

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN DAN BUAH KARANDA
(*CARISSA CARANDAS*) TERHADAP *Streptococcus mutans*, *Escherichia coli*,
*Staphylococcus aureus***

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF KARANDA (*Carissa carandas*) LEAF AND FRUIT
EXTRACT TO AGAINST *Streptococcus mutans*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus
aureus***

Mamik Ponco Rahayu¹, Fransiska Leviana², Destik Wulandari³

^{1,2,3} Universitas Setia Budi Surakarta

(email: rosedamascence@gmail.com)

ABSTRAK

Tanaman karanda (*Carissa carandas*) memiliki aktivitas antimikroba. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas ekstrak daun dan buah karandas sebagai antibakteri terhadap *Streptococcus mutans*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*. Daun dan buah karandas diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut methanol. Ekstrak daun dan buah karanda diuji aktivitas antibakterinya menggunakan metode difusi seumuram. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun *Carissa carandas* mampu menghambat bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dan ekstrak buah mampu menghambat bakteri *S. mutans* dengan optimal.

Kata kunci : Ekstrak, *Carissa carandas*, antibakteri

ABSTRACT

Background: *Carissa carandas* has antimicrobial activity. The study was aimed to study antibacterial activity of leaves and fruits of karanda (*Carissa carandas*) against *Streptococcus mutans*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*. Leaves and fruits of karandas were extracted by maceration method using metanol as a solvent. The study was showed that leaves extract of *Carissa carandas* could inhibited *S. aureus* and *E. coli*, but fruit extract can inhibited *S. mutans*.

Keywords : *Extract, Carissa carandas, Antibacterial*

PENDAHULUAN

Tanaman karandas (*Carissa carandas*) merupakan salah satu bahan alam yang dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri. Tanaman ini banyak tersebar dan terkenal di Kalimantan untuk berbagai pengobatan tradisional. Bagian buah ini memberikan aktivitas yang signifikan sebagai antidiabetes, antioksidan, antimikroba, sedangkan bagian daun sebagai antiinflamasi, antioksidan, antikanker¹.

Komponen-komponen kimia yang terdapat dalam daun karandas adalah triterpena, asam urosolat berupa *carissic acid*, *triterpene carandinol*, asam betulinat, β -sitosterol-3-O- β d-glukopiranosida, asam oleanolat, ursolic acid, and 4-asam hidroksibenzoat, tanin², *20-hydroxypregnan 18-oic acid*³. Tesfaye and Ravichadran (2018) menyimpulkan daun karandas mengandung golongan metabolit sekunder saponin, *unsaturated sterol*, alkaloids, fenol, steroid, glikosida, terpenoid, tanin, flavonoid, glikosida jantung. Buah karandas mengandung *carisol*, epimer α -amyrin, linalool, β -kariofilen, *carissone*, *carissic acid*, *carindone*, asam ursolat, *carinol*, asam askorbat, lupeol dan β -sitosterol². Tesfaye and Ravichadran (2018) menyimpulkan buah karandas mengandung golongan metabolit sekunder alkaloid, glikosida, saponin, terpenoid, flavonoid, tanin, steroid, fenolik, kardenolida,

Ekstrak daun karandas telah diteliti memiliki aktivitas antibakteri. Ekstrak petroleum eter dan metanol daun karandas dilaporkan dapat menghambat bakteri *gram positif dan gram negatif bacteria*, artinya memiliki spektrum luas^{4,1}. Ekstrak metanol, etil asetat, dan etanol daunnya menghambat bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas aeruginosa*^{5,1}.

Ekstrak diklorometan dan etanol buah karandas mampu menghambat enam jenis bakteri yaitu *S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, and *E. Faecali s*⁶. Ekstrak etil asetat buah karandas menunjukkan aktivitas antibakteri terbaik terhadap *Escherichia coli*.

Tujuan penelitian ini adalah untuk membandingkan aktivitas ekstrak daun dan buah karandas sebagai antibakteri terhadap *Streptococcus mutans*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan menguji ekstrak daun dan buah karandas terhadap beberapa bakteri. Penelitian ini dilakukan di laboratorium bahan alam dan Mikrobiologi Universitas Setia Budi.

Penelitian ini diawali dengan melakukan ekstraksi pada daun dan buah tanaman Karandas. Daun dan buah karandas segar yang sudah dicuci bersih masing-masing sebanyak 6,25 kg kemudian dioven pada suhu 40°C sampai kering. Daun yang sudah kemudian diserbuk. Serbuk yang diperoleh kemudian dihitung % rendemennya dan di uji kadar air serbuknya. Ekstraksi yang dilakukan dengan metode maserasi dengan menggunakan pelarut metanol selama 5 hari. perbandingan antara serbuk dan penyari adalah 1 gram : 7,5 mL. Filtrat yang didapat kemudian diuapkan sampai diperoleh ekstrak kental.

Identifikasi Bakteri Uji

Penelitian ini menggunakan 3 bakteri uji yakni *Streptococcus mutans*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*. Sebelum dilakukan pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun dan buah karandas, bakteri yang akan diuji diidentifikasi terlebih dahulu untuk memastikan kebenaran bakteri yang digunakan

Bakteri diidentifikasi dengan penanaman pada media selektif diferensial, pewarnaan Gram, dan uji biokimia.

Identifikasi Bakteri pada Media Selektif Diferensial

Bakteri *Streptococcus mutans* di tanam pada media *Blood Agar*. Biakan murni bakteri uji *S. mutans* ATCC 25175 diinokulasikan pada media *Blood Agar* kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Ciri koloni ditunjukkan dengan terbentuknya koloni bakteri berwarna hijau pada media.

Biakan murni bakteri *Staphylococcus aureus* diinokulasikan pada media *Vogel Johnson Agar* (VJA) yang ditambah dengan 3 tetes tellurite 1% kemudian diinkubasi selama kurang lebih 24 jam pada suhu 37°C. Ciri koloni *Staphylococcus aureus* pada media VJA adalah koloni berwarna hitam dan warna media disekitar koloni berwarna kuning.

Biakan murni bakteri uji *Escherichia coli* diinokulasikan pada media *Endo Agar* (EA) kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Ciri koloni *Escherichia coli* pada media EA adalah koloni berwarna merah dengan kilat logam yang jelas.

Identifikasi bakteri dengan pewarnaan Gram

Selanjutnya masing-masing koloni bakteri yang tumbuh pada media selektif diferensial kemudian diwarnai dengan pewarnaan Gram. Identifikasi bakteri dengan pewarnaan Gram dilakukan dengan membuat preparat ulas. Preparat ditetesi cat Gram A (kristal violet) sebanyak 2-3 tetes, didiamkan kemudian bilas dengan air menggunakan botol pijit. Selanjutnya preparat ditetesi dengan cat Gram B (iodium) diamkan kemudian bilas dengan air mengalir. Preparat kemudian ditambah dengan Gram C (etanol) diamkan sampai cat pada preparat tampak memudar kemudian bilas kembali dengan air mengalir. Terakhir tambahkan cat Gram D (safranin) diamkan dan bilas dengan menggunakan air mengalir. Preparat diamati di bawah mikroskop dengan lensa obyektif perbesaran 100x dan lensa okuler dengan perbesaran 10x.

Identifikasi Bakteri dengan Uji Katalase

Pengujian katalase dilakukan pada bakteri *Streptococcus mutans* dan *Staphylococcus aureus*. Bakteri dibiakkan pada media cair *Brain Heart Infusion* (BHI). Mengambil 1mL biakan bakteri

letakkan pada tabung reaksi kemudian tetesi dengan H_2O_2 3%. Hal ini ditandai dengan timbulnya gelembung udara. Hasil positif ditandai dengan adanya gelembung udara dan hasil negatif ditandai dengan tidak terbentuknya gelembung udara⁷.

Identifikasi Bakteri dengan Uji Koagulase

Pengujian koagulasr dilakukan pada bakteri *Streptococcus mutans* dan *Staphylococcus aureus*. Uji koagulase dilakukan dengan menambahkan 1 mL plasma sitrat ke dalam tabung reaksi steril. Sebanyak 3-4 Ose biakan bakteri yang diuji ditambahkan ke dalam tabung reaksi kemudian dicampur. Selanjutnya, tabung dimasukkan ke dalam inkubator pada suhu 37°C. Pengamatan dilakukan pada 4 jam pertama, dan sesudah 18-24 jam. Reaksi positif akan terjadi apabila terbentuk *clot* atau *jelly* dan ketika tabung dimiringkan *jelly* tetap berada di dasar tabung⁸.

Uji Aktivitas Antibakteri dengan metode Difusi

Metode uji aktivitas antibakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode difusi sumuran. Bakteri uji diinokulasikan secara pada media *Mueller Hinton Agar* (MHA) dengan menggunkan kapas lidi steril. Bakteri yang sudah diinokulasikan pada meda selanjutnya didiamkan selama 10 menit pada suhu kamar agar suspensi biakan terdifusi ke dalam media. Kemudian membuat lubang pada media menggunakan *boor prof.* kemudian memasukkan 5 µL ekstrak daun dan buah karandas (konsentrasi 20%, 40%, dan 60%) pada masing-masing ruang yang telah dibuat. Masa inkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C dan diamati hasilnya. Diameter zona hambat sekitar sumuran diukur dan dinyatakan dalam satuan mm. Hasil dapat dilihat dengan adanya area jernih yang mengidentifikasi adanya penghambatan oleh ekstrak terhadap bakteri uji. Pengujian ini dilakukan sebanyak 3 kali replikasi

HASIL

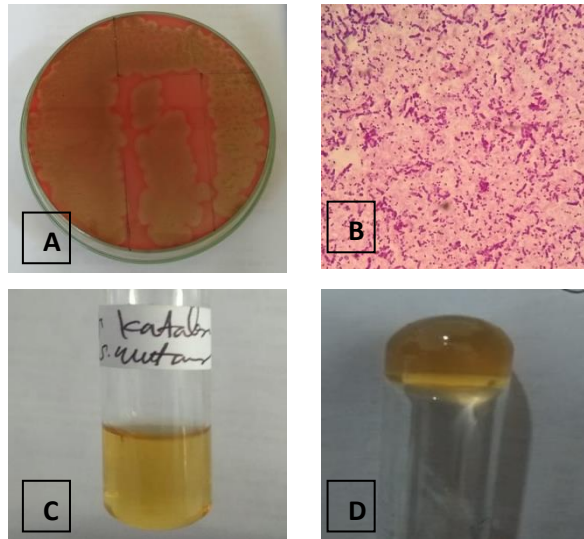
Bakteri Uji *Streptococcus mutans* *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* telah berhasil diidentifikasi untuk memastikan bakteri yang digunakan berupa kultur murni dan terbebas dari kontaminasi.

Uji aktivitas antibakteri daun dan buah Karandas terhadap bakteri uji *Streptococcus mutans*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* berhasil dilakukan. Hal ini ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening disekitar sumuran yang berisi ekstrak daun dan buah Karandas pada 3 variasi konsentrasi yang berbeda.

PEMBAHASAN

Identifikasi Bakteri *Streptococcus mutans*

Hasil identifikasi koloni bakteri *Sreptococcus mutans* pada media *Blood Agar* menunjukkan terbentuknya koloni dengan media disekita koloni berwarna hijau. Hal ini menunjukkan jika tipe hemolisis bakteri *Sreptococcus mutans* adalah tipe β. Sedangkan hasil pewarnaan Gram menunjukkan jika bakteri *Sreptococcus mutans* termasuk golongan Gram positif yang ditandai dengan sel berwarna ungu setelah dilakukan pewarnaan Gram. Sel bakteri ini berbentuk bulat dan berkoloni membentuk deret seperti rantai. Uji katalase dan koagulase menunjukkan hasil negative. Pada uji katalase tidak terbentuk gelembung karena bakteri *Sreptococcus mutans* tidak mempunyai enzim katalase yang mampu menguraikan H_2O_2 menjadi H_2 dan O_2 . Hasil uji koagulase pada bakteri ini juga negatif karena tidak terbentuk koagulan pada dasar tabung setelah dilakukan pengujian.



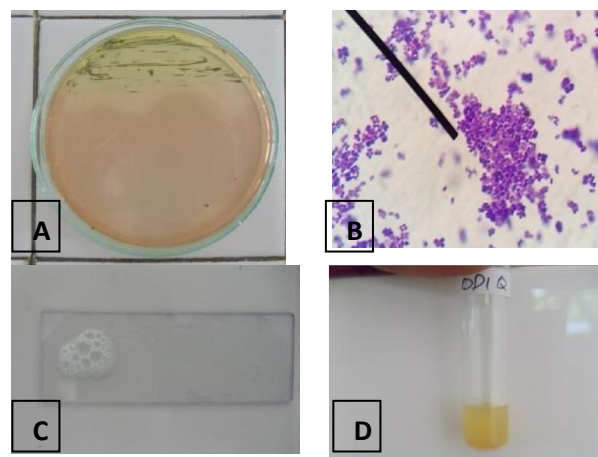
Gambar 1. Hasil Identifikasi bakteri *Streptococcus mutans* (A) hasil inokulasi pada media *Blood agar* (B) hasil Pewarnaan Gram (C) hasil uji katalase (D) Hasil Uji koagulase.

Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus*

Hasil inokulasi pada bakteri *Staphylococcus aureus* pada media VJA menunjukkan adanya koloni yang berwarna hitam dan medium disekitar koloni berwarna kuning. Hal ini disebabkan *Staphylococcus aureus* dapat memfermentasi manitol menjadi asam dan adanya indikator phenol red menyebabkan warna medium di sekitar koloni kuning, sedangkan warna hitam pada koloni disebabkan *Staphylococcus aureus* mereduksi kalium tellurite menjadi metalik tellurium dan adanya lithium chloride.

Hasil pewarnaan Gram menunjukkan hasil bakteri bersifat Gram positif yang ditandai dengan sel bakteri berwarna ungu. Sel bakteri berbentuk bulat dan berkoloni seperti buah anggur.

Hasil uji katalase menunjukkan terbentuknya gelembung setelah kultur bakteri ditambah dengan ditambah 2 tetes H₂O₂ 3%. Hal ini dikarenakan bakteri *Staphylococcus aureus* mampu menghasilkan enzim katalase yang mampu merubah H₂O₂ menjadi H₂ dan O₂. uji koagulase juga menunjukkan hasil positif karena setelah dilakukan inkubasi pada plasma darah yang ditambah kultur bakteri terbentuk gumpalan berwarna putih di dasar tabung reaksi.



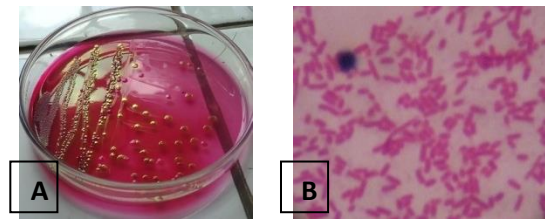
Gambar 2. Hasil Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* (A) hasil inokulasi pada media VJA (B) hasil Pewarnaan Gram (C) hasil uji katalase (D) Hasil Uji koagulase.

Identifikasi bakteri *Escherichia coli*

Hasil Inokulasi bakteri *Escherichia coli* pada media Endo agar menunjukkan hasil koloni bakteri berwarna merah dengan kilat logam yang jelas. Hal ini dikarenakan Pada media endo Agar

Escherichia coli dapat memfermentasikan laktosa dan menyerap fukhsin kristal yang menyebabkan terbentuknya koloni bulat dengan warna merah kilap logam.

Hasil pewarnaan Gram bakteri *Escherichia coli* menunjukkan hasil bakteri bersifat Gram negative ditandai dengan sel bakteri akteri berwarna merah.



Gambar 3. Hasil Identifikasi bakteri *Escherichia coli* (A) hasil inokulasi pada media EA (B) hasil Pewarnaan Gram

Uji Aktivitas Antibakteri Dengan metode Difusi

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun dan ekstrak buah *Carissa carandas* terhadap bakteri *S. mutans*, *S. aureus*, dan *E. coli* dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi menggunakan metode difusi sumuran. Metode difusi sumuran bertujuan untuk mengetahui diameter daya hambat di sekitar sumuran yang dinyatakan dalam mm, daerah yang jernih di sekitar sumuran menandakan bahwa kandungan kimia dari ekstrak daun dan ekstrak buah *Carissa carandas* memiliki daya hambat terhadap bakteri *S. mutans*, *S. aureus* dan *E. coli*. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak daun dan ekstrak buah *Carissa carandas* terhadap *S. mutans*, *S. aureus*, dan *E. coli* dengan metode difusi dapat dilihat pada tabel 1.

Pengujian antibakteri dengan tingkat konsentrasi yang berbeda bertujuan untuk melihat pengaruh setiap konsentrasi ekstrak daun dan ekstrak buah *Carissa carandas* pada bakteri yang diujikan. Semakin besar suatu konsentrasi ekstrak, maka semakin besar pula diameter zona hambat yang terbentuk. Perbedaan daya hambat disebabkan oleh perbedaan sensitivitas organisme, mekanisme dan kesinergisan kerja antara senyawa aktif di dalam ekstrak¹⁰.

Tabel 1. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak *Carissa carandas* terhadap bakteri *S. mutans* dengan metode difusi

Jenis Bakteri	Sampel	Konsent rasi	Diameter Hambat (mm)			rata-rata
			I	II	III	
<i>Streptococcus mutans</i>	Ekstrak daun	20%	11,00	12,00	11,00	11.33
		40%	13,00	12,00	12,00	12.33
		60%	14,00	13,00	13,00	13.33
	Ekstrak buah	20%	6,00	5,00	7,00	6.00
		40%	8,00	8,00	5,00	7.00
		60%	15,00	15,00	14,00	14.67
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ekstrak daun	20%	7,00	7,40	7,00	7.13
		40%	9,00	9,00	9,25	9.08
		60%	11,50	11,25	11,33	11.36
	Ekstrak buah	20%	5,00	5,00	5,00	5.00
		40%	5,00	5,33	5,50	5.28
		60%	6,00	6,67	6,00	6.22
<i>Escherichia coli</i>	Ekstrak daun	20%	8,00	8,00	8,00	8.00
		40%	11,00	11,00	11,00	11.00

	60%	16,00	16,00	16,00	16,00
Ekstrak buah	20%	5,00	5,33	5,67	5,33
	40%	8,33	8,33	8,67	8,44
	60%	10,00	10,67	10,00	10,22

Berdasarkan data yang diperoleh dilakukan analisis statistik, untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan daya hambat yang signifikan dari ekstrak daun dan buah karanda terhadap bakteri *Streptococcus mutans*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*. Dari data menunjukkan bahwa secara keseluruhan ekstrak daun karanda mempunyai aktivitas antibakteri yang lebih baik terhadap ketiga bakteri jika dibandingkan dengan ekstrak buah karanda.

Hasil pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi diuji secara statistik dengan *Analisis of Varians* (ANOVA) *one way*. Anova *one way* digunakan untuk membandingkan ekstrak serta kristal pada setiap konsentrasi 20%, 40%, dan 60%. Hasil analisis *homogeneous subsets* menunjukkan bahwa ekstrak daun 60% memiliki aktivitas antibakteri paling optimal dalam menghambat bakteri *Escherichia coli* jika dibandingkan dengan sampel lain. Daya hambat yang dihasilkan adalah sebesar diameter hambatnya ialah 16,00 mm. Sedangkan aktivitas antibakteri yang paling rendah adalah ekstrak buah karanda pada konsentrasi 20% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

KESIMPULAN DAN SARAN

Ekstrak daun dan buah tanaman *Carissa carandas* mempunyai aktivitas antibakteri pada bakteri *Streptococcus mutans*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*. Hasil pengujian menunjukkan ekstrak daun 60% mempunyai aktivitas antibakteri tertinggi terhadap bakteri *Escherichia coli*, sedangkan aktivitas terendah pada ekstrak buah karanda 20% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

DAFTAR PUSTAKA

- Tesfaye T and Ravichadran YD. Traditional Uses, Pharmacological Action and Phytochemical Analysis of *Carissa carandas* Linn.: A Review. *Nat Prod Chem Res* 2018, 6(5):1-20.
- Singh A, Upal GK. A Review On *Carissa carandas* Phytochemistry, Ethnopharmacology, And Micropropagation As Conservation Strategy. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2015.vol 8
- Bhushan SB, Ravindra HP (2017) Isolation, purification and characterization of antioxidative steroid derivative from methanolic extract of *Carissa carandas* L. leaves. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 10: 216-223.
- Fartyal M, Kumar P (2014) Bioactivity of crude extracts of *Carissa carandas* L. extracted in polar and non-polar solvents. *International Journal of Engineering, Science and Innovative Technology* 3: 186-191.
- Agarwal T, Singh R, Shukla AD, Waris I (2012) In vitro study of antibacterial activity of *Carissa carandas* leaf extracts. *Asian Journal of Plant Science and Research* 2: 36-40.
- Sudjaroen Y, Suwannahong K. In vitro antioxidant, antibacterial, and cytotoxicity activities from Karanda (*Carissa carandas* L.) fruit extracts. *International Journal of Green Pharmacy* • Jan-Mar 2017 (Suppl) • 11 (1) | S189-S193.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. 2013. *Mikrobiologi Kedokteran*. Ed.26, Translation of Jawetz, Melnick, and Adelberg's Medical Microbiology, 23thEd. Alih bahasa oleh Hartanto, H *et al*. Jakarta: EGC.
- Lay, B. W. (1994). Analisis Mikroba Di Laboratorium. Jakarta: PT. Raja Grafindo Persada.
- Pratiwi. 2008. Mikrobiologi Farmasi. Jakarta: Erlangga
- Silawati SO. 2018. Aktivitas antibakteri minyak atsiri daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* secara in vitro [SKRIPSI]. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta.