.
2. Ekstrak bawang sabrang mempunyai efek bakteristatik atau bakterisidal terhadap *Shigella dysenteriae* dan *Salmonella enteritidis*, tergantung dari konsentrasi dan waktu kontak yang digunakan^(27,28).
3. Efek ekstrak bawang sabrang dapat berubah dari bakteristatik menjadi bakterisidal pada konsentrasi tinggi terhadap *Shigella dysenteriae* (50%) dan *Salmonella enteritidis* (100%) bila masing-masing menggunakan waktu kontak 20 menit.

Perbedaan nilai KBM dari ekstrak bawang sabrang terhadap *Shigella dysenteriae* dan *Salmonella enteritidis* dapat dikatakan bahwa ekstrak etanol bawang sabrang mempunyai sifat bakterisidal pada konsentrasi yang berbeda terhadap *Shigella dysenteriae* dan *Salmonella enteritidis* walaupun masih dalam satu famili *Enterobacteriaceae*.

Pada uji aktivitas mikroba, ekstrak etanol bawang sabrang (*Eleutherine americana* Merr) mempunyai efektivitas dalam menghambat pertumbuhan *E.coli* dengan nilai zona hambat 14,5 mm.31 Selanjutnya, di Thailand, Ekstrak etanol *Eleutherina americana* mempunyai aktivitas antibakteri terhadap semua *Campylobacter Spp* yang menginfeksi manusia dan ayam⁽²²⁾.

SIMPULAN

Daya antibakteri ekstrak etanol bawang sabrang terhadap *Shigella dysenteriae* terjadi pada konsentrasi 25%-100%, sedangkan *Salmonella enteritidis* pada konsentrasi 75%-100%. Terdapat perbedaan daya antibakteri ekstrak etanol bawang sabrang pada jumlah koloni bakteri *Shigella dysenteriae*

dan *Salmonella enteritidis* dengan penambahan waktu kontak. Diperlukan penelitian lebih lanjut pengaruh konsentrasi ekstrak etanol bawang sabrang (*Eleutherine americana* Merr) dan waktu kontak terhadap perubahan efek antibakteri dari bakteriostatik menjadi bakterisidal terhadap *Shigella dysenteriae* dan *Salmonella enteritidis* secara *in vivo*.

DAFTAR PUSTAKA

4. Omore, Audia, Ogwel. Defining the burden and epidemiology of *shigellosis* in rural Asembo, Western Kenya, 2007-2014. American journal of tropical medicine and hygiene; USA : 2017
5. Agrawal R, Dharmesh S. An anti-*Shigella dysenteriae* bacteriocin from *Pediococcus pentosaceus* MTCC 5151 cheese isolate. Turkish Journal of Biology. 2012. 36 (2):177-85.
6. Orrett FA. Prevalence of *Shigella serogroups* and their antimicrobial resistance patterns in southern Trinidad. Journal of health, population and nutrition. 2008. 26(4):456.
7. Departemen Kesehatan RI Survei Kesehatan Nasional 2015. Laporan studi mortalitas pola penyakit penyebab kematian di Indonesia. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan; 2015
8. Bardhan P, Faruque A, Naheed A, Sack DA. Decreasing *Shigellosis*-related deaths without *Shigella spp.*-specific interventions, Asia. Emerging infectious diseases. 2010. 16(11):1718.
9. Prihantoro T, Indra R, Sumarno S. Efek antibakteri ekstrak kulit buah delima (*punica granatum*) terhadap *Shigella dysenteriae* secara *in vitro*. Jurnal Kedokteran Brawijaya. 2013. 22(3):101-6.
10. Todar K. Bacterial resistance to antibiotics. Todar's online textbook of bacteriology. 2011. 4.p3
11. Singh K-KB, Ojha SC, Deris ZZ, Rahman RA. A 9-year study of *Shigellosis* in Northeast Malaysia: antimicrobial susceptibility and shifting species dominance. Journal of Public Health. 2011. 19(3):231-236.
12. Humphrey T. *Salmonella*, stress responses and food safety. Nature Reviews Microbiology. 2004. 2(6):504-509.
13. Majowicz SE, Musto J, Scallan E, Angulo FJ, Kirk M, O'Brien SJ, et al. The global burden of nontyphoidal *Salmonella* gastroenteritis. Clinical Infectious Diseases. 2010. 50(6):882-889.
14. Cattoir V, Weill F-X, Poirel L, Fabre L, Soussy C-J, Nordmann P. Prevalence of *qnr* genes in *Salmonella* in France. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2007. 59(4):751-754.
15. Ifesan BO, Hamtasin C, Mahabusarakam W, Voravuthikunchai SP. Assessment of anti-staphylococcal activity of partially purified fractions and pure compounds from *Eleutherine americana*. Journal of food protection. 2009. 72(2):354-9.
16. Chai SJ, White PL, Lathrop SL, Solghan SM, Medus C, McGlinchey BM, et al. *Salmonella enterica* serotype Enteritidis: increasing incidence of domestically acquired infections. Clinical Infectious Diseases. 2012. 54(suppl_5): S488-S97.
17. Tjaniadi P, Lesmana M, Subekti D, Machpud N, Komalarini S, Santoso W, et al. Antimicrobial resistance of bacterial pathogens associated with diarrheal patients in Indonesia. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 2003. 68(6):666-670.
18. Pavithra PS, Janani VS, Charumathi KH, Indumathy R, Potala S, Verma RS. Antibacterial activity of plants used in Indian herbal medicine. International Journal of Green Pharmacy (IJGP). 2010. 4(1).
19. Bartram T. Bartram's encyclopedia of herbal medicine. Hachette UK. 2013.
20. EL-Kamali HH, EL-Amir MY. Antibacterial activity and phytochemical screening of ethanolic extracts obtained from selected Sudanese medicinal plants. Current Research Journal of Biological Sciences. 2010. 2(2):143-146.
21. Sari LO. Pemanfaatan obat tradisional dengan pertimbangan manfaat dan keamanannya. Pharmaceutical Sciences and Research (PSR). 2012. 3(1):1-7.
22. Bent S. Herbal medicine in the United States: review of efficacy, safety, and regulation. Journal of general internal medicine. 2008. 23(6):854-9.
23. Oyekunle MA, Aiyelaagbe , Fafunso MA. Evaluation of the antimicrobial activity of saponins extract of *Sorghum bicolor L.* Moench. African Journal of Biotechnology. 2006. 5(23).
24. Dharma AP. Tanaman obat tradisional Indonesia. Balai Pustaka; 2006.
25. Putra RY, Haryati H, Mawarni L. Respons Pertumbuhan Dan Hasil Bawang Sabrang (*Eleutherine Americana* Merr) Pada Beberapa Jarak Tanam Dan Berbagai Tingkat Pemetongan Umbi Bibit. Agroekoteknologi. 2013. 1(1).
26. Ifesan BO, Hamtasin C, Mahabusarakam W, Voravuthikunchai SP. Assessment of anti-staphylococcal activity of partially purified fractions and pure compounds from *Eleutherine americana*. Journal of food protection. 2009. 72(2):354-359.
27. Ali, Mir Naiman, Mazharuddin Khan Mohd, and Mohiuddin Majid. Ethanol fuel production through microbial extracellular enzymatic hydrolysis and fermentation from renewable agrobased cellulosic wastes. International Journal of Pharma and Bio Sciences. 2011. 2(2).
28. Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology. Text Book Medical Mikrobiologi. Geo F. Brooks; Edisi 25. 2012. p. 230-235
29. Taneja, Neelam. "Changing epidemiology of *shigellosis* and emergence of ciprofloxacin-resistant *Shigella* in India." Journal of Clinical Microbiology. 2007. 45(2): 678-679.
30. Mahon, Connie R., Donald C. Lehman, and George Manuselis. Textbook of diagnostic microbiology-E-

- Book. Elsevier Health Sciences. 2014.
31. Dewi, Intan Kusuma, Joharman Joharman, and Lia Yulia Budiarti. Perbandingan daya hambat ekstrak etanol dengan sediaan sirup herbal buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*) terhadap pertumbuhan *Shigella dysenteriae in vitro*. Berkala Kedokteran. 2013. 9(2): 191-198.
 32. Eswarappa, Sandeepa M, "Differentially evolved genes of *Salmonella* pathogenicity islands: insights into the mechanism of host specificity in *Salmonella*." PLOS one 3.12. 2008. e3829.
 33. Indonesia, S. N. Batas maksimum cemaran mikroba dalam pangan. SNI, 7388. 2009.
 34. Insanu, Kusmardiyani and Hartati, R. Recent Studies on Phytochemicals and Pharmacological Effects of *Eleutherine americana Merr.* Procedia Chemistry, 13. 2008. p. 221-228.