

FORMULASI GEL EKSTRAK ETANOL DAUN AFRIKA (*Vernonia amygdalina* DEL) SEBAGAI ANTIBAKTERI *Staphylococcus aureus* DAN *Pseudomonas aeruginosa*

Debi Meilani*, Melati Yulia Kusumastuti

Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Nusantara Al Washliyah, Jl. Garu II No. 93, Medan

** email: dbimeilani@gmail.com*

ABSTRACT

*Infection is one of the most common illnesses suffered by Indonesian residents. One of the plants that can be used as medicine is African leaves (*Vernonia amygdalina* Del). This study aimed to test the antibacterial effect of ethanol extracts of African leaves on the bacteria *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*, to formulate them in gel form and to test the antibacterial effect of the gel on the same bacterias. The stages of this research include extraction of ethanol extracts of African leaves using percolation methods, phytochemical screening and testing the antibacterial effects of extracts on *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* with concentrations of 500 mg / ml, 400 mg / ml, 300 mg / ml, 200 mg / ml. The data obtained will show the minimum inhibitory content of ethanol extract of African leaves as an antibacterial. The research stage was continued by formulating the ethanol extract of African leaves in gel dosage form with dose of extracts that according to the results of the bacterial extract test, then testing the antibacterial effect of the gel against the same bacterias. The results showed that the ethanol extract of African leaves contained secondary metabolites of alkaloids, flavonoids, saponins, tannins, and steroids / triterpenoids. Antibacterial test results showed the value of the minimum inhibitory levels against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* at a concentration of 200 mg / ml with inhibition area diameters of 14.23 mm and 14.20 mm. The results of the analysis of the antibacterial gel test showed the value of the minimum inhibitory levels against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* at a dose of 20% with a diameter of inhibition area of 14.36 mm and 14.35 mm.*

Key words: Antibacterial, African leaf ethanol extract gel, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Vernonia amygdalina* Del

PENDAHULUAN

Infeksi merupakan salah satu penyakit yang paling banyak diderita oleh penduduk Indonesia. Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai obat adalah daun afrika (*Vernonia amygdalina* Del). Penelitian terdahulu, Adiukwu dkk (2013) menemukan bahwa ekstrak air daun afrika mempunyai aktivitas anti inflamasi dan antipiretik. Ibrahim dkk (2011) menemukan bahwa ekstrak etanol daun afrika mempunyai aktivitas analgesik. Meilani dan Murni (2015) menemukan bahwa ekstrak etanol daun afrika yang tumbuh di Indonesia mengandung berbagai golongan senyawa metabolit sekunder diantaranya flavonoid, tannin dan saponin yyang diketahui secara luas mempunyai khasiat antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk menguji efek antibakteri dari ekstrak etanol daun afrika terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*, memformulasinya

dalam bentuk sediaan gel dan menguji efek antibakteri dari gel tersebut terhadap kedua bakteri yang sama.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan variabel bebas adalah dosis / konsentrasi ekstrak etanol daun afrika sedangkan variabel terikat adalah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Afrika.

Daun afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) segar diambil secara purposif, dicuci dengan air bersih, ditiriskan dan dikeringkan di lemari pengering sampai sampel bebas air, lalu dihaluskan. Pemeriksaan karakterisasi simplisia meliputi penetapan kadar air, penetapan kadar sari larut dalam air, penetapan kadar sari larut dalam etanol, penetapan kadar abu total, dan penetapan kadar abu tidak larut asam (Ditjen POM, 1979). Serbuk simplisia yang diperoleh selanjutnya diekstraksi menggunakan pelarut etanol 96% secara perkolasi. Ekstrak kemudian diuapkan pelarutnya dengan *rotary vakum evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental (Depkes, 1979). Selanjutnya dilakukan skrining fitokimia terhadap serbuk simplisia dan ekstrak etanol daun afrika.

Pembuatan stok kultur bakteri

Masing-masing sebanyak 1 ose dari biakan murni bakteri *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* digoreskan pada permukaan media NA yang telah memadat, diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 36-37°C.

Pembuatan inokulum mikroba

Mikroba hasil inkubasi di media NA diambil dengan menggunakan jarum ose steril lalu disuspensikan ke dalam tabung yang berisi 10 ml larutan NaCl 0,9% steril, kemudian dihomogenkan hingga diperoleh kekeruhan suspensi mikroba yang sama dengan kekeruhan standar *Mc. Farland* yaitu 10^8 CFU/ml, setelah itu dilakukan pengenceran dengan cara dipipet 0,1 ml biakan mikroba dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril yang berisikan NaCl 0,9% sebanyak 9,9 ml kemudian digetarkan dengan *vortex* hingga homogen, maka diperoleh suspensi mikroba dengan konsentrasi 10^6 CFU/ml (Ditjen POM, 1979).

Identifikasi bakteri

Untuk memastikan bakteri uji yang digunakan dilakukan identifikasi bakteri yaitu dengan pewarnaan gram. Sedikit bakteri diambil dari stok kultur, diletakkan diatas objek glass. Kemudian difiksasi diatas api bunsen, selanjutnya ditetesi karbol fuksin, ditunggu beberapa saat lalu ditetesi dengan gentian violet, kemudian ditetesi lugol. Dicuci dengan alkohol dan dibilas dengan air mengalir, kemudian ditetesi safranin.

Uji Aktivitas Antimikroba Dengan Metode Difusi Agar

Sebanyak 20 ml media MHA cair dituangkan ke dalam cawan petri steril kemudian ditunggu hingga memadat. Setelah itu diambil suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*, dengan konsentrasi 10^6 CFU/ml menggunakan *swab* steril, lalu digoreskan diatas permukaan media. Setelah itu dimasukkan cakram kertas yang telah ditetesi 0,1 ml larutan uji ekstrak etanol dengan berbagai konsentrasi, kemudian diinkubasi pada suhu 36-37°C selama 18-24 jam. Selanjutnya diukur diameter daya hambat dengan menggunakan jangka sorong. Pengujian dilakukan sebanyak tiga kali.

Pembuatan Gel Ekstrak Etanol Daun Afrika dan Pengujian Antibakteri

Formula pembuatan dasar gel dalam Ditjen POM (1985), sebagai berikut :

R/ Na-CMC 4 g
Gliserin 15 g
Metil Paraben 0,17 g
Air suling ad 100 ml

Pembuatan dasar gel dilakukan dengan cara : ditimbang seluruh bahan, kemudian diukur 80 ml air suling yang sebelumnya telah dipanaskan hingga mendidih dimasukkan ke dalam lumpang, kemudian ditaburi 4 g Na-CMC secara menyebar, kemudian lumpang ditutup dan disimpan ditempat yang gelap selama 30 menit. Metil paraben sebanyak 0,17 g dilarutkan ke dalam 20 ml air suling yang sebelumnya telah dididihkan. Setelah 30 menit, Na-CMC digerus kuat hingga homogen dan massa menjadi transparan, kemudian ditambahkan larutan metil paraben dan digerus homogen. Kemudian, ditambahkan gliserin yang telah ditimbang sebanyak 15 g dan digerus hingga gel homogen. Setelah dasar gel terbentuk, maka dasar gel dan ekstrak etanol daun afrika ditimbang sesuai konsentrasi hasil uji kadar hambat minimum ekstrak terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* dan dinyatakan dalam persentase (%) digerus kembali didalam lumpang hingga homogen. Evaluasi sediaan gel meliputi pemeriksaan organoleptis, homogenitas dan pemeriksaan pH selama 35 hari. Lalu dilakukan uji efek antibakteri dari gel tersebut terhadap kedua bakteri tersebut.

PEMBAHASAN

Hasil pemeriksaan karakterisasi simplisia seperti ditunjukkan pada tabel 4.1 berikut.

Tabel 4.1. Hasil Pemeriksaan Karakterisasi Serbuk Simplisia Daun Afrika

No	Pemeriksaan	Perolehan kadar %	Persyaratan MMI (%)
1	Kadar air	7,32%	<10%
2	Kadar sari larut dalam air	20,36%	8-35%
3	Kadar sari larut dalam etanol	17,85%	5-26%
4	Kadar abu total	9,52%	1-10%
5	Kadar abu yang tidak larut dalam asam	1,2%	<14%

Dari tabel diatas terlihat bahwa simplisia yang dihasilkan memenuhi persyaratan mutu Materia Medika Indonesia (Depkes, 1979) sehingga dapat dilanjutkan ke tahap selanjutnya. Selanjutnya dilakukam pengujian skrining fitokimia.

Tabel 4.2 Hasil skrining fitokimia serbuk simplisia daun afrika

No	Golongan Senyawa Kimia	Hasil Serbuk	Hasil Ekstrak
1.	Alkaloid	+	+
2.	Flavonoid	+	+
3.	Saponin	+	+
4.	Tanin	+	+
5.	Steroid/Triterpenoid	+	+
6.	Glikosida	-	-

Berdasarkan hasil skrining fitokimia serbuk daun afrika, menunjukkan adanya senyawa kimia golongan flavonoid, saponin, tannin, steroid/triterpenoid dan alkaloida, sedangkan pada ekstrak daun afrika menunjukkan adanya senyawa kimia yang tidak jauh berbeda dengan serbuk pada ekstrak daun afrika.

Hasil identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* menunjukkan secara makroskopik makroskopik warna koloni kuning keemasan, bentuk koloni bulat, saat uji pewarnaan gram berwarna ungu menunjukkan Gram positif. Sedangkan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* secara makroskopik yaitu warna koloni kehijauan, tepi koloni berombak, permukaan halus. Secara mikroskopik bentuk selnya basil, pada saat pewarnaan gram berwarna merah menunjukkan bakteri Gram negatif.

Hasil uji aktivitas zona hambat antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun afrika dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, dan *Pseudomonas aeruginosa*. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak akan menghasilkan diameter daerah hambat yang semakin besar. Hasil pengukuran diameter daerah hambat ekstrak etanol daun afrika dapat dilihat pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3 Hasil uji Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Afrika

No.	Konsentrasi ekstrak (mg/ml)	Diameter Zona Hambat (mm)	
		<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
1	500	17,15 mm	17,28 mm
2	400	16,20 mm	15,33 mm
3	300	15,41 mm	14,98 mm
4	200	14,23 mm	14,20 mm
12	Blangko (Etanol 96%)	-	-

Menurut Ditjen POM (1995), diameter hambat antimikroba yang paling efektif pada uji antimikroba adalah 14 sampai 16 mm. Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun afrika dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif yaitu *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 200 mg/ml dengan diameter daerah hambat sebesar 14,23 mm, dan juga dapat menghambat bakteri Gram negatif yaitu *Pseudomonas aeruginosa* pada konsentrasi 200 mg/ml dengan diameter 14,20 mm,

Berdasarkan hasil uji antibakteri ekstrak etanol dan afrika diatas, selanjutnya diformulasi gel dengan dosis ekstrak 20%, 30% dan 40%. Hasil evaluasi sediaan menunjukkan ketiga gel stabil pada penyimpanan selama 35 hari seperti terlihat pada tabel 4.4..

Tabel 4.4. Hasil Evaluasi Sediaan

Pengamatan	Sediaan	Lama pengamatan (hari)					
		0	7	14	21	28	35
Bentuk	Formula I	B	B	B	B	B	B
	Formula II	B	B	B	B	B	B
	Formula III	B	B	B	B	B	B
Warna	Formula I	HK	HK	HK	HK	HK	HK
	Formula II	HK	HK	HK	HK	HK	HK
	Formula III	HK	HK	HK	HK	HK	HK

Bau	Formula I	Bk	Bk	bk	bk	Bk	Bk
	Formula II	Bk	Bk	bk	bk	Bk	Bk
	Formula III	Bk	Bk	bk	bk	Bk	Bk
Homogenitas	Formula I	H	H	h	H	H	H
	Formula II	H	H	h	H	H	H
	Formula III	H	H	h	H	H	H
pH	Formula I	6,1	6,1	6,0	6,0	6,0	5,9
	Formula II	6,0	6,0	5,9	5,8	5,8	5,8
	Formula III	6,0	5,9	5,9	5,9	5,9	5,8

Keterangan :

Formula I : Formula mengandung 20% ekstrak etanol daun afrika

Formula II : Formula mengandung 30 % ekstrak etanol daun afrika

Formula III : Formula mengandung 40 % ekstrak etanol daun afrika

B : Baik

HK : Hijau Kehitaman

BK : Bau Khas

H : Homogen

Hasil uji aktivitas antibakteri dari gel ekstrak etanol daun afrika menunjukkan hasil bahwa gel ekstrak etanol daun afrika dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, dan *Pseudomonas aeruginosa*. Hasil pengukuran diameter daerah hambat gel ekstrak etanol daun afrika dapat dilihat pada Tabel 4.5.

Tabel 4.5 Hasil Uji Antibakteri Gel Ekstrak Etanol Daun Afrika

No.	Konsentrasi ekstrak (mg/ml)	Diameter Zona Hambat (mm)	
		<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
1	F I	14,36 mm	14,35 mm
2	F II	15,00 mm	15,35 mm
3	F III	15,79 mm	16,23 mm
4	Dasar gel	-	-

Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun afrika dosis mulai 20% dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif yaitu *Staphylococcus aureus* dan juga bakteri Gram negatif yaitu *Pseudomonas aeruginosa*.

KESIMPULAN

Serbuk simplisia dan ekstrak etanol daun afrika (*Vernonia amygdalina* Del) mengandung senyawa metabolit sekunder golongan alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan steroid/triterpenoid. Hasil uji antibakteri ekstrak etanol daun afrika menunjukkan nilai kadar hambat minimum terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* pada konsentrasi 200 mg/ml dengan diameter daerah hambat sebesar 14,23 mm dan 14,20 mm. Hasil uji antibakteri gel menunjukkan nilai kadar hambat minimum terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* pada dosis 20% dengan diameter daerah hambat

sebesar 14,36 mm dan 14,35 mm. Gel ekstrak etanol daun afrika stabil selama 35 hari penyimpanan.

DAFTAR PUSTAKA

- Adiukwu, P.C, Kayanja, F.I.B, Nambatya, G, Adzu, B, Twinomujuni, Twikirize, O, Ganiyu, A.A, Uwiduhaye, E, Agwu, E, Tanayen, J.K, Nuwagira, P, Buzaare, P (2013). *Anti inflammatory and Anti-Pyretic Activity of the Leaf, Root and Saponin Fraction from Vernonia amygdalina*. British Journal of Pharmacology and Toxicology. 4(2):33-40.
- Ditjen POM., 1979. *Farmakope Indonesia*. Edisi III. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. Hal XXX.
- Ditjen POM., 1989. *Materia Medika Indonesia*. Jilid V. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. Hal 513-520, 536-553.
- Ditjen POM., 1985. *Formularium Kosmetika Indonesia*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. Hal 195.
- Ditjen POM, 1995. *Farmakope Indonesia*. Edisi IV. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. Hal 7.
- Ibrahim, G., Abdurahman, E. M., dan Ibrahim, H., Ibrahim, N. D. G., Magaji, M. G 2011. *Toxicity and Analgesic Effect of Vernonia amygdalina Del. Leaf (Asteraceae) Extract on Mice*. Int. J.Adv.Pharm.Biol.Sci. 1(1): 1-
- Meilani, D dan Murni, N, 2015, Karakterisasi Simplisia, Skrining Fitokimia dan Pemanfaatan Gel Ekstrak Etanol Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del) Sebagai Obat Luka Bakar Tingkat II. Jurnal Kultura 16 (1) 5308-5314. 2015