



Potential of Methanol Extract of Bungli Fruit Seed (*Oroxylum Indicum*) in Inhibiting the Growth of *Escherichia coli*

Ari Nuswantoro^{1*}, Natasya Intan Ramadhani¹⁾

¹⁾Jurusan Analisis Kesehatan Politeknik Kesehatan Kemenkes Pontianak

* Correspondence: arinuswantoro82@gmail.com

Abstract. Bungli (*Oroxylum indicum*) has been used for generations in Asia as a traditional medicine. The seeds of the bungli are commonly used as traditional medicine to treat typhoid, cough, hypertension, internal fever, fever and diarrhea. The active compounds in this plant are known to have anti-inflammatory, antirheumatic, antifungal and antibacterial activities. Our research on methanol extract of bungli fruit seeds showed its potential to inhibit the growth of *Escherichia coli* bacteria that causes diarrhea. Bungli seed extract samples with a concentration of 25% showed an inhibition zone with a diameter of 9.22 mm, while at a concentration of 50% the diameter was 11.16 mm and 75% had a diameter of 12.88 mm. This size is indeed smaller than chloramphenicol (26 mm), but this potential can be greater if the extraction is carried out more intensively to extract the active compound, the sample concentration is increased, and the part or age of the plant with the highest content of the active compound is used; so that the Bungli plant is expected to be an alternative in overcoming *Escherichia coli* infection.

Keywords: *Oroxylum indicum*; *Escherichia coli*; Diffusion method.

Abstrak. Bungli (*Oroxylum indicum*) telah digunakan secara turun-temurun di Asia sebagai obat tradisional. Bagian biji dari bungli biasa digunakan sebagai obat herbal untuk mengatasi tifus, batuk, hipertensi, panas dalam, demam dan diare. Kandungan senyawa aktif pada tanaman ini dikenal memiliki aktivitas antiinflamasi, antirematik, antijamur dan antibakteri. Penelitian kami terhadap ekstrak metanol biji buah bungli menunjukkan adanya potensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* penyebab diare. Sampel ekstrak biji buah bungli konsentrasi 25% menunjukkan zona hambat dengan diameter 9,22 mm, sedangkan pada konsentrasi 50% diameternya 11,16 mm dan 75% diameternya 12,88 mm. Ukuran ini memang lebih kecil dari kloramfenikol (26 mm), namun potensi ini dapat lebih besar jika ekstraksi dilakukan lebih intensif untuk menarik senyawa aktif, konsentrasi sampel dinaikkan, serta menggunakan bagian atau usia tanaman dengan kandungan senyawa aktif paling tinggi; sehingga tanaman bungli diharapkan dapat menjadi alternatif dalam mengatasi infeksi *Escherichia coli*.

Kata Kunci: *Oroxylum indicum*; *Escherichia coli*; Metode difusi.

1. Latar Belakang

Indonesia mempunyai ribuan jenis tanaman yang harus dilestarikan dan dimanfaatkan dengan baik. Sebagian besar dari tanaman tersebut dapat dimanfaatkan sebagai tanaman obat (Anggita, Abdi and Desiani, 2018). Tanaman obat adalah tanaman yang memiliki khasiat obat pada bagian-bagian tertentu baik akar, kulit akar, kulit batang, daun, buah, biji dan hasil ekstraksinya. Salah satunya adalah bungli (*Oroxylum indicum*).

Analisis fitokimia pada bagian-bagian bungli (*Oroxylum indicum*) mengungkapkan adanya flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin (Harminder et al., 2011; Samatha & Swamy, 2012). Ekstrak etanol dari buah bungli yang dikumpulkan pada konsentrasi 1000 mg/mL menunjukkan aktivitas antibakteri menengah terhadap *Staphylococcus intermedius* dengan zona hambat 15,11 mm dan efek penghambatan moderat pada *S. suis* dengan zona hambat

14,39 mm (Sithisarn et al., 2016). Flavonoid, alkaloid dan saponin pada tanaman dapat juga ditarik oleh metanol. Metanol merupakan pelarut yang bersifat universal sehingga dapat melarutkan analit yang bersifat polar dan nonpolar. Metanol mampu menarik lebih banyak jumlah metabolit sekunder yaitu senyawa fenolik dan tanin (Padmasari et al., 2013). Metabolit-metabolit sekunder ini memiliki efek antimikroba terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif, salah satu yang paling populer dan sering menyebabkan masalah kesehatan di Indonesia adalah *Escherichia coli*.

Escherichia coli (*E. coli*) adalah bakteri Gram negatif berbentuk batang yang tidak membentuk spora dan merupakan flora normal usus. Meskipun demikian, beberapa jenis *Escherichia coli* dapat bersifat patogen, yaitu serotipe yang masuk dalam golongan *Escherichia coli enteropathogenic* (EPEC), *Escherichia coli enteroinvasive* (EIEC), *Escherichia coli enterotoxigenic* (ETEC), *Escherichia coli enteroaggregative* (EAEC) dan *Escherichia coli enterohaemorrhagic* (EHEC). Berbagai penelitian menunjukkan, beberapa galur atau *strain* bakteri *Escherichia coli* dapat menyebabkan wabah diare atau muntaber, terutama pada anak-anak (Kuswiyanto, 2017). Penyakit diare (*gastroenteritis*) adalah penyakit yang ditandai dengan perubahan konsistensi tinja (menjadi cair) disertai dengan darah atau lendir dan frekuensi defekasi lebih dari biasanya (>3 kali per hari) (Subakti, 2015). Sifat *E. coli* yang oportunistik ini menyebabkan infeksinya sewaktu-waktu dapat menimbulkan masalah kesehatan bahkan menjadi wabah. Di sisi lain penggunaan antibiotika untuk mengeliminasi infeksi tidak selalu berjalan baik karena berbagai masalah dalam hal ketersediaan, distribusi, harga, alergi maupun resistensi.

Oleh karena itu perlu dicarikan alternatif bahan alami yang mudah didapat, murah, minim efek samping namun tetap efektif untuk mengurangi infeksi bakteri *E. coli*. Data mengenai potensi bungli sebagai bahan alami antibakteri masih sedikit sehingga perlu dilakukan penelitian menggunakan ekstrak metanol biji buah bungli untuk menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli*.

2. Metode

2.1. Desain Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental untuk menguji apakah ekstrak metanol biji buah bungli dapat menghambat pertumbuhan *E. coli* secara *in vitro*. Untuk itu dibuat tiga kelompok perlakuan masing-masing ekstrak metanol konsentrasi 25% (A), 50% (B) dan 75% (C) dengan replikasi sebanyak sembilan kali untuk tiap kelompok. Digunakan antibiotik kloramfenikol sebagai kontrol. Uji laboratorium menggunakan metode difusi Kirby-Bauer untuk mendapatkan ukuran diameter zona hambat dan hasilnya dideskripsikan perbandingan sampel dengan kontrol.

2.2. Populasi dan Sampel

Biji buah bungli didapat dari Kecamatan Senakin, Kabupaten Landak, Propinsi Kalimantan Barat karena lokasi ini memiliki kondisi tanaman yang subur dan buahnya banyak sehingga dianggap layak dan cukup untuk dijadikan sampel penelitian. Biji buah bungli yang digunakan masih dalam kondisi segar, berusia sedang hingga matang, tidak rusak. Diperlukan 1-2 kg biji buah bungli untuk mendapatkan ekstrak metanol yang cukup sebagai sampel. Ekstrak metanol diencerkan menjadi konsentrasi 25% (A), 50% (B) dan 75% (C). Masing-masing konsentrasi direplikasi sebanyak 9 kali dengan teknik pengambilan secara purposif. Sebagai kontrol adalah kloramfenikol yang sudah disiapkan dalam bentuk cakram antibiotik (K).

2.3. Preparasi dan Perlakuan Sampel

Buah bungli yang sudah dicuci bersih kemudian diekstrak dengan metode maserasi sehingga cukup untuk diencerkan menjadi konsentrasi 25, 50 dan 75% dengan masing-masing replikasi sebanyak 9 kali. Ekstrak yang didapat ini pertama-tama diuji saring fitokimia untuk membuktikan kandungan senyawa aktif alkaloid, tanin, flavonoid dan saponin. Selain itu, bakteri *E. coli* yang diuji juga diidentifikasi untuk memastikan bahwa bakteri tidak kehilangan sifat biokimianya selama penyimpanan dan persiapan.

Sampel diuji dengan metode difusi Kirby-Bauer yang terdiri dari beberapa tahap, yaitu: (1) persiapan kertas cakram, dengan cara meresapkan ekstrak dari masing-masing konsentrasi dan replikasi ke dalam kertas cakram kosong berdiameter 6 mm, (2) pembuatan media Mueller-Hinton agar, (3) pembuatan suspensi bakteri dengan kekeruhan yang setara dengan standar McFarland 0,5 sehingga jumlah bakteri diestimasi $1,5 \times 10^8$ CFU/mL, (4) penanaman bakteri pada media menggunakan swab steril dan diratakan ke seluruh permukaan media, (5) penempelan cakram antimikroba, (6) inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, dan (7) pembacaan zona hambat pertumbuhan bakteri berdasarkan tabel interpretasi antibiotik kontrol.

2.4. Analisis Data

Hasil uji Kirby-Bauer didapatkan diameter zona hambat pertumbuhan bakteri dan dilaporkan secara kuantitatif dalam satuan milimeter (mm). Dari 9 kali replikasi pada masing-masing konsentrasi dihitung rata-rata diameter zona hambatnya. Hasil diinterpretasikan sebagai "resisten" jika diameter zona hambat 12 mm, "intermediet" jika 13-17 mm dan "sensitif" jika 18 mm (CLSI, 2021).

3. Hasil

Uji saring fitokimia menemukan senyawa aktif yang terdapat di dalam ekstrak biji buah bungli adalah alkaloid dan tanin, sedangkan senyawa flavonoid dan saponin tidak ditemukan. Dari uji difusi Kirby-Bauer didapatkan diameter zona hambat yang bervariasi. Konsentrasi 25% memiliki zona hambat yang paling rendah (rata-rata 9,2 mm), diikuti 50% (11,16 mm) dan paling besar adalah 75% (12,88 mm), sedangkan diameter zona hambat dari antibiotik kloramfenikol adalah 26 mm (Tabel 1).

Jika diinterpretasikan maka bakteri *E. coli* yang ditanamkan pada media berisi ekstrak metanol biji buah bungli konsentrasi 25% bersifat resisten, 50% resisten dan 75% intermediet, sedangkan terhadap kontrol adalah resisten. Tidak ada satupun sampel yang dapat diinterpretasikan sensitif terhadap sampel.

4. Pembahasan

Bahan aktif yang terdapat pada ekstrak metanol biji buah bungli berdasarkan uji saring fitokimia adalah alkaloid dan tanin. Kandungan senyawa ini di dalam ekstrak sejalan dengan konsentrasi sampel yang diperiksa, terlihat dari ukuran diameter zona hambat yang linier. Mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri yaitu dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut. Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri yaitu dengan cara mempresipitasi protein (Rijayanti, 2014). Senyawa aktif lain yaitu flavonoid dan saponin tidak ditemukan di dalam sampel berdasarkan uji saring fitokimia. Ketiadaan flavonoid di dalam sampel dapat

dipengaruhi oleh sifatnya yang kurang polar sehingga tidak dapat ditarik oleh metanol, sedangkan keberadaan saponin dapat berbeda-beda dari tiap individu tanaman tergantung lokasi, iklim dan usia tanaman. Tidak adanya kedua senyawa aktif ini menyebabkan potensi ekstrak biji buah bungli dalam menghambat pertumbuhan *E. coli* menjadi tidak maksimal, dibuktikan dengan adanya selisih ukuran diameter zona hambat dari konsentrasi uji terbesar, dengan kontrol kloramfenikol sebesar 12,5 mm.

Tabel 1. Diameter zona hambat pertumbuhan *E. coli* dengan ekstrak metanol biji buah bungli

Konsentrasi (%)	Replikasi	Diameter Zona Hambat (mm)	Rata-rata	Interpretasi
25	1	9,5	9,22	Resisten
	2	9		
	3	9,5		
	4	9,5		
	5	10		
	6	8,5		
	7	9		
	8	9		
	9	9		
50	1	11	11,16	Resisten
	2	11		
	3	10,5		
	4	11		
	5	12		
	6	11,5		
	7	11		
	8	10,5		
	9	12		
75	1	13,5	12,88	Intermediet
	2	13		
	3	13		
	4	12		
	5	13,5		
	6	13		
	7	12		
	8	12,5		
	9	13,5		
K		26		Sensitif

Di sisi lain, bakteri mengembangkan suatu mekanisme dalam mengatasi kinerja antimikroba. Mekanisme resistensi antimikroba meliputi sistem ekspor aktif dalam membran bakteri, pencegahan masuknya antimikroba ke dalam sel bakteri patogen, penghancuran enzimatis agen antimikroba, produksi biofilm tebal, target antimikroba yang dimodifikasi, dan tempat kerja bakteri yang dilindungi dari antimikroba (Varela et al., 2021).

Meskipun terdapat selisih diameter zona hambat yang besar dengan kontrol, ekstrak biji buah bungli masih memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri yang terlihat dari munculnya zona hambat dalam penelitian, bahkan mencapai kategori

intermediet. Ukuran diameter zona hambat ini diyakini masih dapat dimaksimalkan jika kandungan bahan aktifnya lengkap, proses ekstraksi dilakukan lebih intensif sehingga bahan aktif dapat ditarik secara maksimal, konsentrasi ekstrak diperbesar hingga 100%, menggunakan tanaman dengan usia yang kandungan bahan aktifnya tinggi, juga dengan menggunakan bagian lain dari tanaman bungli secara terpisah maupun Bersama-sama.

5. Kesimpulan

Penelitian ini berhasil memberikan data tentang diameter zona hambat ekstrak biji buah bungli terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan menjelaskan bagaimana kekuatannya dibandingkan antibiotik kloramfenikol. Meskipun diameter zona hambat ketiga kelompok sampel lebih kecil dibanding kontrol namun munculnya diameter zona hambat membuktikan bahwa senyawa aktif di dalam sampel, yaitu alkaloid dan tanin, bekerja dengan baik sehingga ekstrak biji buah bungli dianggap memiliki potensi untuk menjadi alternatif dalam mengatasi infeksi *E. coli*. Penelitian selanjutnya diharapkan dapat menemukan potensi hambatan yang lebih baik misalnya dengan proses ekstraksi yang lebih intensif, menaikkan konsentrasi ekstrak dan menggunakan bagian tanaman atau usia tanaman yang memiliki kandungan senyawa aktif lebih tinggi.

Daftar Pustaka

- CLSI. (2021). *M100Ed31 | Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 31st Edition*. <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m100/>
- Harminder, Singh, V., & Chaudhary, A. (2011). A Review on the Taxonomy, Ethnobotany, Chemistry and Pharmacology of *Oroxylum indicum* Vent. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 73(5), 483. <https://doi.org/10.4103/0250-474X.98981>
- Kuswiyanto. (2017). *Bakteriologi 2*. PT Gramedia.
- Padmasari, P. D., Astuti, K. W., & Warditiani, N. K. (2013). *Skrining fitokimia ekstrak etanol 70% rimpang bangle (Zingiber purpureum Roxb.)*. *Jurnal Farmasi Udayana*. <https://doi.org/https://doi.org/10.24843/JFU.2021.v10.i01>
- Rijayanti, R. P. (2014). *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mangga Bacang (Mangifera Foetida L.) Terhadap Staphylococcus Aureus Secara in Vitro - Neliti*. *Jurnal Mahasiswa Fakultas Kedokteran Untan*. <https://www.neliti.com/publications/194452/uji-aktivitas-antibakteri-ekstrak-etanol-daun-mangga-bacang-mangifera-foetida-l>
- Samatha, T., & Swamy, N. R. (2012). Quantification of total phenolic and total flavonoid contents in extracts of *Oroxylum indicum* L.Kurz. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*.
- Sithisarn, P., Nantateerapong, P., Rojsanga, P., & Sithisarn, P. (2016). Screening for Antibacterial and Antioxidant Activities and Phytochemical Analysis of *Oroxylum indicum* Fruit Extracts. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 21(4). <https://doi.org/10.3390/MOLECULES21040446>
- Subakti, F. A. (2015). Pengaruh Pengetahuan, Perilaku Sehat dan Sanitasi Lingkungan Terhadap Kejadian Diare Akut di Kelurahan Tlogopojok dan Kelurahan Sidorukun Kecamatan Gresik Kabupaten Gresik. *Swara Bhumi*, 1(1). <https://jurnalmahasiswa.unesa.ac.id/index.php/swara-bhumi/article/view/10556>
- Varela, M. F., Stephen, J., Lekshmi, M., Ojha, M., Wenzel, N., Sanford, L. M., Hernandez, A. J., Parvathi, A., & Kumar, S. H. (2021). Bacterial Resistance to Antimicrobial Agents. *Antibiotics* 2021, Vol. 10, Page 593, 10(5), 593. <https://doi.org/10.3390/ANTIBIOTICS10050593>