

AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK GRAPTOPHYLLUM PICTUM (L.) GRIFF MENGGUNAKAN VARIASI FREKUENSI ULTRASONIK TERHADAP SALMONELLA TYPHI

¹Annisa Fitria Nur, ^{2*}Meiskha Bahar, ³Yanti Harjono Hadiwiardjo, ⁴Yuni Setyaningsih

^{1,2}Departemen Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Pembangunan Nasional "Veteran" Jakarta, Indonesia

³Departemen Ilmu Kesehatan Masyarakat, Fakultas Kedokteran, Universitas Pembangunan Nasional "Veteran" Jakarta

⁴Departemen Parasitologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Pembangunan Nasional "Veteran" Jakarta, Indonesia

Corresponding author's : annisafitrianur@gmail.com

ABSTRACT

Salmonella typhi is a bacteria that causes typhoid fever, which exhibits a considerable prevalence worldwide. The emergence of multidrug-resistant *S. typhi* (MDRST) presents a new challenge in managing typhoid. Purple leaves (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff) contains phytochemical compounds such as tannin, alkaloids, flavonoids, and saponin, which known to have antibacterial activity. This study investigated the impact of various ultrasonic frequencies (30 kHz, 40 kHz, 50 kHz) on the antibacterial effectiveness of purple leaves extract against *S. typhi*. Using ultrasound-assisted extraction (UAE) with 70% ethanol at 45°C for 20 minutes, the experiment revealed that ultrasonic extraction at frequencies of 30 kHz, 40 kHz, and 50 kHz demonstrates the ability to inhibit the growth of *S. typhi*. The average diameter of the inhibition zone was measured as 3.67 mm, 8.39 mm, and 5.52 mm, respectively. Statistical analysis using Kruskal-Wallis test and Mann-Whitney Post-Hoc test confirmed significant differences between each pair of treatment groups ($P < 0.05$). It can be concluded that different ultrasonic frequencies influence the effectiveness of purple leaf extract in inhibiting the growth of *S. typhi* and the most optimal frequency is 40 kHz, which has the best cavitation effect in breaking the purple leaves cell walls so that maximum target compounds can be obtained.

Keywords: Antibacterial, Purple leaves, *Salmonella typhi*, Ultrasound assisted extraction.

ABSTRAK

Salmonella typhi adalah bakteri penyebab demam tifoid, yang menunjukkan prevalensi yang cukup besar di seluruh dunia. Munculnya *S. typhi* yang resisten terhadap berbagai macam obat (MDRST) memberikan tantangan baru dalam penanganan tifus. Daun ungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff) mengandung senyawa fitokimia seperti tanin, alkaloid, flavonoid, dan saponin yang diketahui memiliki aktivitas antibakteri. Penelitian ini menyelidiki dampak dari berbagai frekuensi ultrasonik (30 kHz, 40 kHz, 50 kHz) terhadap efektivitas antibakteri ekstrak daun ungu terhadap *S. typhi*. Menggunakan ekstraksi berbantuan ultrasonik (UAE) dengan etanol 70% pada suhu 45 °C selama 20 menit, percobaan menunjukkan bahwa ekstraksi ultrasonik pada frekuensi 30 kHz, 40 kHz, dan 50 kHz menunjukkan kemampuan untuk menghambat pertumbuhan *S. typhi*. Diameter rata-rata zona hambat diukur masing-masing sebesar 3,67 mm, 8,39 mm, dan 5,52 mm. Analisis statistik menggunakan uji Kruskal-Wallis dan uji Mann-Whitney Post-Hoc mengkonfirmasi perbedaan yang signifikan antara setiap pasangan kelompok perlakuan ($P < 0,05$). Dapat disimpulkan bahwa frekuensi ultrasonik yang berbeda berpengaruh terhadap efektivitas ekstrak daun ungu dalam menghambat pertumbuhan *S. typhi* dan frekuensi yang paling optimal adalah 40 kHz yang memiliki efek kavitasi paling baik dalam memecah dinding sel daun ungu sehingga dapat diperoleh senyawa target yang maksimal.

Kata kunci: Antibakteri, Daun ungu, *Salmonella typhi*, Ekstraksi dengan bantuan ultrasound.

1. Pendahuluan

Demam tifoid adalah infeksi akut pada usus kecil yang disebabkan oleh *Salmonella typhi*. Penyakit ini ditularkan melalui konsumsi makanan atau minuman yang terkontaminasi. Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) pada tahun 2019 memperkirakan beban global sebesar 9 juta kasus per tahun, yang mengakibatkan sekitar 110.000 kematian setiap tahunnya, dengan mayoritas terjadi di Asia Tenggara, Mediterania Timur, Afrika, dan Wilayah Pasifik Barat.¹

Penanganan utama demam tifoid adalah dengan pemberian antibiotik. Namun, efektivitas pengobatan antibiotik semakin menantang karena adanya *S. typhi* yang resisten terhadap berbagai jenis obat. Untuk mengatasi resistensi bakteri, ada kebutuhan untuk mengeksplorasi pengobatan baru, seperti memanfaatkan tanaman obat dari alam.

Daun ungu (*Graptophyllum pictum* (Linn) Griff) adalah tanaman obat yang secara tradisional digunakan untuk mengobati berbagai penyakit, yang dikenal sebagai antiinflamasi, pencahar, ambeien, abses, dan terapi penyakit kulit. Senyawa kimia dalam daun ungu termasuk flavonoid, tanin, alkaloid, dan saponin, yang dikenal karena sifat antibakteri.²

UEA adalah metode ekstraksi non-termal yang dikenal karena efektivitas dan efisiensinya. Gelombang ultrasonik menginduksi kavitasi, meningkatkan penetrasi cairan melalui membran sel, memfasilitasi pelepasan komponen sel, dan meningkatkan transfer massa. UEA menawarkan keuntungan seperti peningkatan penetrasi cairan, laju perpindahan massa yang lebih cepat, hasil ekstraksi yang lebih baik, penggunaan suhu rendah, volume pelarut minimal, dan waktu pemrosesan yang singkat³.

Salah satu faktor yang mempengaruhi ekstraksi UEA adalah frekuensi ekstraksi. Frekuensi yang berbeda menghasilkan efek antibakteri yang berbeda, tetapi frekuensi yang lebih tinggi tidak selalu berarti efek antibakteri yang lebih efektif. Oleh karena itu, penelitian sangat penting untuk memahami pengaruh frekuensi ultrasonik yang berbeda dalam menghasilkan ekstrak daun ungu (*G. pictum* (L.) Griff) yang efektif dalam menghambat pertumbuhan *S. typhi*.

2. Metode Penelitian

Jenis penelitian ini menggunakan desain eksperimental murni. Penelitian ini menilai efektivitas ekstrak daun ungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff) dengan frekuensi ultrasonik 30 kHz, 40 kHz, dan 50 kHz dalam menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi*, yang kemudian dibandingkan dengan kelompok kontrol yaitu kloramfenikol 2% (kontrol positif) dan aquadest (kontrol negatif).

Proses pembuatan ekstrak diawali dengan menimbang 200 gram simplisia daun ungu yang berbentuk serbuk kemudian dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer, lalu ditambahkan 1 liter etanol 70% ke dalam tabung tersebut sehingga perbandingan simplisia dan pelarut adalah 1:5. Labu erlenmeyer tersebut dimasukkan ke dalam penangas air ultrasonik yang telah diatur pada frekuensi 30 kHz, 40 kHz, dan 50 kHz selama 20 menit pada suhu 45°C seperti pada gambar 1. Kemudian ekstrak disaring menggunakan kertas saring Whatman no. 1 sehingga diperoleh filtrat yang bebas ampas. Filtrat kemudian diuapkan menggunakan rotary evaporator sehingga diperoleh ekstrak daun ungu yang kental dengan konsentrasi 100%. Kemudian dilakukan pengenceran dengan menggunakan akuades hingga ekstrak mencapai konsentrasi 70%.



Gambar 1. Proses ekstraksi menggunakan UEA

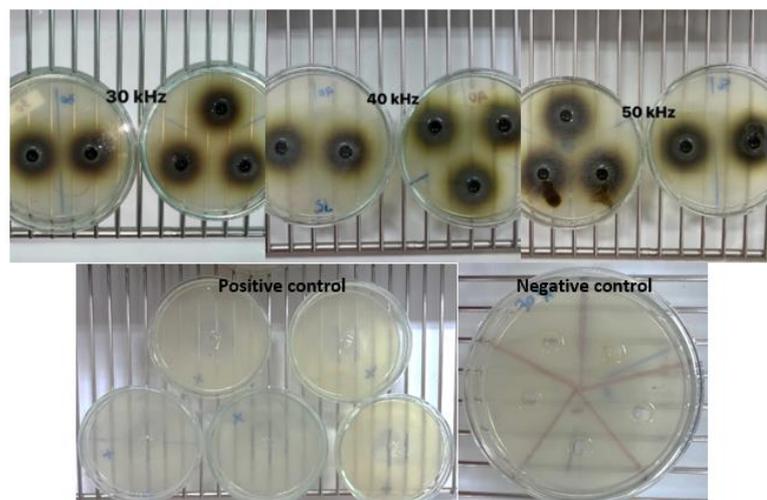
3. Hasil Penelitian

Perhitungan rendemen dilakukan pada ekstrak ultrasonik daun ungu pada frekuensi 30 khz, 40 khz dan 50 khz seperti pada tabel 1. Ditemukan bahwa frekuensi 40 khz menghasilkan bobot rendemen tertinggi yaitu 13,75% dan frekuensi 50 khz menghasilkan bobot rendemen paling sedikit yaitu 8,5%.

Tabel 1. Hasil Ekstrak Daun Ungu

Temperatur	Wakti	Frekuensi (kHz)	Berat Yang Diekstraksi (gram)	Hasil Esktrasi (%)
45°C	20 menit	30	21,1	10,55
		40	27,5	13,75
		50	17,0	8,5

Ekstrak daun ungu memiliki kemampuan antibakteri dengan menghambat pertumbuhan *S. typhi* yang dibuktikan dengan terbentuknya zona hambat yang jernih di sekitar sumuran setelah diinkubasi selama 24 jam seperti pada gambar 2. Zona hambat yang terbentuk kemudian diukur dengan menggunakan jangka sorong. Hasil pengukuran disajikan pada tabel 2.



Gambar 2. Zona Penghambatan setelah Inkubasi 24 Jam

Tabel 2. Zona Hambat Ekstrak Daun Ungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff) Tabel 2. Zona Hambat Ekstrak Daun Ungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff) Terhadap Pertumbuhan *S. typhi* (satuan dalam milimeter)

Repetisi	Frekuensi Ultrasonik			Kontrol	Kontrol
	30 kHz	40 kHz	50 kHz	Positif	Negatif
1	3.64	7.89	6.68	26.41	0
2	2.46	7.26	6.98	26.63	0
3	3.42	9.34	5.79	25.15	0
4	4.22	8.88	3.81	24.07	0
5	4.63	8.59	4.33	24.54	0
Rata-rata	3.67	8.39	5.52	25.36	0

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa daun ungu yang diekstraksi menggunakan metode Ultrasound Assisted Extraction (UAE) menghasilkan zona hambat yang berbeda-beda pada setiap kelompok perlakuan dengan frekuensi 30 kHz, 40 kHz, dan 50 kHz. Ekstrak daun ungu dengan frekuensi 40 kHz menunjukkan zona hambat yang paling besar, yaitu mencapai nilai rata-rata 8,39 mm.

Zona hambat dapat diklasifikasikan berdasarkan kategori kekuatan penghambatannya. Klasifikasi Davis dan Stout mengategorikan diameter zona hambat menjadi empat kelas yang berbeda, yaitu diameter zona hambat ≥ 20 mm memiliki daya hambat yang sangat kuat, diameter zona hambat 10-20 mm memiliki daya hambat yang kuat, diameter zona hambat 5-10 mm memiliki daya hambat yang sedang, dan diameter zona hambat ≤ 5 mm memiliki daya hambat yang lemah. Berdasarkan klasifikasi Davis dan Stout, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa frekuensi 30 kHz memiliki daya hambat yang lemah sedangkan frekuensi 40 kHz dan 50 kHz memiliki daya hambat yang sedang.

Tabel 3. Hasil Uji Kruskal Wallis

<i>Test Statistics Kruskal-Wallis</i>	
Asymp. Sig.	0.000

Hasil uji Kruskal-Wallis pada tabel 3 menyatakan nilai signifikansi sebesar 0,000 ($P < 0,05$), yang berarti terdapat minimal satu pasang kelompok yang memiliki perbedaan rata-rata zona hambat yang signifikan. Selanjutnya dilakukan uji post-hoc Mann-Whitney untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan yang signifikan antara kedua kelompok perlakuan.

Tabel 4. Hasil Uji Mann-Whitney Post-Hoc

Treatment Group		Asymp. Sig. (2-tailed)
30 kHz	40 kHz	0.009
	50 kHz	0.047
	Positive control	0.005
	Negative control	0.005
40 kHz	50 kHz	0.009
	Positive control	0.009
	Negative control	0.005
50 kHz	Positive control	0.009
	Negative control	0.005
Positive control	Negative control	0.005

Hasil uji Mann Whitney pada tabel 4 menyatakan bahwa semua pasangan kelompok memiliki nilai $P < 0,05$. Hal ini menunjukkan bahwa antara kelompok frekuensi 30 kHz, 40 kHz, 50 kHz, kontrol positif dan kontrol negatif memiliki perbedaan rata-rata zona hambat yang signifikan. Zona hambat pada *S.typhi* dapat dihasilkan karena adanya senyawa aktif yang terkandung dalam daun ungu.

Berdasarkan uji fitokimia, daun ungu positif mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin dan triterpenoid. Senyawa alkaloid dapat berperan sebagai antibakteri dengan cara mengganggu konstituen peptidoglikan pada sel bakteri, mencegah terbentuknya lapisan dinding sel dan pada akhirnya menyebabkan kematian sel bakteri.⁶ Mekanisme flavonoid sebagai antibakteri yaitu dengan cara mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel sehingga sel menjadi lisis.⁷ Senyawa tanin bekerja sebagai antibakteri dengan cara menghambat sintesis dinding sel dengan cara menonaktifkan enzim-enzim esensial.⁸ Senyawa triterpenoid bekerja sebagai antibakteri dengan cara menghambat sintesis dinding sel dengan cara menghambat sintesis dinding sel dengan cara menghambat sintesis enzim esensial.⁹ Senyawa saponin bekerja sebagai antibakteri dengan cara menghambat sintesis dinding sel dengan cara menghambat sintesis dinding sel dengan cara menghambat sintesis enzim esensial. Senyawa saponin berinteraksi dengan membran sel sehingga menyebabkan integritas membran menurun yang mengakibatkan membran sel menjadi lisis.⁹ Triterpenoid memiliki sifat antibakteri dengan cara menghambat penggunaan oksigen oleh bakteri. Ekstraksi ultrasonik dipengaruhi oleh frekuensi, suhu, dan waktu ekstraksi.

Proses ekstraksi daun jambu biji ungu pada penelitian ini menggunakan suhu 45°C, waktu ekstraksi 20 menit, dan tiga frekuensi yang berbeda, yaitu 30 kHz, 40 kHz, dan 50 kHz. Suhu 45°C dipilih karena menurut penelitian sebelumnya, dengan menggunakan suhu tersebut menghasilkan ekstrak daun jambu biji dengan total flavonoid dan tanin tertinggi. Suhu yang optimal dapat mempercepat perpindahan zat aktif tanaman ke dalam pelarut. Namun, jika suhu terlalu tinggi yaitu lebih dari 45°C dapat menyebabkan kerusakan pada bahan yang diolah sehingga terjadi penurunan total fenol.¹¹

Waktu ekstraksi pada penelitian ini adalah 20 menit. Pemilihan ini didasarkan pada penelitian sebelumnya oleh Ardianti dan Kusnadi (2014) yang membandingkan waktu ekstraksi 10 menit, 20 menit dan 30 menit pada daun berenuk dengan metode UAE. Hasil penelitian menunjukkan bahwa waktu ekstraksi 20 menit merupakan waktu ekstraksi yang optimal untuk mengekstrak senyawa antibakteri dari daun berenuk.¹²

Dari penelitian ini didapatkan hasil bahwa frekuensi 40 kHz¹³, memberikan hasil yang paling baik dibandingkan dengan frekuensi 30 kHz dan 50 kHz, dengan rata-rata

diameter zona hambat sebesar 8,39 mm. Hal ini sejalan dengan penelitian Chen dkk. (2021) yang menyatakan bahwa hasil ekstraksi pektin jeruk pada frekuensi 40 kHz menghasilkan aktivitas antioksidan yang paling optimal dibandingkan dengan frekuensi 20 kHz dan 60 kHz. Frekuensi di bawah 40 kHz dapat memberikan efek kavitas pada struktur sel kulit jeruk, meskipun intensitas kavitas tidak sekuat frekuensi 40 kHz. Penelitian serupa yang dilakukan oleh Zhang dkk. (2017) menyatakan bahwa frekuensi 40 kHz dapat meningkatkan hasil ekstraksi dari minyak kacang tanah dibandingkan dengan frekuensi 20 kHz, 28 kHz, dan 60 kHz. Hal ini membuktikan bahwa frekuensi ultrasonik dapat mempengaruhi hasil ekstraksi. Pada penelitian Ardianti dan Kusnadi (2014), frekuensi 40 kHz juga efektif untuk mengekstraksi daun berenek yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.¹²

Frekuensi mempengaruhi efisiensi ekstraksi melalui efek kavitas yang meningkatkan kelarutan senyawa target dalam pelarut ekstraksi. Hal ini menunjukkan bahwa meningkatkan frekuensi ultrasonik akan meningkatkan efisiensi ekstraksi. Namun, frekuensi ultrasonik yang terlalu tinggi, dalam beberapa kondisi, dapat menyebabkan degradasi senyawa bioaktif yang akibatnya mengurangi hasil ekstraksi.¹⁵ Oleh karena itu, untuk mengekstrak senyawa bioaktif dalam simplisia secara lebih efektif, frekuensi ultrasonik perlu dioptimalkan.

4. Pembahasan

Daun ungu yang diekstrak menggunakan metode Ultrasound Assisted Extraction (UAE) pada frekuensi 30 kHz, 40 kHz dan 50 kHz memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi* dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar 3,67 mm; 8,39 mm; dan 5,52 mm. Dapat disimpulkan bahwa frekuensi ultrasonik yang berbeda berpengaruh terhadap efektivitas ekstrak daun ungu dalam menghambat pertumbuhan *S. typhi* dan frekuensi yang paling optimal adalah 40 kHz yang memiliki efek kavitas paling baik dalam memecah dinding sel daun ungu sehingga dapat diperoleh senyawa target yang maksimal.

Referensi

- 1 WHO. Typhoid [Internet]. 2023 [cited 2023 Sep 15]. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/typhoid>
- 2 Retnaningsih A, Primadhamanti A, Febrianti A. Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Ungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff) terhadap Bakteri *Staphylococcus Epidermidis* dan Bakteri *Propionibacterium acnes* Penyebab Jerawat dengan Metode Cakram. *J Anal Farm.* 2019;4(1):1-9.
- 3 Kristina CVM, Yusasrini NL., Yusa NM. Pengaruh Waktu Ekstraksi Dengan Menggunakan Metode Ultrasonic Assisted Extraction (UAE) Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Duwet (*Syzygium cumini*). *J Ilmu dan Teknol Pangan.* 2022;11(1):13.
- 4 Dzah CS, Duan Y, Zhang H, Wen C, Zhang J, Chen G, Ma H. The effects of ultrasound assisted extraction on yield, antioxidant, anticancer and antimicrobial activity of polyphenol extracts: A review. *Food Biosci* [Internet]. 2020;35(June 2019):100547. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100547>
- 5 Sangkoy WJ, I Simbala HE, Rumondor EM. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Pinang Yaki (*Areca vestiaria*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas aeruginosa*. Vol. 12. 2023.
- 6 Tjandra RF, Fatimawali ., Datu OS. Analisis Senyawa Alkaloid dan Uji Daya Hambat Ekstrak Buah Sirih (*Piper betle* L) terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *J e-Biomedik.* 2020;8(2):173-9.

- 7 Rahmawati A, Mayasari D, Narsa AC. Kajian Literatur: Aktivitas Antibakteri Ekstrak Herba Suruhan (*Peperomia pellucida* L.). *Proceeding Mulawarman Pharm Conf.* 2020;12:117-24.
- 8 Dhawale P V., Vineeth SK, Gadhawe R V., Fatima M. J. J, Supekar MV, Thakur VK, Raghavan P. Tannin as a renewable raw material for adhesive applications: a review. *Mater Adv.* 2022;
- 9 Dewi M kusuma, Ratnasari E, Trimulyono G. Aktivitas antibakteri ekstrak daun majapahit (*Crescentia cujete*) terhadap pertumbuhan bakteri *Ralstonia solanacearum* penyebab penyakit layu. *J Lentera Bio.* 2014;3(1):51-7.
- 10 Mahizan NA, Yang S kai, Moo CL, Song AAL. Terpene Derivatives as a Potential Agent against. *Molecules.* 2019;24(2631):1-21.
- 11 Sekarsari S, Widarta IWR, Jambe AAGNA. Pengaruh Suhu dan Waktu Ekstraksi dengan Gelombang Ultrasonik terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.). *J Ilmu dan Teknol Pangan.* 2019;8(3):267.
- 12 Ardianti A, Kusnadi J. Ekstraksi Antibakteri Dari Daun Berenuk (*Crescentia cujete* Linn.) Menggunakan Metode Ultrasonik. *J Pangan dan Agroindustri.* 2014;2(2):28-35.
- 13 Chen TT, Zhang ZH, Wang ZW, Chen ZL, Ma H, Yan JK. Effects of ultrasound modification at different frequency modes on physicochemical, structural, functional, and biological properties of citrus pectin. *Food Hydrocoll [Internet].* 2021;113(August):106484. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106484>
- 14 Zhang L, Zhou C, Wang B, Yagoub AEGA, Ma H, Zhang X, Wu M. Study of ultrasonic cavitation during extraction of the peanut oil at varying frequencies. *Ultrason Sonochem [Internet].* 2017;37:106-13. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.12.034>
- 15 Tungmunnithum D, Garros L, Drouet S, Renouard S, Lainé E, Hano C. Green ultrasound assisted extraction of trans rosmarinic acid from *plectranthus scutellarioides* (L.) R.Br. leaves. *Plants.* 2019;8(3):1-15.