

AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK BIJI TERATAI (*Nymphaea pubescens* Willd) TERHADAP BAKTERI PATOGEN PENYEBAB DIARE

[Antibacterial Activity of Water lily Seed Extract Toward Diarrhea-causing Pathogenic Bacteria]

Yuspihana Fitrial¹⁾, Made Astawan²⁾, Soewarno S. Soekarto²⁾, Komang G. Wiryawan³⁾, Tutik Wresdiyati⁴⁾ dan Rita Khairina¹⁾

¹⁾ Staf Pengajar Fakultas Perikanan UNLAM

²⁾ Staf Pengajar Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fateta IPB

³⁾ Staf Pengajar Departemen Ilmu Nutrisi dan Teknologi Pangan, Fakultas Peternakan, IPB

⁴⁾ Staf Pengajar Departemen Anatomi, Fisiologi & Farmakologi, FKH IPB

Diterima 20 Agustus 2008/ Disetujui 28 Desember 2008

ABSTRACT

The objectives of this study was to observe antibacterial activities of water lily seed, against diarrhea-causing pathogenic bacteria as well as lactic acid bacteria; phytochemistry components in water lily seed and to evaluate each component's activities against pathogen bacteria.

Extraction of antibacterial components in the seed was done by fractional extraction methods using solvent based on its polar level, i.e. hexane, ethyl acetate and ethanol. The activities of each extract was tested by using diarrhea-causing bacteria, Enteropathogenic *Escherichia coli* K.1.1 (EPEC K1.1) and *S. typhimurium* with agar well diffusion method. The minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) values were calculated with plate counting. Qualitative phytochemical tests were performed on all extracts. Fractionation was performed on extract with the largest antimicrobial activity by using thin-layer chromatography. The activities of each fraction were tested qualitatively by bio-autography method on thin layer chromatographic plates.

The water lily seed had an antibacterial activity against EPEC K.1.1 and *Salmonella typhimurium*, especially in ethyl acetate extract. Ethanol extract had the same, yet lower activity. Ethyl acetate and ethanol extract of the seed did not show inhibition against the growth of lactic acid bacteria (*Lactobacillus* sp) and *Bifidobacterium bifidum*.

The MIC and MBC values of the ethyl acetate extract on EPEC K1.1 were 0.89 (mg/mL) and 1.33 (mg/mL), respectively, while similar values of that on *S. Typhimurium* were 1.11 (mg/mL) and 1.33 (mg/mL), respectively. Phytochemistry components within ethyl acetate extract were alkaloids, flavonoids, tannins, glycosides, saponins, and triterpenoids. All fractions in the ethyl acetate extract had antimicrobial activities against EPEC K.1.1 and *S. Typhimurium*. These fractions were thought to inhibit the growth of the test-microbes by synergic action of each component.

Key words: water lily seed, antibacterial, ethyl acetate extract

PENDAHULUAN

Teratai merupakan tanaman air yang banyak tumbuh secara alami di perairan rawa atau sungai yang tidak begitu dalam dan berair tenang. Kalimantan Selatan memiliki rawa seluas 800.000 Ha (BPS Kalimantan Selatan, 2000) yang banyak ditumbuhi tanaman air, salah satunya adalah teratai. Bagian tanaman teratai ini yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan pangan adalah bunga, biji, batang dan umbinya. Akan tetapi yang paling banyak dimanfaatkan oleh penduduk, terutama di daerah Hulu Sungai Utara adalah bijinya. Biji buah teratai oleh penduduk setempat sering dijadikan sebagai sumber karbohidrat pengganti beras di saat paceklik ataupun dijadikan tepung untuk membuat kue. Penelitian Kairina dan Fitrial (2001) memberikan hasil bahwa dari setiap rumpun teratai rata-rata terdapat 5 buah teratai tua yang menghasilkan 63.10 gram biji teratai kering. Biji teratai kering inilah yang kemudian dikupas kulitnya dan dijual di pasar.

Biji teratai putih yang biasa dijadikan bahan pangan berasal dari spesies *Nymphaea pubescens* Willd.

Di Filipina dan India, biji teratai dijadikan tepung untuk pembuatan roti (Sastrapradja dan Bimantoro, 1981). Di daerah Tuban, Jawa Timur, biji teratai dicampur dengan beras ketan, dijadikan dodol atau jenang yang (Marianto, 2001).

Secara tradisional, tanaman teratai digunakan sebagai bahan obat-obatan. Bagian umbi dimanfaatkan sebagai jamu-jamuan yang direbus untuk mengobati disentri atau diare yang disebabkan oleh sindrom iritasi pada usus besar, gonorrhoe, bisul dan tumor (Anonim, 2004; Grieve, 2004; Depkes, 1997). Biji teratai juga memiliki khasiat meningkatkan fungsi hati dan limfa, memperbaiki stamina dan membuat awet muda. Bagian biji mengandung alkaloid, nupharine (Hughes, 2004). Oleh karena itu perlu kajian lebih lanjut mengenai potensi biji teratai sebagai pangan fungsional antidiare dengan menganalisis aktivitas antimikroba ekstrak biji teratai terhadap bakteri patogen penyebab diare, menganalisis komponen fitokimia ekstrak serta mengevaluasi aktivitas masing-masing fraksi ekstrak terhadap pertumbuhan bakteri patogen penyebab diare.

METODOLOGI

Bahan

Biji teratai jenis *Nymphaea pubescens* Willd. diperoleh dari daerah Hulu Sungai Utara, Kalimantan Selatan. Biji yang terdapat dalam buah dipanen dengan cara memetik buahnya yang sudah tua. Buah yang sudah tua dibusukkan sehingga buah akan pecah. Biji dipisahkan dari daging buah dan dicuci. Biji yang sudah bersih mengendap di dasar wadah pencucian. Biji dijemur sehingga kering. Biji yang kering berwarna hijau tua atau kecoklatan dan kulitnya keras. Sebelum dibuat tepung, kulit biji dibuang dengan cara menemukannya atau menggunakan alat pembuang kulit padi. Biji teratai yang sudah dibuang kulit arinya digiling halus dengan blender sehingga berbentuk tepung.

Ekstraksi senyawa antimikroba biji teratai (Houghton and Raman, 1998)

Ekstraksi komponen antimikroba secara maserasi menggunakan metode ekstraksi bertingkat berdasarkan tingkat kepolaran pelarut yaitu heksana (tidak polar), etil asetat (semi polar) dan etanol (polar). Pertama-tama biji teratai dalam bentuk tepung dimaserasi pada suhu ruang selama 24 jam dengan heksana, dengan perbandingan tepung biji teratai dengan pelarut 1 : 4 (b/v). Ekstraksi dengan pelarut yang sama diulang lagi dengan perbandingan bahan dan pelarut sama dengan yang pertama. Filtrat diambil sebagai ekstrak heksana dan endapan dimaserasi dengan etil asetat selama 24 jam. Filtrat diambil sebagai ekstrak etil asetat, sedangkan endapan dimaserasi lagi dengan etanol selama 24 jam dan filtratnya diambil sebagai ekstrak etanol. Pelarut diuapkan dengan rotavapor suhu 40 °C, sisa pelarut diuapkan dengan gas nitrogen. Ekstrak yang diperoleh digunakan sebagai sampel untuk analisis dan pengujian antibakteri.

Rendemen ekstrak dihitung sebagai persen ekstrak kering (tanpa pelarut) (g ekstrak/100 g tepung biji teratai).

Analisis senyawa antimikroba dengan difusi agar

Mikroba uji adalah *Escherichia coli* Enteropatogenik K1.1 (EPEC K1.1) koleksi dari Dr. dr. Sri Budiarti dari Laboratorium Bioteknologi Hewan & Biomedis, Pusat Penelitian Bioteknologi IPB, *S. Typhimurium* (FNCC-050) dan *L. acidophilus* (FNCC-051) koleksi dari Laboratorium Mikrobiologi PAU Universitas Gajah Mada dan *Bifidobacterium bifidum* (INCC) koleksi dari Balitbang Mikrobiologi Puslitbang Biologi LIPI Bogor.

Kultur bakteri murni dalam bentuk liofil dibuka secara aseptis lalu dipindahkan ke dalam tabung yang berisi medium NB steril, diinkubasi 48 jam pada 37 °C. Sebagai stok bakteri, dibuat kultur bakteri dalam agar miring dengan medium NA, disimpan di dalam lemari pendingin setelah terlebih dahulu diinkubasikan selama 24-48 jam. Setiap stok bakteri yang akan digunakan dalam pengujian aktivitas antibakteri, selalu disegarkan kembali di dalam medium NB

steril selama 24 jam pada 37 °C, dihomogenkan dengan alat vorteks, lalu diinokulasikan sebanyak 20 µL ke dalam labu erlemeyer yang berisi 20 ml medium agar cair (NA, 44-45 °C) steril, dikocok merata, kemudian dituang ke dalam cawan petri steril dan dibiarkan sampai membeku. Selanjutnya dibuat 3-4 lubang (sumur) secara aseptis dengan diameter sumur 6.0 mm (seragam). Ke dalam tiap lubang, diinokulasikan 60 µL ekstrak biji teratai dengan konsentrasi 10 %, 20 % dan 30 % (b/v) dalam pelarut heksana (untuk ekstrak heksana), etil asetat (untuk ekstrak etil asetat dan etanol (untuk ekstrak etanol). Sebagai kontrol (0 %), diinokulasikan 60 µL pelarut (Gariga *et al.* 1983). Pada antibiotik (ampisilin, amoksisilin dan kloramfenikol) digunakan konsentrasi 2 % (b/v) antibiotik dalam pelarut DMSO.

Zona hambatan yang diukur adalah radius (*r*, mm) penghambatan berupa areal bening di sekeliling sumur uji, setelah diinkubasikan selama 24 jam pada 37 °C. Pengukuran jari-jari zona hambatan di sekeliling sumur uji dilakukan dengan cara mengukur jarak dari tepi sumur uji ke batas lingkaran zona hambatan menggunakan jangka sorong (ketelitian 0.01 mm) pada beberapa sisi sumur uji, lalu dirata-ratakan. Selanjutnya nilai diameter (*d*, mm) zona hambat hasil pengamatan langsung, diperoleh dengan perhitungan $d = 2 \times r$.

Penentuan MIC dan MBC

Penentuan konsentrasi minimum penghambatan (MIC = *minimum inhibitory concentration*) dilakukan dengan metode Kubo (1992) pada konsentrasi 0-1.55 mg/mL. Ekstrak dicampur dengan kultur bakteri uji dalam inkubator goyang dengan kecepatan 150 rpm selama 24 jam. Total mikroba dihitung dengan metode hitungan cawan. Nilai MIC yaitu konsentrasi minimum ekstrak yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji sebanyak 90 % selama 24 jam, sedangkan konsentrasi minimum pembunuhan (MBC = *minimum bactericidal concentration*) merupakan konsentrasi minimum ekstrak yang dapat membunuh bakteri uji.

Fraksinasi ekstrak biji teratai

Fraksinasi menggunakan TLC kaca (Kieselgel 60 F254 0.2 mm, Merck). Sebagai fase gerak adalah heksana dan etil asetat dengan perbandingan 7:3. Komponen-komponen yang terpisah dilihat dengan menggunakan sinar ultra violet (254 dan 360 nm).

Bioautografi

Ekstrak biji difraksinasi dengan TLC berukuran 5x20 cm (Kieselgel 60 F254 0.2 mm, Merck) dengan pelarut heksana:etil asetat = 7:3. Setelah komponen ekstrak terpisah, TLC disiram dengan agar yang mengandung mikroba uji (EPEC K1.1 dan *Salmonella Typhimurium*) dengan konsentrasi 10⁵ dalam media agar. TLC diinkubasikan dalam cawan steril selama 18 jam suhu 37 °C. Setelah diinkubasikan, plate TLC disemprot dengan 2 mg/mL larutan *p*-iodonitrotetrazolium violet (Sigma) menurut metode Springfield *et al.* (2003) yang dimodifikasi. Daerah bening

dari kromatogram menunjukkan penghambatan pertumbuhan mikroba.

Analisis fitokimia

Analisis fitokimia dari masing-masing ekstrak meliputi alkaloid, tanin, saponin, glikosida, flavonoid, triterpenoid dan steroid (Harborne, 1987).

HASIL DAN PEMBAHASAN

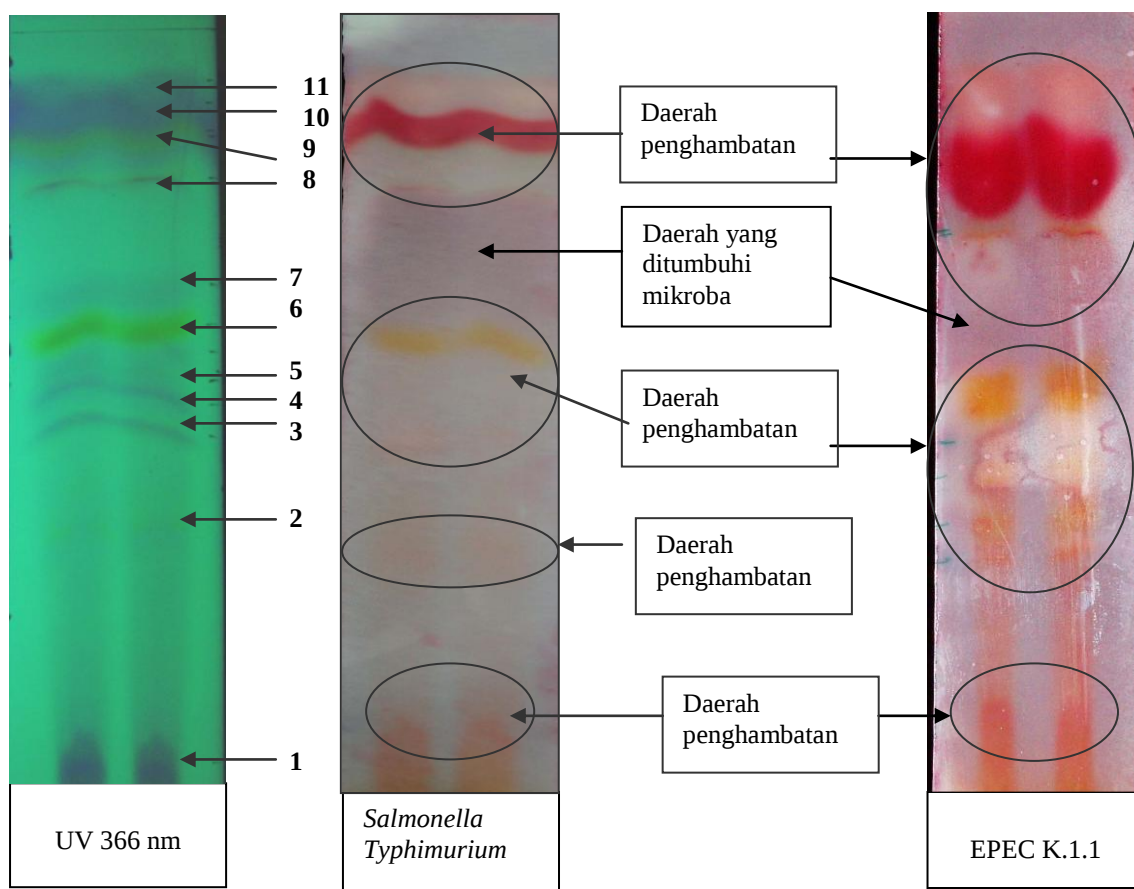
Zat antibakteri biji teratai

Sifat fisik dan rendemen ekstrak heksana, ekstrak etil asetat dan ekstrak etanol dapat dilihat pada Tabel 1. Ekstrak polar yang merupakan ekstraksi dengan pelarut etanol memberikan rendemen yang paling tinggi (7.34 %) dibandingkan ekstrak nonpolar (heksana, 0.84 %) dan ekstrak semipolar (etil asetat, 0.95 %). Tingginya rendemen pada ekstrak etanol selain karena adanya komponen fitokimia yang bersifat polar yang larut pada etanol, juga karena biji teratai mengandung karbohidrat yang tinggi (88.36 % bk) dan protein (10.39 % bk) (Khairina dan Fitriani, 2002). Beberapa dari komponen karbohidrat dan protein tersebut dapat larut pada etanol yang sifatnya polar.

Tabel 1 Sifat fisik dan rendemen ekstrak biji teratai		
Jenis ekstrak	Fisik ekstrak	Rendemen (%)
Ekstrak heksana	Jingga, cair (oily)	0.84
Ekstrak etilasetat	Jingga kecoklatan, kental	0.95
Ekstrak etanol	Coklat kemerahan, kental	7.34

Keterangan : Kadar air tepung biji = 13%

Aktivitas antimikroba ekstrak heksana, ekstrak etil asetat dan ekstrak etanol biji teratai terhadap EPEC K.1.1 dan *S.typhimurium* dengan metode difusi sumur pada nutrient agar ditunjukkan pada Tabel 2. Secara umum ekstrak etil asetat mempunyai penghambatan relatif lebih tinggi daripada ekstrak heksana dan ekstrak etanol terhadap kedua bakteri uji. Ekstrak heksana terlihat tidak memiliki aktivitas penghambatan terhadap pertumbuhan EPEC K1.1 dan *S.typhimurium*. Kedua mikroba uji terlihat lebih sensitif terhadap ekstrak etil asetat dibandingkan dengan ekstrak etanol.



Gambar 1. Bioautogram penghambatan ekstrak etil asetat biji teratai terhadap EPEC K1.1 dan *S. typhimurium*

Ekstraksi dengan heksana bertujuan untuk menghilangkan senyawa-senyawa nonpolar alami, terutama senyawa-senyawa lilin tanaman, minyak nabati dan/atau sebagian minyak atsiri (Houghton dan Raman, 1998). Menurut Kanazawa *et al.* (1995) senyawa minyak dan lipida lainnya mempunyai ukuran molekul besar sehingga tidak dapat masuk ke dalam dinding sel dan menjadi penghalang masuknya minyak atsiri dan komponen fitokimia lainnya ke dalam sel bakteri uji, akibatnya sel tetap akan tumbuh.

Hal yang sama juga terjadi pada ekstrak heksana *Helianthemum glomeratum* yang menunjukkan tidak adanya aktivitas penghambatan terhadap bakteri patogen penyebab diare seperti *Shigella* sp., *Salmonella* sp., *Vibrio cholera*, *E.coli* EIEC dan ETEC (Meckes *et al.* 1997). Demikian pula pada ekstrak heksana andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC) terhadap *B. cereus*, *S. typhimurium*, *S. aureus* (Parhusip, 2006) dan ekstrak heksana bunga kecombrang terhadap *B. cereus*, *S. typhimurium*, *L. monocytogenes*, *E. coli*, *A. hydrophila* dan *P. aeruginosa* (Naufalin, 2005).

Pada Tabel 2 terlihat ekstrak etil asetat memiliki aktivitas antimikroba yang lebih tinggi daripada ekstrak etanol dan ekstrak heksana. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa aktif yang berperan sebagai antimikroba adalah senyawa semi polar. Ekstrak etil asetat memberikan penghambatan yang tinggi. Kemampuan senyawa semi polar untuk menghambat pertumbuhan bakteri berkaitan dengan komponen dinding sel bakteri yang tidak bersifat

absolut hidrofobik maupun absolut hidrofilik. Kanazawa *et al.* (1995) menyatakan bahwa suatu senyawa yang mempunyai polaritas optimum akan mempunyai aktivitas antimikroba yang maksimum, karena untuk interaksi suatu senyawa antimikroba dengan bakteri diperlukan keseimbangan hidrofilik-hidrofobik. Diduga senyawa semi polar mempunyai afinitas lebih tinggi untuk berinteraksi dengan dinding sel, sehingga ekstrak semi polar lebih efektif menghambat pertumbuhan EPEC K.1.1 dan *S.typhimurium* daripada ekstrak etanol (polar) dan ekstrak heksana (non polar). Sifat hidrofilik diperlukan untuk menjamin senyawa dapat larut dalam fase air yang merupakan tempat hidup mikroba, tetapi senyawa yang bekerja pada membran sel yang hidrofobik memerlukan pula sifat lipofilik, sehingga senyawa antibakteri memerlukan keseimbangan hidrofilik-lipofilik untuk mencapai aktivitas yang optimum.

Pada ekstrak etanol yang bersifat polar terlihat aktivitas antimikroba yang lebih rendah dibandingkan ekstrak etil asetat terhadap EPEC K1.1 dan *S. typhimurium*. Beberapa peneliti melaporkan bahwa keberadaan minyak dalam ekstrak non-polar dan protein dalam ekstrak polar merupakan faktor yang mempengaruhi aktivitas antimikroba dari senyawa fenolik (Nychas, 1995). Ekstrak etanol biji teratai merupakan ekstrak polar yang mengandung tanin (Tabel 3), tanin dapat berikatan dengan protein biji sehingga aktivitas tanin sebagai antimikroba menjadi terganggu.

Tabel 2 Diameter penghambatan (mm) ekstrak heksana, ekstrak etil asetat dan ekstrak etanol biji teratai dibandingkan dengan antibiotik

Jenis ekstrak/ antibiotik	Konsentrasi (%) b/v)	Diameter penghambatan (mm)			
		<i>E.coli</i> K.1.1	<i>S. typhimurium</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
Ekstrak Heksana	0	0	0	-	-
	10	0	0	-	-
	20	0	0	-	-
	30	0	0	-	-
Ekstrak Etil asetat	0	0	0	0	0
	10	19.33±0.91	17.90±1.08	0	0
	20	25.50±1.27	23.18±0.23	0	0
	30	29.57±1.00	26.40±0.48	0	0
Ekstrak Etanol	0	0	0	0	0
	10	12.36±0.28	12.47±2.38	0	0
	20	14.08±1.02	13.43±1.10	0	0
	30	15.79±0.53	15.49±0.21	0	0
Amosilin	2	0	23.94±0.78	-	-
Ampisilin	2	0	23.65±1.48	-	-
Kloramfenikol	2	1.72±0.39	25.14±2.49	-	-

Keterangan : 0% = tanpa ekstrak hanya pelarut yang digunakan

0 = tidak ada penghambatan

- = tidak diamati

Ekstrak yang diuji masing-masing 60 uL pada media bakteri dengan jumlah 10^5 CFU/mL

Tabel 3 Komponen fitokimia biji teratai dan ekstrak

Komponen fitokimia	Biji	Ekstrak heksana	Ekstrak etil asetat	Ekstrak etanol
Alkaloid	+	+	+	+
Saponin	+	+	+	+
Tanin	+	-	+	+
Glikosida	+	+	+	-
Flavonoid	+	-	+	+
Steroid	+	+	-	-
Triterpenoid	+	-	+	+

Keterangan : + menunjukkan ada pada contoh

- menunjukkan tidak terdapat pada contoh

Alkaloid merupakan senyawa nitrogen heterosiklik. Menurut Cowan (1999) alkaloid yang diisolasi dari tanaman famili *Ranunculaceae* diketahui memiliki aktivitas antimikroba. Sementara alkaloid yang terdapat pada *berberine* dapat mengkelat DNA dari *trypanosoma* dan plasmodia.

Ada tiga mekanisme aktivitas tanin sebagai antimikroba (Scalbert, 1991) yaitu pertama, tanin bersifat astringen (zat yang menciutkan); tanin dapat membentuk kompleks dengan enzim mikroba ataupun substrat. Kedua, tanin masuk melalui membran mikroba, untuk mencapai membran tanin harus melewati dinding sel mikroba. Dinding sel terbuat dari polisakarida dan protein yang berbeda yang memungkinkan bagian dari tanin masuk. Ketiga, tanin membentuk kompleks dengan ion metal. Kebanyakan tanin memiliki lebih dari dua grup *o*-difenol pada molekulnya, yang dapat mengkelat ion-ion metal seperti Cu dan Fe. Tanin mereduksi ketersediaan ion metal esensial untuk mikroorganisme.

Pada tumbuhan, flavonoid disintesis sebagai respon terhadap infeksi mikroba. Sebagai antimikroba, flavonoid dapat membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler dan dinding sel bakteri. Selain itu flavonoid yang bersifat lipofilik dapat merusak membran mikroba (Cowan, 1999). Menurut Otshudi *et al.* (2000) flavonoid diketahui memiliki aktivitas antivirus, anti-inflamasi, dan sitotoksik. Flavonoid memiliki aktivitas antioksidan dan juga memperkuat sistem pertahanan mukosa melalui stimulasi sekresi mukus gastrik (Aniagu *et al.* 2005). Flavonoid dapat berperan sebagai penangkap spesies oksigen reaktif (seperti anion superoksida) dan radikal bebas (Aniagu *et al.* 2005).

Terpena atau terpenoid memiliki aktivitas antibakteri. Mekanisme antibakteri dari terpena tidak sepenuhnya diketahui, akan tetapi diduga senyawa ini bekerja pada pengrusakan membran oleh senyawa lipofilik. Adanya penambahan senyawa metil pada diterpenoid menjadikan diterpenoid lebih hidrofilik yang dapat mengurangi aktivitas antimikrobanya (Cowan 1999).

Menurut Aguwa dan Lawal (1988) saponin menunjukkan anti-ulcer melalui pembentukan perlindungan pada mukus permukaan mukosa usus. Saponin memiliki aktivitas ekspektoran dan antitusif.

Pengujian aktivitas antimikroba dari ekstrak etil asetat biji dilakukan menggunakan metode kontak langsung antara bakteri uji dengan ekstrak. Metode ini dilakukan untuk mendapatkan nilai MIC dan MBC dari suatu ekstrak

antimikroba. Nilai MIC dan MBC ekstrak etil asetat biji teratai terhadap pertumbuhan bakteri EPEC K1.1 dan *S. typhimurium* dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Nilai MIC dan MBC ekstrak etil asetat biji teratai terhadap pertumbuhan EPEC K.1.1 dan *Salmonella typhimurium*

Mikroba uji	MIC (mg/mL)	MBC (mg/mL)
EPEC K 1.1	0.89	1.33
<i>S. typhimurium</i>	1.11	1.33

Berdasarkan Tabel 4 terlihat bahwa nilai MIC ekstrak etil asetat biji terhadap EPEC K1.1 dan *S. typhimurium* adalah 0.89 mg/ml, sedangkan nilai MBC ekstrak terhadap EPEC K1.1 adalah 1.33 mg/ml. Nilai MIC dan MBC terhadap *S. typhimurium* adalah 1.11 mg/ml dan 1.33 mg/ml. Hal ini menunjukkan bahwa EPEC K1.1 lebih sensitif terhadap ekstrak etil asetat biji dibandingkan dengan *S. typhimurium*.

Jika dibandingkan dengan nilai MIC ekstrak tanaman lain, seperti ekstrak etil asetat bunga kecombrang nilai MIC ekstrak terhadap *E. coli* dan *S. typhimurium* adalah 4 mg/ml (Naufalin 2005); ekstrak jahe terhadap *E. coli* dan *S. Typhi* adalah 10 mg/ml (Radiati 2002), dan ekstrak daun sirih terhadap *E. coli* dan *S. typhimurium* adalah 2 mg/ml (Sugiasuti 2002).

Fraksinasi ekstrak etil asetat dan uji aktivitas fraksi

Ekstrak etil asetat memiliki aktivitas antimikroba yang lebih tinggi daripada ekstrak etanol. Oleh karena itu hanya ekstrak tersebut yang dipilih untuk analisis fraksi-fraksi yang berperan sebagai antimikroba. Fraksinasi ekstrak etil asetat dilakukan menggunakan TLC silika G60 F₂₄₅ dengan fase gerak heksana dan etil asetat (7:3). Fraksinasi ekstrak etil asetat dengan menggunakan fase gerak tersebut, menghasilkan 11 fraksi dengan nilai *R_f* disajikan pada Tabel 5 dan Gambar 1.

Masing-masing fraksi yang telah dipisahkan dengan TLC diuji aktivitas antimikrobanya secara kualitatif menggunakan metode bioautografi. Pada bioautogram (Gambar 1) terlihat zona bening (terang) pada dan atau di sekitar fraksi (pita) yang menunjukkan adanya penghambatan oleh masing-masing fraksi, sedangkan dengan pewarnaan, mikroba uji terlihat berwarna ungu. Pada fraksi 10 terlihat berwarna merah dan fraksi 6 terlihat berwarna jingga yang merupakan warna asal dari fraksi-

fraksi tersebut. Meskipun demikian, pada fraksi tersebut tidak ditumbuhi oleh mikroba uji yang menunjukkan adanya penghambatan oleh fraksi tersebut. Adanya penghambatan oleh masing-masing fraksi terhadap EPEC K.1.1 dan *S.typhimurium* menunjukkan bahwa fraksi-fraksi tersebut memiliki aktivitas antimikroba. Fraksi-fraksi tersebut bekerja menghambat pertumbuhan mikroba uji secara sinergis.

Tabel 5 Nilai R_f fraksi ekstrak etil asetat biji teratai

No. Fraksi	R _f
11	0.930
10	0.892
9	0.820
8	0.720
7	0.540
6	0.510
5	0.466
4	0.431
3	0.376
2	0.320
1	0.076

KESIMPULAN

Ekstrak biji teratai (*Nymphaea pubescens* Willd) memiliki aktivitas antibakteri terhadap EPEC K.1.1 dan *Salmonella typhimurium* terutama pada ekstrak etil asetat. Ekstrak etanol memiliki aktivitas yang lebih rendah daripada ekstrak etil asetat.

Nilai MIC dan MBC ekstrak etil asetat biji teratai terhadap EPEC K.1.1 adalah 0.89 mg/mL dan 1.33 mg/mL. Nilai MIC dan MBC ekstrak etil asetat biji teratai terhadap *S. typhimurium* adalah 1.11 mg/mL dan 1.33 mg/mL. Komponen fitokimia yang terdapat pada biji teratai adalah alkaloid, flavonoid, steroid, glikosida, tanin, saponin, dan triterpenoid sedangkan ekstrak etil asetat biji teratai adalah alkaloid, tanin, glikosida, saponin, flavonoid dan triterpenoid

Fraksinasi menggunakan TLC menunjukkan bahwa semua fraksi yang terdapat pada ekstrak etil asetat biji teratai memiliki aktivitas antibakteri terhadap EPEC K.1.1 dan *S.typhimurium*. Fraksi-fraksi tersebut bekerja menghambat pertumbuhan bakteri uji secara sinergis.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Pembinaan Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat, Ditjen Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional RI atas dana penelitian yang diberikan melalui Program Hibah Bersaing XIV (2006).

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dr. dr. Sri Budiarti dari Laboratorium Bioteknologi Hewan dan Biomedis, Pusat Sumberdaya Hayati dan Bioteknologi LPPM IPB, yang telah memberikan koleksi isolat EPEC K.1.1 sebagai bakteri uji pada penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Aguw CN and Lawal AM. 1988. Pharmacologic studies on the active principles of *Calliandra portoricensis* leaf extracts. *J. Ethnopharmacology*, 22: 63-71
- Aniagu SO, Binda LG, Nwinyi FC, and Orisadipe A. 2005. Anti-diarrhoeal and ulcer-protective effects of the aqueous root extract of *Guiera senegalensis* in rodents. *J. Ethnopharmacology*, 97: 549-554
- [Anonim]. 2004. Water Lily-*Nymphaea alba*. www.botany.hawaii.edu. Maret 2004
- AOAC. 1984. Official Methods of Analysis. Association of Official Agricultural Chemists, Washington DC, USA.
- Asp NG, Johnson CG, Halmer H and Siljestrom M. 1983. Rapid enzymatic assay of insoluble dietary fiber. *J. Agr. Food Chem.*, 31:476-482
- BPS Kalimantan Selatan. 2000. Biro Pusat Statistik Kalimantan Selatan. Banjarmasin.
- Cappaso R, Evidente A, Schivo L, Orru G, Marcialis MA and Cristinzio G. 1995. Antibacterial polyphenols from olive oil mill waste waters. *J.Appl. Bacteriol.* 79: 393-398.
- Cowan MM. 1999. Plants products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews.*: 564-582
- Departemen Kesehatan. 1995. Materia Medika Indonesia. Jilid VI. Departemen Kesehatan RI. Jakarta.
- Departemen Kesehatan. 1997. Inventaris Tanaman Obat Indonesia (IV). Dep.Kes. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Jakarta.
- Gariga M, Hugas M, Aymerich T and Monfort JM. 1983. Bacteriogenic activity of lactobacilli from fermented sausage. *App. Bacteriol.*, 75:142-148
- Grieve M. 2004. Monograph-A Modern Herbal. www.herbdaten2.com. Januari 2004
- Harborne JB. 1987. Metode Fitokimia: Penuntun cara modern menganalisis tumbuhan. Ed ke-2. Padmawinata K & Soediro I, penerjemah. Terjemahan dari: Phytochemical Methods. Penerbit ITB Bandung, Bandung.
- Herbert RB. 1988. Biosynthesis of Secondary Metabolites. Chapman & Hall. London.
- Houghton PJ and Raman A. 1998. Laboratory Handbook for The Fractionation of Natural Extracts. Chapman & Hall. London.
- Hughes. 2004. Lily, White Pond. www.botanical.com. Maret 2004

- Kanazawa A, Ikeda T and Endo T. 1995. A Novel approach to mode of action of cationic biocides morfological effect on bacterial activity. *J. Appl. Bacteriol.* 78:55-60.
- Khairina R. dan Fitriani Y. 2002. Produksi dan Kandungan Gizi Biji Teratai (*Nymphae pubescens* Willd) Tanaman Air yang terdapat di Hulu Sungai Utara. *Jurnal Ilmiah Fakultas Pertanian*, UNLAM. 77-88
- Kubo I. 1992. Antimicrobial activity of green tea flavour components (effectiveness against *Streptococcus mutans*). Di dalam : Teranishi R, Buttery RG, Sugisama H. (Ed.). Bioactive Volatile Compounds for plants. American Chemical Society. Washington.
- Lavlinesia. 2004. Kajian Pola dan Mekanisme Inaktivasi Bakteri oleh Ekstrak Etil Asetat Biji Atung (*Parinarium glomerimum* Hassk) [Ringkasan Disertasi]. Program Pascasarjana IPB, Bogor.
- Marianto LA 2001. Tanaman Air. Penerbit PT. Agro Media Pustaka. Bintaro, Jakarta.
- Meckes M, Torres J, Calzada F, Rivera J, Camorlinga M, Lemus H, Rodriguez G. 1997. Antibacterial properties of *Helianthemum glomeratum*, a plant used in Maya traditional medicine to treat diarrhoea. *Phytotherapy Research* 11:128-131
- Moat AG, JW Foster, MP Spector, editor. 2002. Microbial Physiology. 4th Ed. A Wiley Interscience Publication, John Wiley and Sons, New York.
- Naufalin R. 2005. Kajian Sifat Antimikroba Ekstrak Bunga Kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan) terhadap berbagai Mikroba Patogen dan Perusak Pangan [Disertasi]. Sekolah Pascasarjan IPB, Bogor.
- Nychas GJE. 1995. Natural Antimicrobials from plants. Di dalam : Gould, G.W. (Ed). New Methods of Food Preservation. Blackie Academic and Profesional. London.
- Otshudi LA, Vercruysse A, and Foriers A. 2000. Contribution to the ethnobotanical, phytochemical and pharmacological studies of traditionally used medicinal plants in the treatment of dysentery and diarrhoea in Lomela area, Democratic Republic of Congo (DRC). *J Ethnopharmacology*, 71: 411-423
- Parhusip AJN. 2006. Kajian Mekanisme Antibakteri Ekstrak Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC) terhadap Bakteri Patogen Pangan. [Disertasi]. Bogor: Sekolah Pascasarjan IPB.
- Sastrapradja dan Bimantoro. 1981. Tumbuhan Air. Lembaga Biologi Nasional-LIPI. Bogor.
- Scalbert A. 1991. Antimicrobial properties of tanins. Review Article Number 63. *Phytochemistry*, 30(12): 3875-3883
- Springfield EP 2003. An assessment of two *Carpobrotus* species extracts as potential antimicrobila agents. *Phytomedicine* 10: 434-439.