

**Uji Kadar Hambat Minimal Infusa Kayu Secang
(*Caesalpinea Sappan* Linn) Terhadap *Shigella Flexneri* Invitro**

***Minimal Inhibitory Concentration of *Caesalpinea Sappan* Linn
Infusion againsts *Shigella Flexneri* In Vitro***

Lilis Suryani

Bagian Mikrobiologi FK Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

Abstract

Caesalpinea sappan Linn is a medicine plant for tradisionil medicine. Its can used to cure diarrhea, dysentery, cough, malaria, and tetanus. *Caesalpinea sappan* Linn infusion is made by boiling to cure using.

By macro broth dilution method, the examination had been performed in vitro to identify minimal inhibitory concentration of *Caesalpinea sappan* Linn infusion against *Shigella flexneri*. *Caesalpinea sappan* Linn infusion was made according to Farmakope Indonesia. The research had been held at Microbiology Laboratory of Medical Faculty, Muhammadiyah University Yogyakarta.

The result of the study were:

- (1) *Caesalpinea sappan* Linn infusion has bacteriostatic activity against *Shigella flexneri* with minimal inhibitory concentration about 1,18 gr%.
- (2) *Caesalpinea sappan* Linn infusion has bacteriside activity against *Shigella flexneri* with minimal bakteriside concentration about 12,5 gr%.

Key words : *Caesalpinea sappan* Linn, *Shigella flexneri*, minimal inhibitory concentration, minimal bakteriside concetration.

Key Alat Penelitian

yang digunakan dalam penelitian ini adalah: tabung serum yang steril, pipet 2 ml, media: Brain Heart Infusion, Nihil Hinko, cat darah, dan kadar Brown II, larutan hasil reasuspensi akandes steril yang telah digunakan untuk media. Media yang digunakan adalah: media yang telah disiapkan, cawan petri, tabung serum, tabung reaksi, pipet, termometer, dan alat-alat lainnya, oven dan lemari es flow.

Abstrak

Kayu secang (*Caesalpinea sappan* Linn) banyak digunakan sebagai obat-obatan tradisional sebagai obat diare, disentri, batuk, luka berdarah , obat sakit kepala, malaria, tetanus serta pengobatan setelah bersalin. Pemakaiannya dengan cara direbus, infusnya digunakan untuk keperluan pengobatan.

Dengan menggunakan teknik pengenceran tabung, telah dilakukan uji kadar hambat minimal infusa kayu secang terhadap *Shigella flexneri* in vitro. Infusa kayu secang dibuat sesuai dengan yang termaktub dalam Farmakope Indonesia. Penelitian dilakukan di laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa:

- (1) Infusa kayu secang (*Caesalpinea sappan* Linn) memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan *Shigella flexneri* dengan kadar hambat minimal sebesar 1,18 gr%.
- (2) Infusa kayu secang (*Caesalpinea sappan* Linn) memiliki kemampuan membunuh *Shigella flexneri* dengan kadar bunuh minimal sebesar 12,5 gr%.

Kata kunci: Secang, *Shigella flexneri*, kadar hambat minimal, kadar bunuh minimal

Pendahuluan

Masyarakat Indonesia adalah pengguna obat tradisional. Aneka resep untuk aneka penyakit sudah memasyarakat di kalangan penduduk secara turun temurun. Suku Jawa, Sunda, Aceh, Batak, Maluku hingga masyarakat pedalaman Kalimantan banyak memiliki obat-obatan spesifik dengan bahan yang mereka peroleh dari sekitar tempat tinggal mereka. Sayangnya, generasi muda kurang peduli dengan kekayaan tradisional ini. Padahal, jika potensi ini dimanfaatkan banyak keuntungan yang kita peroleh.

Salah satu bahan tumbuh-tumbuhan yang berkhasiat obat adalah kayu secang (*Caesalpinia sappan* Linn). Di Indonesia kayu secang banyak dipakai sebagai obat diare, diare berdarah (disentri) serta untuk mengobati beberapa penyakit lainnya seperti batuk berdarah, luka berdarah. Kayu secang yang sudah menjadi serbuk bila dicampur dengan kapur sirih dapat dipergunakan sebagai obat kompres untuk payudara yang nyeri serta sakit kepala. Bila diseduh dengan air dingin, dapat digunakan untuk mengobati radang selaput lendir mata, dan bila dicampur dengan ketumbar dapat digunakan untuk mengobati penyakit sifilis. Selain itu seduhan kayu secang dapat juga berfungsi sebagai desinfektan (Tampubolon, 1995; Muhlisah, 1999).

Di India godogan hati kayu secang digunakan sebagai obat diare, disentri dan obat penyakit kulit. Hati kayu secang dikenal mengandung sejumlah pigmen fenolik. Salah satu dari pigmen utamanya, adalah brazilin. Brazilin telah diketahui beberapa puluh tahun yang lalu mempunyai daya antibakteri dengan cara menghambat pertumbuhan bakteri (Tang dan Eisenbrand, 1993).

Menurut Wijayakusuma (1996), kayu secang dapat digunakan untuk mengobati berbagai penyakit yang berhubungan dengan darah, untuk mengobati malaria, tetanus serta pengobatan setelah bersalin. Pemakaiannya dengan cara direbus dan infusanya digunakan untuk keperluan pengobatan, baik untuk obat luar maupun obat dalam.

Sehubungan dengan adanya indikasi kayu secang mempunyai khasiat antidisentri seperti tersebut di atas, perlu dilakukan penelitian tentang uji kadar hambat minimal infusa kayu secang (*Caesalpinia sappan* Linn) terhadap *Shigella flexneri* invitro.

Bahan dan Alat Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: larutan infusa kayu secang dengan konsentrasi 25 gr%, medium Brain Heart Infusion, Muller Hinton cair, nutrisi agar, larutan standar Brown III, larutan NaCl fisiologis dan akuades steril.

Adapun alat yang digunakan adalah: inkubator Memmert, autoklaf, mikroskop, timbangan, panci infusa, cawan petri, labu erlemeyer, tabung reaksi, pipet, termometer, ose, pinset, lampu Bunsen, oven dan laminar air flow.

Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari strain galur murni *Shigella flexneri* 4a yang diperoleh dari laboratorium Mikrobiologi Labda DIY. Sebagai pembanding juga digunakan strain bakteri lokal.

Prosedur penelitian:

(1) Pembuatan infusa kayu secang

Seotong kayu secang yang sudah dikeringkan dibuang kulitnya kemudian dipisahkan bagian kayunya. Kayu secang kemudian dikerok hingga berbentuk serbuk. Serbuk tersebut ditimbang sebanyak 25 gram selanjutnya dicampur dengan akuades 100 ml, sehingga diperoleh konsentrasi 25% b/v (Depkes RI, 1989). Larutan tersebut selanjutnya dipanaskan dalam panci infusa pada suhu 90°C. Setelah itu cairan dikeluarkan dan dibiarkan agak dingin, kemudian disaring dengan kain flanel steril sehingga bahan dan air infusa terpisah. Infusa ini kemudian ditampung dalam labu erlemeyer steril dan ditutup rapat. Bila volume infusa yang dihasilkan kurang dari 100 ml, ditambah akuades steril hingga volume sampai 100 ml. Selanjutnya larutan infusa kayu secang tersebut disaring dengan menggunakan filter bakteri.

(2) Pemeriksaan sterilitas infusa kayu secang

Infusa yang diperoleh setelah di saring dengan filter bakteri, diuji lagi sterilitasnya dengan cara diteteskan sebanyak 5 ml ke dalam tabung perbenihan cair Muller Hinton. Hasilnya dibaca setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. jika tidak terjadi kekeruhan pada tabung perbenihan berarti infusa dinyatakan steril.

(3) Penyiapan bakteri uji

Koloni *Shigella flexneri* 4a disubkultur pada lempeng agar Mueller Hinton selama 24 jam pada suhu 37°C. Koloni yang tumbuh dipilih 5 koloni yang baik, dengan ose steril diinokulasikan pada 5 ml media cair BHI, lalu diinkubasikan selama 2 jam pada suhu 37°C sampai terlihat pertumbuhan bakteri. Suspensi tersebut diencerkan lagi dengan larutan garam fisiologis steril sampai kekeruhan sesuai dengan standar Brown III (diduga mengandung kuman 10⁸ CFU/ml) dan selanjutnya diencerkan lagi dengan media cair BHI hingga konsentrasinya menjadi 10⁶ CFU/ml.

(4) Penentuan kadar hambat minimal infusa kayu secang (*Caesalpinia sappan* Linn) dengan metode seri pengenceran tabung (Macro broth dilution)

Disediakan 12 tabung volume 5 ml steril. Kedalam tabung-tabung tersebut dimasukkan 1 ml akuades steril, kecuali tabung ke-1, ke-11 dan tabung ke-12. Selanjutnya dimasukkan pula 1 ml sediaan infusa dengan konsentrasi 25 gr% pada tabung ke-1 dan ke-2. Tabung ke-2 digojog sampai homogen, diambil 1 ml dengan pipet steril dan dimasukkan ke dalam tabung ke-3. tabung ke-3 digojog sampai homogen, diambil 1 ml kemudian dimasukkan ke tabung nomor 4. Demikian seterusnya, sehingga diperoleh pengenceran secara serial menjadi setengah konsentrasi mula-mula.

Bakteri uji dengan konsentrasi 10^6 CFU/ml dimasukkan masing-masing 1 ml ke dalam tabung ke-1 sampai tabung ke-10 dan tabung ke-12. Tabung ke-11 hanya mengandung sisa pengenceran infusa kayu secang sebagai kontrol sterilitas bahan uji (kontrol negatif), sedangkan tabung ke-12 sebagai kontrol pertumbuhan bakteri (kontrol positif).

Deretan seri pengenceran tabung yang berisi infusa tersebut kemudian diinkubasikan pada 37°C selama 24 jam. Kadar hambat minimal akan ditunjukkan dengan tidak terjadi kekeruhan dengan konsentrasi terendah pada deretan tabung yang memperlihatkan bening pertama. Untuk meyakinkan apakah bakteri sudah benar-benar mati atau belum, diambil 1 ose larutan jernih dari tabung-tabung yang mulai tidak menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri. Kemudian ditanam ke medium nutrisi agar, diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 37°C . Kadar bunuh minimal ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan koloni bakteri pada medium nutrisi agar dengan konsentrasi terendah.

Hasil dan Pembahasan

Dari hasil penelitian yang meliputi penentuan kadar hambat minimal (KHM) dan kadar bunuh minimal (KBM) dari infusa kayu secang (*Caesalpineia sappan* Linn), sebagai upaya untuk mengetahui kemampuan infusa secang membunuh bakteri *Shigella flexneri* diperoleh hasil sebagai berikut.

Tabel 1. Hasil Penentuan Kadar Hambat Minimal dan Kadar Bunuh Minimal Infusa Kayu Secang terhadap *Shigella flexneri*

No	KHM (gr%)	KBM (gr%)
1	0,79	12,5
2	1,31	12,5
3	1,1	12,5
rerata	1,18	12,5

Dari table 1 di atas dapat dilihat bahwa kadar hambat minimal infusa kayu secang (*Caesalpineia sappan* Linn) terhadap *Shigella flexneri* sebesar 1,18 gr%, dan kadar bunuh minimalnya sebesar 12,5 gr%. Hal ini menunjukkan bahwa infusa kayu secang mampu menghambat dan membunuh kuman *Shigella flexneri*.

Shigella flexneri merupakan bakteri penyebab penyakit disentri basiler. *Shigella flexneri* ditularkan melalui makanan, tinja, dan alat dari penderita ke orang yang sehat. *Shigella* mempunyai susunan antigen yang kompleks. Antigen somatik O *Shigella* berupa senyawa lipopolisakarida. Antigen O bersifat hidrofilik berfungsi menutupi permukaan bakteri, sehingga dapat menghalau zat yang hidrofobik (Ryan, 1994).

Adanya daya antibakteri infusa kayu secang (*Caesalpineia sappan* Linn) disebabkan oleh karena kayu secang mengandung berbagai senyawa, diantaranya adalah tannin, brazilin, asam galat, saponin, sappanin, alkaloid, fitosterol, homoisoflavon, juga terdapat minyak menguap yang berisi oscimene dan d-alpha pellandren. Tumbuhan secang juga mengandung minyak atsiri yang mengandung fenol alam yang bersifat bakterisid maupun bakteriostatik (Wijayakusuma, 1996).

Adanya fenol yang terkandung dalam minyak atsiri tersebut, menyebabkan infusa kayu secang memiliki kemampuan untuk membunuh bakteri. Fenol merupakan senyawa yang dapat berfungsi sebagai antiseptik dan analgesik. Bekerja dengan cara merusak dinding sel bakteri, membran sitoplasma dan juga menyebabkan denaturasi protein (Mutschler, 1991). Tanin yang terkandung dalam infusa kayu secang juga bersifat bakterisid, sebab tannin merupakan asam hidroksi benzoat yang mempunyai gugus hidroksi fenolik yaitu penghambat enzim yang kuat bila terikat pada protein sel bakteri. Secara local dapat menimbulkan presipitasi protein pada permukaan sel bakteri sehingga permeabilitas membran sel menurun. Jika permeabilitas membran sel berubah maka akan mempengaruhi sistem regulasi dalam sel bakteri. Sistem transport dari dan ke dalam sel juga akan terganggu (Mannito, 1992).

Simpulan

- (1) Infusa kayu secang (*Caesalpineia sappan* Linn) memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan *Shigella flexneri* dengan kadar hambat minimal sebesar 1,18 gr%.
- (2) Infusa kayu secang (*Caesalpineia sappan* Linn) memiliki kemampuan membunuh *Shigella flexneri* dengan kadar bunuh minimal sebesar 12,5 gr%.

Saran

- (1) Perlu dilakukan penelitian lanjut mengenai daya antibakteri infusa kayu secang (*Caesalpineia sappan* Linn) terhadap *Shigella flexneri* secara invivo.
- (2) Perlu dilakukan penelitian lanjut tentang daya antibakteri infusa kayu secang terhadap bakteri patogen yang lain.

Ucapan Terimakasih

Peneliti mengucapkan terimakasih kepada Dra.Ning Rintiswati,MKes, yang telah memberi bimbingan selama penelitian.

Daftar Pustaka

- Departemen Kesehatan, RI, 1989, *Vademecum Bahan Obat Alam*.
- Manito, 1992, *Biosintesis Produk Alami (Terjemahan)*, Penerbit IKIP Semarang Press.

- Muhlisah,F, 1999, *Temu-temuan dan Empon-empon Budidaya dan Manfaatnya*, Penerbit Kanisius Yogyakarta.
- Mutschler,E, 1991, *Dinamika Obat*, edisi kelima, Penerjemah: Widiyanto,MB dan Ranti,AS, Penerbit ITB, Bandung.
- Ryan,KJ., Falkow,S, 1994, *Enterobacteriaceae*, Dalam: Ryan,KJ., *Sherris Medical Microbiology an Introduction to Infection Diseases*, Third edition, Prentice-hall International Inc.London.
- Tang,W., Eisenbrand,G., 1993, *Chinese Drug of Plant Origin, Chemistry, Pharmacology and Use in Tradisional and Modern Medicine*.
- Tampubolon,OT, 1995, *Tumbuhan Obat Bagi Pencinta Alam*, Bharata Karya Aksara Jakarta.
- Wijayakusuma,HM., Dalimartha, Wirian,AS, 1996, *Tanaman Berkhasiat Obat Indonesia*, Jilid 4, Pustaka Kartini, Jakarta.