

Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Keluak (*Pangium edule*) Terhadap Bakteri Salmonella

Antibacterial Activity of Ethanol Extract of Keluak (*Pangium edule*) Seeds Against Salmonella Bacteria

Ricko Arie Jatmiko ^{1*}, Alvi Milliana ², Christyaji Indradmojo ³

¹ Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Maulana Malik Ibrahim Malang
Jalan Locari, Tlekung, Junrejo, Kota Batu, Jawa Timur Indonesia

² Departemen Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Maulana Malik Ibrahim Malang
Jalan Locari, Tlekung, Junrejo, Kota Batu, Jawa Timur Indonesia

³ Departemen Emergency Medicine, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Maulana Malik Ibrahim Malang
Jalan Locari, Tlekung, Junrejo, Kota Batu, Jawa Timur Indonesia

*Corresponding author

Email:

Abstract

Keyword :
Pangium edule,
Keluak seed,
Salmonella typhi,
Antibacteria

Background: Typhoid fever is a systemic disease caused by *Salmonella typhi* bacterial infection often occurs in various countries in the world and generally occurs in countries with low levels of cleanliness. The main therapy for typhoid fever is antibiotics. The challenge of using synthetic antibiotics nowadays is the emergence of side effects of resistance. One of the plants that can be used as an antibacterial is extract of keluak seed (*Pangium edule*). This study aims to determine the antibacterial activity of keluak seed (*Pangium edule*) antibacterial extract on the growth of *Salmonella typhi*. This research is a quantitative type of experimental research with true experimental post-test control design). **Method:** The method used in this study used a qualitative phytochemical test and dilution of the tube. This study uses 6 concentrations which are 5, 10, 15, 20, 25, and 30 mg/ml. Bacterial suspension was used as negative control and extract 100 mg/ml was used as positive control. **Result:** Based on the phytochemical test show that the seeds of the keluak seed (*Pangium edule*) contain alkaloids and terpenoids. The extract of keluak seed has a MIC at a concentration of 10 mg/ml and MKC 30 mg/ml. MKC data were analyzed by the Kruskal-Wallis test (significance $p = 0,000$) with (coefficient correlation = -0,990) the relationship between the two variables is very strong. **Conclusion:** The extract keluak seed (*Pangium edule*) seeds can inhibit the growth of *S. typhi* bacteria.

Kata kunci :
Pangium edule,
Biji Keluak,
Salmonella typhi,
Antibakteri

ABSTRAK

Latar Belakang: Demam tifoid merupakan penyakit sistemik yang disebabkan oleh infeksi bakteri *Salmonella typhi* yang sering terjadi di berbagai negara di dunia dan umumnya terjadi di negara dengan tingkat kebersihan rendah. Terapi utama demam tifoid yaitu antibiotik. Tantangan penggunaan antibiotik sintetis pada saat ini adalah timbulnya efek samping resistensi. Salah satu tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri adalah ekstrak biji keluak (*Pangium edule*). **Tujuan:** Mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak biji keluak (*Pangium edule*) terhadap pertumbuhan *Salmonella typhi*. **Metode:** Penelitian kuantitatif jenis eksperimental, rancangan true experimental post-test control design. Metode yang digunakan yaitu uji fitokimia secara kualitatif dan dilusi tabung. Penelitian ini menggunakan 6 konsentrasi yaitu 5, 10, 15, 20, 25, 30 mg/ml. Suspensi bakteri digunakan sebagai kontrol negatif dan ekstrak 100 mg/ml digunakan sebagai kontrol positif. **Hasil:** Berdasarkan uji, fitokimia menunjukkan bahwa biji keluak (*Pangium edule*) mengandung alkaloid dan terpenoid. Ekstrak biji keluak memiliki KHM pada konsentrasi 10 mg/ml dan KBM 30 mg/ml. Data KBM dianalisis dengan uji Kruskal-Wallis (signifikansi $p = 0,000$) dan uji statistik rank spearman diketahui terdapat hubungan yang signifikan antara konsentrasi ekstrak dan jumlah koloni bakteri (p value = 0,000) dengan

(koefisien korelasi= -0,990) hubungan antara kedua variabel sangat kuat. **Kesimpulan:** ekstrak biji keluak (*Pangium edule*) mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. typhi*.

How To Cite : Jatmiko, R, A., Milliana, A., Indradmojo, C. 2020. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Keluak (*Pangium edule*) Terhadap Bakteri Salmonella. *Journal of Islamic Medicine*. 7(01), 24-35
<https://doi.org/10.18860/jim.v7i1.10546>
Copyright © 2023

PENDAHULUAN

Berdasarkan data WHO (*World Health Organization*) insiden demam tifoid di seluruh dunia sekitar 11 sampai 21 juta jiwa per tahun dengan angka kematian akibat demam tifoid mencapai 128.000 hingga 161.000 dan kebanyakan terjadi di Asia Selatan / Tenggara, dan Afrika sub-Sahara.¹ Jumlah penderita demam tifoid di Indonesia mencapai 350-810 per 100.000 penduduk.² Kota Malang adalah salah satu kota di wilayah Demam tifoid sering terjadi di berbagai negara di dunia dan umumnya terjadi di negara Jawa Timur dengan prevalensi demam tifoid sebanyak 1,2% dari 10.996 sampel pada tahun 2007 berdasarkan data Dinas Kesehatan Jawa Timur tahun 2010.³

Demam tifoid merupakan penyakit sistemik yang disebabkan oleh infeksi bakteri *Salmonella typhi*.⁴ *Salmonella typhi* adalah bakteri batang Gram negatif, tidak berspora, bergerak dengan flagel dan bersifat fakultatif anaerob.⁵

Terapi utama demam tifoid yaitu antibiotik. Antibiotik yang sering digunakan dalam pengobatan modern saat ini adalah antibiotik sintesis yang diproduksi oleh industri obat-obatan. Tantangan penggunaan antibiotik sintesis pada saat ini adalah timbulnya efek samping resistensi.⁶ Kejadian resistensi antibiotik kloramfenikol sebanyak 76,9% dan amoksisilin sebanyak 84,6% di RSUD Dr. Saiful Anwar Malang 2008-2009.⁷ Oleh karena itu perlu alternatif lain untuk mengobati infeksi bakteri seperti penggunaan tanaman obat tradisional.⁸

Indonesia terkenal sebagai negara pengguna tumbuhan obat terbesar di dunia. Pemanfaatan tanaman sebagai obat-obatan sejak berlangsung ribuan tahun yang lalu.⁹ Salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai obat dan banyak dimanfaatkan masyarakat dalam kehidupan sehari – hari adalah keluak.¹⁰

Salah satu tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri adalah ekstrak biji keluak (*Pangium edule*). dalam penelitian yang dilakukan Heruwati *et al.*,

(2009)¹¹ ekstrak biji keluak (*Pangium edule*) dengan dosis dalam dosisi 10,11 mg/ml dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*. Biji keluak memiliki kandungan senyawa flavonoid, alkaloid, dan saponin yang berfungsi sebagai antibakteri.¹² Flavonoid mempunyai aktivitas antibakteri karena menyebabkan kerusakan membran sel bakteri dan dapat menghambat enzim DNA girase bakteri.¹³ Alkaloid memiliki aktivitas antibakteri karena dapat berinteraksi dengan DNA bakteri.¹⁴ Senyawa saponin berinteraksi dengan membran sel sehingga menyebabkan kerusakan membran sel.¹⁵

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya antibakteri pada biji keluak sebagai alternatif sebagai obat infeksi *Salmonella typhi*. Hal ini merupakan salah satu contoh implementasi Al-Qur'an dalam Surat Asy-Syu'ara Ayat 7 yang berbunyi:

مَا أَنْزَلَ اللَّهُ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً (القرآن سورة الشعراء: ٧)

Artinya: “Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?” (Q.S. As-Syu'ara': 7)

Berdasarkan tafsir Qur'an surat As-Syu'ara ayat 7 telah dijelaskan bahwa Allah SWT menciptakan berbagai macam tumbuhan di bumi pasti memiliki manfaat, banyak tumbuhan yang telah dapat dimanfaatkan manusia sebagai bahan makanan untuk dikonsumsi dan mampu digunakan sebagai obat untuk menyembuhkan berbagai penyakit.¹⁶

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Desember 2019 – April 2020 di Laboratorium Fitokimia jurusan Farmasi, Laboratorium Mikrobiologi jurusan Pendidikan Dokter, dan Laboratorium

Fitokimia jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Sampel Penelitian

Sampel pada penelitian ini adalah bakteri *Salmonella typhi* yang diperoleh dari isolat murni Balai Laboratorium Kesehatan Dan Kalibrasi Yogyakarta.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain cawan petri, tabung reaksi, bunsen, pinset, ose bulat, rotary evaporator, autoklaf, labu erlenmeyer, mikro pipet, eksikator, batang L, saringan, pipet tetes, gelas beaker, gelas ukur, neraca analitik, toples kaca, inkubator, oven, kertas cakram, batang pengaduk, kertas saring, dan colony counter.

Bahan penelitian terdiri dari simplisia serbuk biji keluak (*Pangium edule*) yang berasal dari UPT. Materia Medica Batu, pelarut Etanol 96%, Media Agar, Media *Mueller Hinton Agar* (MHA), Media cair *Mueller Hinton Broth* (MHB), Aquades, NaCl fisiologis 0,9% dan Bakteri *Salmonella typhi* yang diperoleh dari Balai Laboratorium Kesehatan Dan Kalibrasi Yogyakarta.

Prosedur Penelitian

Preparasi Sampel

Biji keluak dibersihkan dan dicuci dengan air mengalir. kemudian dikeringkan di dalam ruang pengeringan selama kurang lebih 5 x 24 jam hingga biji tersebut benar-benar kering. Sampel yang telah kering ditumbuk atau dimasukkan ke dalam mesin penggiling sehingga menghasilkan serbuk biji keluak. Serbuk biji keluak dimasukkan didalam wadah.

Ekstraksi

Simplisia sebanyak 50 gram diekstrak menggunakan etanol 96% sebanyak 200 ml. Kemudian dilakukan ekstraksi dengan bantuan gelombang ultrasonik (>20 kHz) selama 6 menit dengan 3 kali jeda tiap 2 menit, pada tiap jeda pengulangan diaduk

menggunakan batang pengaduk. Ekstrak etanol 96% disaring dengan menggunakan kertas saring lalu diambil 1 filtratnya. Dilakukan ekstraksi kedua menggunakan 150 ml etanol 96% dengan cara yang sama dan dilakukan ekstraksi ketiga menggunakan 150 ml etanol 96% dengan cara yang sama hingga total pelarut yang telah digunakan sejumlah 500 ml. Hasil filtrate diuapkan menggunakan vacuum rotary evaporator dengan suhu 50°C dan putaran 70 rpm hingga ekstrak menjadi kental. Ekstrak kental ditampung kedalam cawan petri, lalu dimasukkan kedalam oven pada suhu 40°C hingga ekstrak menjadi kering.

Uji Fitokimia

Ekstrak biji keluak dilakukukan uji fitokimia secara kualitatif untuk mengetahui kandungan senyawa dalam ekstrak.

Flavonoid

Ekstrak pekat dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 1 ml kemudian ditambahkan 1-2 ml methanol panas. Setelah itu ditambahkan serbuk logam Mg dan 0,5 ml HCl pekat. Larutan berwarna merah atau jingga menunjukkan ekstrak mengandung flavonoid.

Tanin

Ekstrak pekat dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 1,5 ml kemudian ditambahkan beberapa tetes aquades panas, lalu didinginkan dan disaring. Setelah itu ditambahkan 3 tetes NaCl 10%, lalu disaring dan 2 tetes FeCl₃. Larutan berwarna hijau kehitaman/ biru tua menunjukkan ekstrak mengandung tanin.

Saponin

Ekstrak pekat dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 1 ml kemudian ditambahkan 5 ml akuades dan dikocok selama 30 detik. Jika timbul busa dan tidak hilang selama 30 detik maka ekstrak positif mengandung saponin. Tambahkan HCl 1 M untuk mempertahankan busa bias.

Fenolitik

Ekstrak pekat dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 1 ml kemudian ditambahkan 10 tetes FeCl₃ 1%. Larutan berwarna hijau kehitaman, merah, ungu, biru atau hitam pekat menunjukkan ekstrak mengandung fenol.

Alkaloid

Ekstrak pekat dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 1 ml kemudian ditambahkan 3-5 tetes pereaksi *Dragendroff*. Larutan terbentuk endapan coklat atau jingga menunjukkan ekstrak mengandung alkaloid.

Steroid/Triterpenoid

Ekstrak pekat dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 1 ml kemudian ditambahkan 0,5 ml kloroform dan 0,5 ml asetat anhidrat. Setelah itu ditambahkan 3-5 tetes H₂SO₄ pekat melalui dinding. Larutan berwarna hijau atau biru menunjukkan ekstrak mengandung steroid sedangkan jika larutan terbentuk cincin warna ungu atau coklat menunjukkan ekstrak mengandung triterpenoid.

Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian KHM dilakukan dengan uji dilusi tabung dan dilanjutkan dengan penanaman pada media agar untuk mencari KBM berbagai ekstrak *Pangium edule* terhadap bakteri *Salmonella typhi*. Metode yang digunakan adalah metode dilusi tabung dan ditanam pada media MHA untuk menentukan KHM dan KBM. Masing – masing uji diulang sebanyak 4 kali. Konsentrasi ekstrak yang digunakan ada 6 konsentrasi yaitu 5 mg/ml, 10 mg/ml, 15 mg/ml, 20 mg/ml, 25 mg/ml, dan 30 mg/ml. Terdapat dua kontrol yaitu kontrol positif atau kontrol bahan yang berisi ekstrak *Pangium edule* dengan konsentrasi 100 mg/ml dan kontrol negatif atau kontrol bakteri yang berisi suspensi bakteri *Salmonella typhi*.

Analisa Data

Pertanyaan Pada penelitian ini data dianalisis menggunakan Uji *One-Way Analysis of Variance (ANOVA)* karena variabel bebas dan variabel terikat berjumlah satu, data yang digunakan berupa data numerik serta kelompok perlakuan lebih dari dua. Syarat Uji *One-Way Analysis of Variance (ANOVA)* adalah data yang diuji harus homogen (homogenitas) dan berdistribusi normal (normalitas). Jika distribusi data tidak normal, Uji *One-Way ANOVA* tidak dapat dilakukan, maka menggunakan Uji *Kruskall-Wallis*. Jika uji *One-Way ANOVA* atau Uji *Kruskall-Wallis* bermakna yaitu $p < 0,05$ maka dilakukan Uji *Post Hoc LSD (Least Significance Different)* untuk melihat pada konsentrasi mana yang memiliki kebermaknaan. Semua analisis data diolah menggunakan program analisis statistik yaitu *Statistical Package for the Social Sciences (SPSS)*.

HASIL

Uji fitokimia bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa kimia sekunder pada *Pangium edule*. Hasil uji kimia tertera pada tabel 1.

Tabel 1. Uji Fitokimia

No	Uji Fitokimia	Hasil	Keterangan
1	Flavanoid	-	Kuning jernih
2	Tanin	-	Kuning keruh
3	Saponin	-	Tidak ada busa
4	Fenolik	-	Kuning jeruh
5	Alkaloid	+	Ada endapan jingga
6	Terpenoid	+	Cincin coklat
7	Steroid	-	Kuning jernih

Dari tabel 1. tampak bahwa ekstrak *Pangium edule* mengandung senyawa alkaloid dan terpenoid. Ekstrak tidak mengandung flavonoid, tanin, saponin, fenolik, dan steroid.

Konsentrasi Hambat Minimum

Hasil uji dilusi tabung didapatkan konsentrasi hambat minimum dengan

melihat kekeruhan pada tabung. Hasil dari uji dilusi tabung untuk mengetahui aktivitas antibakteri adalah sebagai berikut.

Tabel 2. Hasil Dilusi Tabung

Konsentrasi	Pengulangan 1	Pengulangan 2	Pengulangan 3	Pengulangan 4
5 mg/ml	-	-	-	-
10 mg/ml	-	-	-	-
15 mg/ml	+	+	+	+
20 mg/ml	++	++	++	++
25 mg/ml	++	++	++	++
30 mg/ml	Pekat	Pekat	Pekat	Pekat
K(+)	Pekat	Pekat	Pekat	Pekat
K (-)	+	+	+	+

Keterangan :

- + : Keruh
- ++ : Sangat Keruh
- : Jernih
- K+ : Ekstrak 100mg/ml dan aquades
- K- : Suspensi bakteri dan aquades

Konsentrasi Bunuh Minimum

Hasil penelitian didapatkan konsentrasi bunuh minimum (KBM) dengan menghitung jumlah koloni bakteri

yang tumbuh dengan menggunakan colony counter dan nilai KBM ditentukan apabila nilai koloni adalah 0-2 koloni . Hasil tampak pada tabel 3.

Tabel 3. Jumlah Koloni dari Hasil *Colony Counter*

Konsentrasi	Pengulangan 1 (CFU/ml)	Pengulangan 2 (CFU/ml)	Pengulangan 3 (CFU/ml)	Pengulangan 4 (CFU/ml)
K + (kontrol bahan)	0	0	0	0
5 mg/ml	229	235	251	234
10 mg/ml	134	158	146	138
15 mg/ml	69	80	76	55
20 mg/ml	30	45	44	31
25 mg/ml	18	26	23	22
30 mg/ml	1	0	0	1
K – (Kontrol bakteri)	473	410	408	473

Berdasarkan hasil hitung bakteri menggunakan *colony counter* didapatkan nilai KBM pada konsentrasi 30 mg/ml dimana didapatkan jumlah koloni 0-1 CFU/ml.

PEMBAHASAN

Hasil Uji Fitokimia

Ekstrak biji keluak (*Pangium edule*) kental yang dihasilkan dari ekstraksi kemudian dilakukan uji fitokimia secara kualitatif. Skrining fitokimia yang dilakukan meliputi flavonoid, tanin,

saponin, fenolik, alkaloid, terpenoid dan steroid. Pada uji fitokimia secara kualitatif

didapatkan hasil *Pangium edule* mengandung alkaloid dan terpenoid.

Pada pengujian flavonoid menggunakan uji Wilstater tampak bewarna jernih yang mengindikasikan bahwa ekstrak tidak mengandung senyawa flavonoid. Pada uji wilstater magnesium dan asam klorida bereaksi membentuk gelembung-gelembung yang merupakan gas H₂, sedangkan logam Mg dan HCl pekat pada uji ini berfungsi untuk mereduksi inti benzopiron yang terdapat pada struktur

flavonoid sehingga terbentuk warna menjadi merah, kuning atau jingga.¹⁷

Pada uji tanin menggunakan FeCl_3 tampak warna kuning keruh yang mengindikasikan bahwa ekstrak tidak mengandung senyawa tanin. Pada uji tanin dengan larutan FeCl_3 1 % dalam air, yang menimbulkan warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam yang kuat. Terbentuknya warna hijau kehitaman atau biru tinta pada ekstrak setelah ditambahkan dengan FeCl_3 karena tanin akan membentuk senyawa kompleks dengan ion Fe^{3+} .¹⁸

Pada uji saponin menggunakan metode Forth tampak tidak ada busa yang mengindikasikan bahwa ekstrak tidak mengandung senyawa saponin. Pada uji Forth timbulnya buih menunjukkan adanya glikosida saponin dalam ekstrak tersebut yang mempunyai kemampuan membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lain.¹⁹

Pada uji fenolik menggunakan FeCl_3 tampak kuning jeruh yang mengindikasikan bahwa ekstrak tidak mengandung senyawa fenolik. Uji senyawa fenol dilakukan dengan cara menambahkan FeCl_3 1%, yang ditandai dengan terbentuknya warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam pekat, yang terjadi ketika FeCl_3 bereaksi dengan gugus hidroksil yang ada pada senyawa fenol.²⁰

Uji alkaloid menggunakan uji Dragendorff tampak ada endapan jingga yang mengindikasikan bahwa ekstrak biji keluak mengandung senyawa alkaloid. Pada uji Dragendorff hasil positif alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan coklat muda sampai kuning (jingga). Endapan tersebut adalah kalium alkaloid. Pada uji alkaloid dengan pereaksi Dragendorff, nitrogen digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan K^+ yang merupakan ion logam.¹⁸

Pada uji terpenoid diuji pereaksi Lieberman Burchard tampak cincin coklat yang mengindikasikan bahwa ekstrak mengandung senyawa terpenoid. Uji terpenoid dengan hasil positif ditandai dengan terbentuknya cincin coklat pada batas larutan saat ditambah dengan H_2SO_4 .

Analisis ini didasarkan pada kemampuan senyawa terpenoid membentuk warna oleh H_2SO_4 pekat dalam pelarut asam klorida. Perubahan warna terjadi karena oksidasi pada golongan senyawa terpenoid melalui pembentukan ikatan rangkap terkonjugasi.¹⁷

Pada uji steroid menggunakan metode *Liebermann-Bouchard* tampak warna kuning jernih yang mengindikasikan bahwa ekstrak tidak mengandung senyawa steroid. Reaksi steroid dengan pereaksi *Liebermann* menghasilkan warna hijau-biru. Hal ini didasari oleh kemampuan senyawa steroid membentuk warna oleh H_2SO_4 dalam pelarut asam asetat anhidrid.²¹

Hal ini sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan Anggara *et al.*, (2014)²², dimana dalam ekstrak *Pangium edule* mengandung senyawa flavonoid, terpenoid, alkaloid dan fenolik. Penelitian yang dilakukan Warnasih dan Hasanah (2018)²³, ekstrak *Pangium edule* dengan pelarut etanol memiliki kandungan flavanoid, tannin, alkaloid dan saponin dan Penelitian Listaty *et al.*, (2016)²⁴ menyebutkan bahwa biji keluak mengandung senyawa sekunder alkaloid, terpenoid, flavonoid, saponin dan fenolik dalam kadar sedikit. Namun hasil dalam penelitian tersebut menyebutkan tidak mengandung terpenoid. Penelitian Manoppo *et al.*, (2019)²⁵ juga menyebutkan biji keluak tidak mengandung terpenoid dimana dalam penelitian tersebut ekstrak *Pangium edule* dengan pelarut etanol memiliki kandungan alkaloid, saponin, tanin dan fenol. Menurut penelitian yang dilakukan Jati *et al.*, (2019)²⁶ menyatakan bahwa senyawa alkaloid memiliki aktivitas antibakteri sedangkan menurut penelitian yang dilakukan Wulansari *et al.*, (2020)²⁷ menyatakan senyawa terpenoid memiliki aktivitas antibakteri.

Kadar Hambat Minimum (KHM)

Ekstrak yang digunakan pada penelitian ini berasal dari biji keluak (*Pangium edule*) yang diekstrak menggunakan pelarut etanol 96% dengan metode *UAE* (*Ultrasound-Assisted*

Extraction). Ekstrak kental kemudian di *vacuum rotary evaporator* dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 40°C selama beberapa hari hingga ekstrak kering. Ekstrak kering kemudian di larutkan ke dalam aquades dengan berbagai konsentrasi dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi untuk digunakan pada metode dilusi. KHM pada penelitian ini menggunakan metode dilusi tabung dimana nilai KHM ditentukan dengan nilai kekeruhan pada tabung yang diamati secara visual.

KHM pada penelitian ini adalah 10 mg/ml dan konsentrasi ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Heruwati *et al.*, (2009)¹¹ yaitu 10,11 mg/ml. Penelitian Heruwati *et al.*, (2009)¹¹ memiliki perbedaan dengan penelitian ini dimana ekstrak yang digunakan memakai biji keluak yang masih segar dan diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi sedangkan penelitian ini menggunakan ekstrak biji keluak yang sudah difermentasi atau telah di proses terlebih dahulu dan diekstraksi dengan menggunakan metode *UAE (Ultrasound-Assisted Extraction)*. Penelitian Faikha (2018)²⁷ ekstrak keluak memiliki Konsentrasi hambat minimum pada 0,5% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Pada penelitian Makagansa *et al.*, (2015)²⁸ uji aktivitas antibakteri ekstrak aquades biji keluak menggunakan metode difusi cakram kertas dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi ekstrak 4% dan *Bacillus cereus* pada konsentrasi ekstrak 2% Sedangkan untuk bakteri *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* dapat menghambat pada konsentrasi 4%. Ekstrak keluak memiliki aktivitas antibakteri karena ekstrak keluak mengandung senyawa alkaloid dan terpenoid sebagai senyawa antibakteri.²⁹

Alkaloid adalah kelompok metabolit sekunder yang besar dan beragam secara struktural yang memiliki asal mikroba, tumbuhan, atau hewan. Mereka dapat ditemukan di sekitar 300 famili tumbuhan. Meskipun alkaloid terdapat di berbagai

bagian tanaman, namun hanya terbatas pada bagian tertentu. Alkaloid adalah struktur heterosiklik yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen. Mereka diklasifikasikan berdasarkan struktur kimianya atau asal alami. Karena beberapa alkaloid terbatas pada sumber tertentu, klasifikasi karena asalnya. Ada dua divisi besar dalam klasifikasi menurut struktur kimianya. Divisi pertama berisi alkaloid non-heterosiklik atau atipikal, juga disebut protoalkaloid atau amina biologis. Divisi kedua meliputi heterosiklik atau alkaloid khas. Divisi kedua dapat dibagi menjadi 14 kelompok berdasarkan pada struktur cincin.³⁰

Mekanisme kerja antibakteri senyawa alkaloid memiliki banyak mekanisme tergantung jenis kelas senyawa alkaloid yang ada dalam kandungan ekstrak terdapat tiga. Mekanisme kerja antibakteri senyawa alkaloid. Senyawa alkaloid dapat menghambat sintesis asam nukleat karena menghambat enzim *dihydrofolate reductase*. Selain itu alkaloid juga dapat menghambat enzim BCG3185c yang merupakan gen oksidase sehingga mengganggu homeostasis bakteri. Senyawa alkaloid dapat menyebabkan gangguan pada membran sel bakteri karena senyawa alkaloid dapat menembus lapisan tunggal liposakarida sehingga menyebabkan depolarisasi membran sitoplasma.³¹

Terpenoid adalah senyawa metabolit sekunder yang tersusun oleh unit isopren yang berkarbon 5(-C5) yang disintesa dari asetat melalui jalur asam mevalonik. Terpenoid merupakan kelas metabolit sekunder yang mempunyai jenis senyawa yang beragam. Terpenoid memiliki struktur yang beragam dapat berupa molekul linier hingga polisiklik, dengan ukuran dari hemiterpen berunit lima karbon hingga yang memiliki ribuan unit isoprene.³¹

Aktifitas antibakteri terpenoid diduga melibatkan pemecahan membran oleh komponen-komponen lipofilik. Senyawa fenolik dan terpenoid memiliki target utama yaitu membran sitoplasma yang mengacu pada sifat alamnya yang hidrofobik.³³

Mekanisme penghambatan pertumbuhan bakteri oleh senyawa terpenoid diduga senyawa terpenoid akan bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya substansi, akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri yang akan mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati.³⁴

Senyawa terpenoid mampu menghambat dua proses penting untuk kelangsungan hidup mikroba, proses tersebut adalah pengambilan oksigen dan fosforilasi oksidatif. Aerobik mikroba membutuhkan oksigen untuk menghasilkan energi untuk pertumbuhannya. Sementara itu, oksidatif fosforilasi adalah proses biokimia penting yang bertanggung jawab untuk respirasi seluler yang terjadi di membran sitoplasma. Interaksi terpenoid mengarah pada perubahan respirasi seluler yang kemudian menyebabkan pemutusan fosforilasi oksidatif dalam mikroba. Selain itu, karbonilasi terpenoid diyakini meningkatkan aktivitas bakteriostatik tetapi tidak selalu memiliki aktivitas bakterisidal. Agen bakteriostatik adalah agen yang menghentikan atau menghambat pertumbuhan mikroba, sedangkan bakterisida adalah bertanggung jawab dalam membunuh mikroba.³⁵

Kadar Bunuh Minimum (KBM)

Konsentrasi bunuh minimal (KBM) yang didapatkan dari pengamatan jumlah koloni dengan menggunakan *Colony counter* pada penelitian ini terdapat pada konsentrasi 30 mg/ml, dimana semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang diberikan maka semakin turun jumlah koloni bakteri *Salmonella typhi*. Penelitian yang dilakukan Wahyuni (2015)³⁶ menyebutkan Konsentrasi Hambat Minimum (KBM) ekstrak biji keluak terhadap *Salmonella typhi* adalah 25%.

KBM pada penelitian dihitung dengan *colony counter* didapatkan pada konsentrasi 30 mg/ml tetapi jika dilakukan dengan pengamatan secara visual didapatkan bahwa pada konsentrasi 10 mg/ml sudah tidak tampak pertumbuhan koloni. Pengamatan KBM pada penelitian ini menggunakan metode *total count plate* menggunakan *colony counter* tanpa menggunakan penghitungan manual. Kekurangan dari penggunaan *colony counter* yaitu sangat sensitifitas sehingga jika ada debris yang bukan koloni maka akan dianggap sebagai koloni, sehingga sebaiknya dilakukan penghitungan koloni secara manual agar dapat sebagai acuan dalam penentuan nilai KBM.

Ekstrak biji keluak (*Pangium edule*) mengandung senyawa alkaloid dan terpenoid seperti dijelaskan di hasil uji fitokimia. Alkaloid dan terpenoid memiliki aktivitas antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan melalui beberapa mekanisme seperti yang dijelaskan pada pembahasan KHM.

Berdasarkan hasil uji normalitas *Kalmogorov-Smirnov Test* data tidak terdistribusi normal yang berarti bahwa data KBM pada penelitian ini berjumlah tidak sama di atas maupun di bawah *mean* data. Sedangkan hasil uji homogenitas *Levene Test* hasilnya adalah data tidak homogen yang artinya ada kelompok data KBM yang tidak memiliki varians yang sama atau hanya sedikit memiliki perbedaan. Rencana uji statistik dalam penelitian ini menggunakan uji *One Way Anova* tetapi karena data yang dihasilkan tidak memenuhi syarat data parametrik sehingga peneliti menggunakan uji non parametrik yaitu uji *Kruskall-Wallis*. Selanjutnya hasil dari uji *Kruskall-Wallis* pada penelitian ini yaitu $p = 0,000$ ($p < 0,05$) yang berarti terdapat perbedaan yang bermakna pada semua perlakuan.

Namun tidak semua konsentrasi memiliki perbedaan yang bermakna satu sama lain sehingga dilakukan uji *Mann-Whitney* untuk menentukan antar dua konsentrasi yang memiliki perbedaan

bermakna. Konsentrasi yang tidak memiliki perbedaan data bermakna yaitu pada kontrol positif terhadap konsentrasi 30 mg/ml. Berdasarkan uji korelasi *Spearman* didapatkan bahwa kedua variabel memiliki hubungan sangat kuat dan signifikan tetapi hubungannya tidak searah. Hubungan tidak searah ini ditunjukkan dimana semakin besar konsentrasi ekstrak akan menyebabkan jumlah koloni semakin turun.

KETERBATASAN PENELITIAN

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan antara lain ekstrak yang digunakan dalam bentuk pasta mengandung senyawa pelarut etanol yang memiliki aktivitas antibakteri, penelitian menguji fitokimia secara kualitatif sehingga tidak dapat diketahui konsentrasi senyawa sekunder yang berada dalam ekstrak, dalam uji KHM hanya menggunakan uji dilusi cair yang memiliki banyak kekurangan karena penilainnya subjektif dalam menilai kekeruhan, dan dalam penentuan nilai KBM menggunakan *colon counter* tidak dilakukan penghitungan jumlah koloni secara manual.

KESIMPULAN

Ekstrak biji keluak (*Pangium edule*) memiliki kandungan senyawa alkaloid dan terpenoid. Ekstrak biji keluak (*Pangium edule*) memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap bakteri *Salmonella typhi* dengan nilai Konsentrasi Hambat Minimum pada konsentrasi 10 mg/ml dan Konsentrasi Bunuh Minimum pada konsentrasi 30 mg/ml.

DAFTAR PUSTAKA

1. WHO, 2018. "Weekly epidemiological record". WHO 93, 153–172.
2. Depkes RI, 2013. "Sistematika Pedoman Pengendalian Penyakit Demam Tifoid". Direktorat Jendral Pengendalian Penyakit & Penyehatan Lingkungan, Jakarta.
3. Lailiyah, S.H., Athiroh, N., Santoso, H., 2018. Behavior Identification of Patients' Post Typhoid Year 2016 in Subdistrict – District - Lowokwaru of Malang City 4, 7.
4. Alba, S., Bakker, M.I., Hatta, M., Scheelbeek, P.F.D., Dwiyantri, R., Usman, R., Sultan, A.R., Sabir, M., Tandirogang, N., Amir, M., Yasir, Y., Pastoor, R., van Beers, S., Smits, H.L., 2016. Risk Factors of Typhoid Infection in the Indonesian Archipelago. PLOS ONE 11, e0155286. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0155286>
5. Riedel, S., Morse, S.A., Mietzner, T., 2019. Medical Mikrobiologi Jawetz, Melnick, & Adelberg Ed. 28. McGraw-Hill Education, New York.
6. Utami, E.R., 2012. Antibiotika, Resistensi, dan Rasionalitas Terapi. SAINSTIS 1, 124–138.
7. Suswati, I., Juniarti, A., 2011. Sensitivitas *Salmonella typhi* terhadap Kloramfenikol dan Seftriakson di RSUD Dr. Soetomo Surabaya dan di RSUD Dr. Saiful Anwar Malang Tahun 2008-2009. J. Biomedika 3, 27–32.
8. Fitriyah, N., Wahuningsih, N., Kismanto, J., 2013. Obat Herbal Antibakteri Ala Tanaman Binahong. J. KesMaDaSka 116–122.
9. LIPI Press (Ed.), 2015. Kekinian keanekaragaman hayati Indonesia, 2014, Cetakan kedua. ed. LIPI Press, Menteng, Jakarta.
10. Sari, R., Suhartati, 2015. Pangi (*Pangium Edule Reinw.*) Sebagai Tanaman Serbaguna Dan Sumber Pangan. Info Tek. EBONI 12, 23–37.
11. Heruwati, E. sri, Ismaini, L., Mangunwardoyo, W., 2009. Antibacterial Test of *Pangium* (*Pangium Edule Reinw*) Extract Against The Growth of Fish Spoilage Bacteria. Research Cent. Mar. Fish. Prod. Process. Biotechnol.-Petamburan 15, 65–73.
12. Mamujaja, C.F., Lumoindong, F., 2017. Aktivitas Antimikroba Ekstrak Biji Kluwek (*Pangium Edule*) sebagai Bahan

- Pengawet Alami Bakso Ikan Tuna 20, 10.
13. Mufti, N., Bahar, E., Arisanti, D., 2017. Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Sawo terhadap Bakteri *Escherichia coli* secara In Vitro. *J. Kesehat. Andalas* 6, 289–294. <https://doi.org/10.25077/jka.v6.i2.p289-294.2017>
 14. Ningrum, R., Purwanti, E., Sukarsono, S., 2017. Alkaloid Compound Identification of *Rhodomyrtus tomentosa* Stem as Biology Instructional Material for Senior High School X Grade. *J. Pendidik. Biol. Indones.* 2, 231–236. <https://doi.org/10.22219/jpbi.v2i3.3863>
 15. Dewi, M.K., Ratnasari, E., Trimulyono, G., 2014. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Majapahit (*Crescentia cujete*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Ralstonia solanacearum* Penyebab Penyakit Layu. *Lentera Bio* 3, 51–57.
 16. Kemenag, R. (Ed.), 2010. Tafsir ilmi, Cet. 1. ed. Lajnah Pentashihan Mushaf al-Qur'an, Badan Litbang & Diklat, Kementerian Agama RI, Jakarta.
 17. Illing, I., Erfiana, Safitri, W., 2017. Uji Fitokimia Ekstrak Buah Dengan. *J. Din.* 8, 66–84.
 18. Ergina, S.N., Pursitasari, I.D., 2014. Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder pada Daun Palado (*Agave angustifolia*) yang Diekstraksi dengan Pelarut Air dan Etanol. *J. Akad. Kim.* 3, 165–172.
 19. Afriani, N., Idiawati, N., Alimuddin, A.H., 2016. Skrining Fitokimiadan uji Toksisitas Ekstrak Akar Mentawa (*Artocarpus anisophyllus*) terhadap LARVA *Artemia salina*. *JKK* 5, 7.
 20. Putri, H.D., Sumpono, Nurhamidah, 2018. Uji Aktivitas Asap Cair Cangkang Buah Karet (*Hevea brassiliensis*) dan Aplikasinya dalam Penghambatan Ketengikan Daging Sapi. *J. Pendidik. Dan Ilmu Kim.* 2, 97–105.
 21. Habibi, A.I., Firmansyah, R.A., Setyawati, S.M., 2018. Skrining Fitokimia Ekstrak n-Heksan Korteks Batang Salam (*Syzygium polyanthum*). *Indones. J. Chem. Sci.* 4.
 22. Anggara, Y., Teruna, H.Y., Jasril, 2014. Isolasi Dan Uji Toksisitas Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Metanol Dari Daging Biji Tumbuhan *Pangium edule Reinw* (Flacourtiaceae). *Repos. FMIPA* 1–6.
 23. Warnasih, S., Hasanah, U., 2018. Ekstraksi Zat Warna dari Kluwek (*Pangium edule reinw*) Menggunakan Berbagai Pelarut. *Ekologia*, 1 18.
 24. Listaty, H., Teruna, H.Y., Jasril, 2016. Uji Aktivitas Antibakteri dan Toksisitas Ekstrak n-Heksana Daging Biji Kluwak. *Repos. FMIPA* 7.
 25. Manoppo, J.S.S., Sakul, E.H., Tengker, A.C., 2019. Potensi Bioinsektisida Dari Ekstrak Daun, Kulit Batang Dan Biji Tumbuhan Pangi (*pangium edule reinw.*) Dalam Meningkatkan Mortalitas Larva *Crocidolomia Binotalis*. *J. Sains Dan Teknol. Univ. Negeri Manado* 2, 9–19.
 26. Jati, N.K., Prasetya, A.T., Mursiti, S., 2019. Isolasi, Identifikasi, dan Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Alkaloid pada Daun Pepaya. *J. MIPA* 6.
 27. Faikha, N., 2018. Pengaruh Konsentrasi Etanol Sebagai Cairan Pengekstraksi Terhadap Aktivitas Antibakteri Dari Biji Pangi (*Pangium edule Reinw*) (Skripsi). Program Studi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin Makassar, Makasar.
 28. Makagansa, C., Mamuja, C.F., Mandey, L.C., 2015. The Antibacterial Activity of Pangi Kernel Extract (*Pangium edule Reinw*) towards *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli* in Vitro. *J Ilmu Dan Teknol. Pangan* 3, 16–25.
 29. Rahman, F.A., Haniastuti, T., Utami, T.W., 2017. Skrining fitokimia dan aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata L.*) pada *Streptococcus mutans* ATCC 35668. *Maj. Kedokt. Gigi Indones.* 3, 1–7. <https://doi.org/10.22146/majkedgiind.11325>

30. Othman, L., Sleiman, A., Abdel-Massih, R.M., 2019. Antimicrobial Activity of Polyphenols and Alkaloids in Middle Eastern Plants. *Front. Microbiol.* 10, 911.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00911>
31. Cushnie, T.P.T., Cushnie, B., Lamb, A.J., 2014. Alkaloids: An overview of their antibacterial, antibiotic-enhancing and antivirulence activities. *Int. J. Antimicrob. Agents* 44, 377–386.
<https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2014.06.001>
32. Harman-Ware, A.E., Sykes, R., Peter, G.F., Davis, M., 2016. Determination of Terpenoid Content in Pine by Organic Solvent Extraction and Fast-GC Analysis. *Front. Energy Res.* 4.
<https://doi.org/10.3389/fenrg.2016.00002>
33. Ngajow, M., Abidjulu, J., Kamu, V.S., 2013. Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara In vitro. *J. MIPA* 2, 128.
<https://doi.org/10.35799/jm.2.2.2013.3121>
34. Marisa, H., 2011. Isolasi Senyawa Antibakteri Dari Daun Jengkol (*Pithecolobium lobatum* Benth) dan Penentuan Nilai KHM-nya. *J. Penelit. Sains* 4.
35. Mahizan, N.A., Yang, S.-K., Moo, C.-L., Song, A.A.-L., Chong, C.-M., Chong, C.-W., Abushelaibi, A., Lim, S.-H.E., Lai, K.-S., 2019. Terpene Derivatives as a Potential Agent against Antimicrobial Resistance (AMR) Pathogens. *Molecules* 24, 2631.
<https://doi.org/10.3390/molecules24142631>
36. Wahyuni, 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Picung (*Pangium edule* Reinw) Terhadap Bakteri *Salmonella Typhi* Atcc 13311 Secara Dilusi (Skripsi). UNIVERSITAS SETIA BUDI, Surakarta.