

Uji Ekstrak Buah Maja (*Aegle Marmelos*) Sebagai Antibakteri pada Bakteri *Escherichia coli*

Maja Fruit Extract Test (Aegle marmelos) As An Antibacterial in Escherichia coli Bacteria

Susi Apriliani^{1*)}, Ahmad Syauqi^{2**)}, Ratna Djuniwati Lisminingsih³

^{1,2,3}Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Malang, Indonesia

ABSTRAK

Buah maja (*Aegle marmelos*) adalah buah yang mengandung substansi seperti minyak balsem, 2-furocoumarins-psoralen dan marmelosin ($C_{13}H_{12}O$). Buah, akar dan daun maja mempunyai sifat antibiotik. Tumbuhan yang memiliki kandungan kimia pada buah maja dapat berpotensi sebagai antibakteri yang menghambat pertumbuhan bakteri. Bakteri yang menimbulkan diare adalah *Coliform*, *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Shigella* yang merupakan bakteri penyebab keracunan makanan atau gangguan saluran cerna. Kandungan kimia dari ekstrak buah maja yaitu alkaloid, terpenoid, kumarin, pherilpropanoid, tannin, polisakarida dan flavonoid. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui ekstrak buah maja memiliki pengaruh antibakteri terhadap pertumbuhan hambat minimal bakteri *Escherichia coli* dan menentukan konsentrasi ekstrak buah maja terhadap pertumbuhan hambat minimal bakteri *Escherichia coli*. Dalam penelitian ini menggunakan metode eksperimen Rancangan Acak Lengkap (RAL). Menggunakan 4 perlakuan dan 6 kali ulangan. Dengan menggunakan media EMB dan BGLB. Rerata pengamatan pada pertumbuhan uji daya hambat bakteri pada konsentrasi 19,2 % yaitu 0,43 mm, konsentrasi 35,7% yaitu 0,48 mm, konsentrasi 37,5% yaitu 1,70 mm dan pada kontrol 0,33 mm. Hasil uji ANOVA menunjukkan terdapat perbedaan signifikan, setelah diberi perlakuan konsentrasi 0%, 19,2%, 35,7% dan 37,5% hasil yang paling efektif yaitu dengan konsentrasi larutan 37,5% dengan rata-rata 1,703 mm.

Kata kunci : Antibakteri, Buah Maja, *Escherichia coli*

ABSTRACT

Maja fruit (*Aegle marmelos*) is a fruit that contains substances such as balm oil, 2-furocoumarins-psoralen and marmelosin ($C_{13}H_{12}O$). Maja fruit, roots and leaves have antibiotic properties. Plants that contain chemicals in the maja fruit can potentially act as antibacterials that inhibit bacterial growth. The bacteria that cause diarrhea are *Coliform*, *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* and *Shigella* which are bacteria that cause food poisoning or gastrointestinal disorders. Chemical content of maja fruit (*Aegle marmelos*), namely alkaloids, terpenoids, coumarin, phenylpropanoids, tannins, polysaccharides and flavonoids. This study aims to determine the maja fruit extract has an anti-bacterial effect on minimum bacterial inhibitory growth and to determine the concentration of maja fruit extract on the minimum inhibitory growth of *Escherichia coli* bacteria. In this study, using the experimental method completely randomized design (CRD). Using 4 treatments and 6 repetitions. By using EMB and BGLB media. The mean of observations on the inhibitory growth test of *Escherichia coli* bacteria at a concentration of 19.2 was 0.43, a concentration of 35.7 was 0.48, at a concentration of 37.5 was 1.703 and a control was 0.33. Anova test results showed that there was a significant difference, after being treated with a concentration of 0%, 19.2%, 35.7% and 37.5%, the most effective results were with a solution concentration of 37.5% with an average of 1.703 mm.

Keywords: Antibacterial, Maja Frutt, *Escherichia coli*

*) Susi Apriliani, Program Studi Biologi FMIPA UNISMA, Jl. MT Haryono 193, Malang 65144 Telp. 085843156141 email: susiaprilian04@gmail.com

**) Ir. Ahmad Syauqi, M.Si, Program Studi Biologi FMIPA UNISMA, Jl. MT Haryono 193, Malang 65144 Telp. 08986307836 email: syauqi.fmipa@unisma.ac.id

Pendahuluan

Pengembangan antibakteri memiliki tujuan penting dalam penemuan obat baru banyak difokuskan pada bidang bioteknologi, akan tetapi riset obat-obatan yang bersifat eksploratif menjadi alternatif yang pantas dilakukan [1]. Buah maja (*Aegle marmelos*) merupakan tanaman yang memiliki manfaat bagi masyarakat. Jenis tumbuhan ini dapat tumbuh suhu 49°C pada musim kemarau dan dapat hidup pada suhu -7°C untuk musim dingin.

Buah maja (*Aegle marmelos*) mengandung substansi seperti minyak balsam 2-furcoumarins-psoralen dan marmelosin (C₁₃H₁₂O), marmelosin, pektin, saponin dan tanin. Senyawa saponin yaitu glikosida yang memiliki aglikon berupa steroid dan triterpen. Senyawa saponin mempunyai kandungan sapogenin (aglikon) yang menyebabkan rasa pahit dan dapat merusak darah merah (haemolisis) [2]. Buah maja ternyata dapat digunakan untuk bahan dasar pestisida nabati dan dapat digunakan obat tradisional. Buah yang sudah matang dipotong-potong, dikeringkan lalu digunakan untuk obat disentri kronis, sembelit dan diare [3].

Buah maja memiliki manfaat sebagai antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Pada kandungan kimia yang ada pada batang, daun, dan buah maja yaitu polifenol dan saponin. Kandungan kimia tersebut terdapat daging buah maja yaitu senyawa flavonoid, tannin, dan senyawa alkaloid [5]. Banyak masyarakat belum mengetahui manfaat dari buah maja, maka dilakukan penelitian untuk mengetahui manfaat kandungan buah maja (*Aegle marmelos*) memiliki pengaruh antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri pada bakteri *Escherichia coli*.

Bakteri *Escherichia coli* adalah jenis bakteri yang terkenal, meskipun penyebab infeksi saluran cerna terbatas. *Escherichia coli* adalah salah satu spesies utama bakteri Gram-negatif. Bakteri yang dapat menimbulkan diare yaitu *Coliform*, *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* dan *Shigella* yang merupakan bakteri menyebabkan keracunan makanan dan gangguan pencernaan. Mengonsumsi makanan yang mengandung racun menyebabkan keracunan makanan atau dikenal sebagai *Minimum Infection Dose* (MID). MID adalah sebagai tolak ukur suatu bakteri dapat menimbulkan penyakit dan jumlah patogen yang berbeda-beda. *Escherichia coli* memiliki MID antara 10⁶-10⁸ sel [6].

Hanya sebagian kecil bakteri *Escherichia coli* bersifat patogen, misalnya strain O157:H7. Hampir semua rekayasa genetika di dunia bioteknologi selalu melibatkan *Escherichia coli* karena struktur genetiknya yang sederhana dan mudah untuk direkayasa. *Escherichia coli* menjadi model untuk aplikasi ke bakteri jenis lainnya. Bakteri ini juga merupakan media kloning yang paling sering dipakai. Teknik rekombinasi DNA tidak akan ada tanpa bantuan bakteri ini [7].

Material dan Metode

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan untuk penelitian ini adalah: buah maja (*Aegle marmelos*), *Escherichia coli*, akuades, etanol 5%, media *Brilliant Green Lactose Broth* (BGLB), media *Eosin Methylen Blue* (EMB), kertas cakram dan aluminium foil.

Alat yang digunakan penelitian ini antara lain: gelas ukur, *autoclave*, *laminar air flow*, *rotary evaporator*, blende, inkubator, timbangan digital, gelas beaker, tabung reaksi, cawan petri, labu Erlenmeyer, mikro pipet, jala oase, penggaris, batang L, lampu bunsen, saringan dan kertas saring. Dalam penelitian menggunakan penelitian eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan menggunakan media agar BGLB dan EMB. Penelitian ini dilakukan 4 perlakuan dan 6 pengulangan.

Metode

Penelitian menggunakan metode eksperimen dengan desain acak lengkap (RAL) mempunyai 4 perlakuan dan 6 ulangan. Perlakuan adalah kondisi yang pengaruhnya diamati dalam penelitian, dalam penelitian ini menggunakan konsentrasi 19,2%; 35,7%; 37,5% dan kontrol.

Untuk mencari perlakuan dan pengulangan dalam penelitian ini menggunakan rumus :

Rumus: $20 \leq (r-1) n$

Keterangan:

r = jumlah sampel

n = jumlah perlakuan

Jadi:

$$20 \leq (r-1) n$$

$$20 \leq (r-1) 4$$

$$20 \leq 4r-4$$

$$24 \leq 4r$$

$$6 \leq r$$

Uji statistik dilakukan kepada pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Analisa data dikerjakan dengan menggunakan uji ANOVA dilanjutkan dengan uji BNT. Hasil uji kriteria kekuatan daya hambat antibakteri [8] seperti pada Table 1.

Tabel 1. Kriteria Kekuatan Daya Hambat Antibakteri

KATEGORI	KETERANGAN
≥ 20 mm	Sangat kuat
10-20 mm	Kuat
5-10 mm	Sedang
≤ 5 mm	Kurang

Cara Kerja

Pembuatan ekstrak buah maja dengan pelarut etanol 96% menggunakan 300 g daging buah maja selanjutnya dipotong kecil-kecil lalu di cuci hingga bersih. Selanjutnya daging buah maja dioven pada suhu 60°C hingga kering , setelah kering kemudian di blender agar menjadi serbuk. Serbuk buah maja selanjutnya dimaserasi dengan pelarut etanol 96% hingga terendam semua dan ditutup rapat, dibiarkan 24 jam dan diaduk sesekali. Hasil dari maserasi disaring menggunakan kain flanel steril dan dipisahkan dari ampas dan filtratnya. Filtrat cair kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer bulat lalu diuapkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 45°C untuk menguapkan pelarut dan dipekatkan di oven sampai memperoleh hasil ekstrak cair kental berwarna coklat pekat dengan konsistensi solid sebanyak 30 g.

Selanjutnya persiapan kultur dan suspensi bakteri, yang digunakan yaitu bakteri *Escherichia coli*. Bakteri uji yang telah tertanam diremajakan dengan cara memindahkan bakteri sebanyak 1 atau 2 ose bakteri kedalam media BGLB, kemudian bakteri dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi media dan diinkubasi selama 24 - 48 jam dengan suhu 37°C. Media agar BGLB yang telah ditambahkan dengan bakteri *Escherichia coli* sebanyak 1 ose, kemudian dipindahkan di media EMB. Kemudian media EMB yang telah disuspensi masing-masing di letakkan dikertas cakram yang telah dicelupkan ke masing-masing konsentrasi yaitu 19,2%; 35,7%; 37,5% dan kontrol. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-28 jam.

Pengukuran dilakukan dengan cara langsung kepada zona bening atau diameter zona hambat yang diukur menggunakan jangka sorong. Didapatkan diameter zona hambat yang menunjukkan adanya zona bening disekitar media terhadap bakteri uji.

Hasil dan Diskusi

Hasil penelitian menggunakan media EMB dan bakteri yang digunakan yaitu *Escherichia coli*. Bakteri yang sudah disuspensi dimasukkan ke dalam cawan petri yang sudah berisi media EMB sebanyak 15 ml, selanjutnya dimasukkan kertas cakram ke dalam cawan yang sudah ditentukan dengan konsentrasi masing-masing, kemudian ditetesi kertas cakram dengan sampel sebanyak 10 µl. Selanjutnya diinkubasi kedalam inkubator pada suhu 37°C selama 24-48 jam sampai terlihat zona bening yang ada di sekitar kertas cakram. Dari ke 4 perlakuan dan 6 ulangan.

Tabel 1. Data Uji Pengamatan Pertumbuhan Hambat Bakteri *Escherichia coli*.

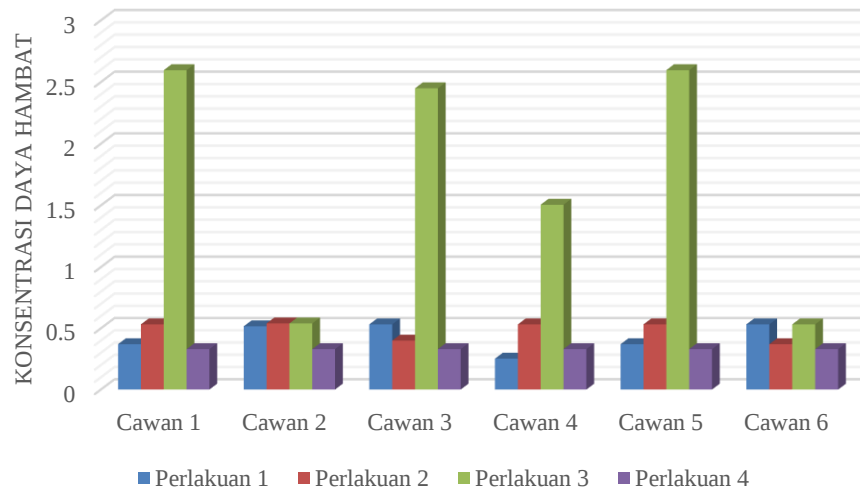
KONSENTRASI (%)	PENGULANGAN (mm)						Rata-Rata
	1	2	3	4	5	6	
19,2%	0.37	0.51	0.53	0.25	0.37	0.53	0.42
35,75%	0.53	0.54	0.4	0.53	0.53	0.37	0.48
37,5%	2.59	0.54	2	2	3	0.53	1.70
KONTROL	0.33	0.33	0.33	0.33	0.33	0.33	0.33

Pengamatan hasil uji pertumbuhan daya hambat bakteri *Escherichia coli* dengan 4 perlakuan dan 6 pengulangan didapatkan hasil sebagai berikut, pada konsentrasi 19,2% dapat diketahui hasil pengulangan berturut-turut yaitu: 0,37 mm; 0,516 mm; 0,516 mm; 0,525 mm; 0,37 mm dan 0,532 mm, diketahui rata-rata pengulangan konsentrasi 19,2% yaitu 0,42 mm. Pada konsentrasi 25% termasuk dalam kategori lemah. Pada konsentrasi kedua yaitu 35,7% diketahui hasil pengulangan berturut-turut yaitu: 0,532 mm; 0,54 mm, 0,4 mm; 0,532 mm dan 0,37 mm, diketahui rata-rata pada pengulangan konsentrasi 35,7% yaitu 0,48 mm. Pada konsentrasi 35,7% ini termasuk dalam kategori lemah. Selanjutnya konsentrasi ke tiga yaitu 37,5% dengan hasil pengulangan berturut-turut yaitu: 2,596 mm; 0,54 mm; 2 mm; 2 mm; 3 mm dan 0,532 mm dengan rata-rata 1,703 mm. Konsentrasi 37,5% ini termasuk dalam kategori lemah. Pada konsentrasi ke empat yaitu kontrol dengan hasil berturut-turut yaitu 0,33 mm; 0,33 mm; 0,33 mm; 0,33 mm; 0,33 mm dan 0,33 mm dengan rata-rata 0,33 mm. Konsentrasi ke empat ini termasuk dalam kategori lemah. Penelitian ini menggunakan mikroskop stereo karena ketajaman lensa mikroskop stereo jauh lebih tinggi sehingga dapat melihat bentuk dengan jelas benda yang kita amati.

Dari penelitian yang dilakukan didapatkan hasil yang kurang maksimal dikarenakan zona bening yang terdapat di sekitar kertas cakram kurang begitu terlihat dan dapat dikategorikan lemah karena dari semua rata-rata yang dihasilkan kurang dari 5 mm. Penyebab dari hasil penelitian kurang maksimal yaitu tekanan suhu tidak sesuai dan kurangnya penambahan ekstrak buah maja (*Aegle marmelos*). Penyebab lain dikarenakan respon dari masing-masing bakteri itu berbeda-beda dalam melawan senyawa antibakteri. Bakteri *Escherichia coli* merupakan bakteri gram negatif sehingga mempunyai sifat kurang rentan terhadap beberapa antibiotik.

Klasifikasi daya hambat pertumbuhan bakteri bisa dilihat berdasarkan diameter untuk zona bening terdiri atas 4 kategori yaitu respon sangat kuat (berdiameter ≥ 20 mm), kuat (berdiameter 10-20 mm), sedang (berdiameter 5-10 mm), sedangkan ≤ 5 mm berkategori kurang atau lemah. Berdasarkan klasifikasi tersebut didapatkan hasil bahwa dari semua konsentrasi ekstrak buah maja (*Aegle marmelos*) memiliki efek antibakteri terhadap pertumbuhan hambat pada bakteri *Escherichia coli* dengan kategori lemah yang berkonsentrasi 37,5%; 35,7%; 19,2%; 0% dan kategori lemah dengan etanol 5%.

Diagram analisis One Way ANOVA diketahui hasil perlakuan uji pertumbuhan hambat bakteri *Escherichia coli* sebagai berikut:



Gambar 1. Pengamatan Pertumbuhan Hambat Bakteri *Escherichia coli*

Berdasarkan penelitian pada Tabel 1 yang telah dilakukan menunjukkan bahwa ekstrak buah maja (*Aegle marmelos*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* yang ditunjukkan dengan adanya zona bening pada permukaan agar di sekitar kertas cakram. Pada penelitian ini sampel yang telah di ekstrak di masukkan ke dalam mikrotub berukuran 1ml. Pada penelitian ini terdapat 4 perlakuan yaitu etanol 5% (Kontrol), larutan etanol 5% dan ekstrak buah maja (*Aegle marmelos*) 0,25 g (konsentrasi 19,2%), larutan etanol 5% dan ekstrak buah maja (*Aegle marmelos*) 0,50 g (konsentrasi 35,7%), larutan etanol 5% dan ekstrak buah maja (*Aegle marmelos*) 0,75 g (konsentrasi 37,5%).

Pada penelitian ini menggunakan konsentrasi 0%,19,5%,35,7% dan 37,5%. Uji daya hambat antibakteri ini menggunakan media EMB dan bakteri yang digunakan yaitu *E. coli*. bakteri yang sudah disuspensi dimasukkan ke dalam cawan petri yang sudah berisi media EMB sebanyak 15 ml, selanjutnya dimasukkan kertas cakram kedalam cawan yang sudah ditentukan dengan konsentrasi masing-masing, kemudian ditetesi kertas cakram dengan sampel sebanyak 10 µl. Selanjutnya diinkubasi kedalam inkubator pada suhu 37°C selama 24-48 jam sampai terlihat zona bening yang ada disekitar kertas cakram. Dari ke 4 perlakuan dan 6 ulangan diperoleh hasil pada Tabel 2.

Table 2. Sidik Ragam Satu Arah

Sidik Ragam Satu Arah						
Perlakuan	Jumlah Kuadrat	Derajat Kebebasan	Kuadrat Tengah	F Hitung	Nilai Probabilitas	F Tabel
Error	7.55	3	2.52	10.03	0.00	3.09
Perlakuan	5.01	20	0.25			
Total	12.55	23				

Berdasarkan uji Sidik Ragam Satu Arah pada Tabel 3 tentang uji ekstrak buah maja dapat diperoleh hasil yang menunjukkan signifikan, Terlihat bahwa H_0 dapat diterima untuk F hitung yaitu dengan konsentrasi (10,03) lebih tinggi dari F tabel (3,09). Oleh karena itu, untuk mengetahui pengaruh antara perlakuan yang diuji pada tabel berikut, perlu dilakukan uji tambahan, yaitu uji BNT dengan tingkat kepercayaan 0,05, berbeda nyata atau tidak.

Tabel 3. Hasil Uji BNT pada Uji Pengamatan Pertumbuhan Hambat Bakteri *Escherichia coli*

Perlakuan	Rata -Rata	Simbol/ Notasi
1	0.33	Bc
2	0.42	A
3	0.48	Ab
4	1.70	B

Hasil uji BNT pada Tabel 4 untuk perlakuan menunjukkan konsentrasi berbeda nyata, hal ini diketahui bahwa notasi antar perlakuan dapat dinyatakan berbeda nyata antar konsentrasi, sehingga pada konsentrasi antibakteri pada bakteri *Escherichia coli* yang tertinggi terdapat pada perlakuan 3 yaitu konsentrasi 37,5% yang efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri, hal ini di karenakan senyawa-senyawa kandungan yang terdapat dalam buah maja (*Aegle marmelos*). Hasil dari ekstrak buah maja yaitu senyawa flavonoid, saponin dan tanin yang dapat digunakan sebagai antibakteri.

Kesimpulan

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa ekstrak buah maja maja memiliki pengaruh dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* namun termasuk dalam kategori lemah dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Pada konsentrasi ekstrak buah maja (*Aegle marmelos*) 19,2% dengan rata-rata 0,42 mm, dari rata-rata tersebut termasuk dalam kategori lemah dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

Daftar Pustaka

- [1] Singkoh, M.F.O, 2011. Aktifitas Antibakteri Ekstrak Alga Laut *Caulerpa racemosa* dari Perairan Ulau Nai. *Jurnal Perikanan Dan Kelautan Tropid*, 7(3), hal.123-127.
- [2] Rismayani. 2013. *Manfaat Buah Maja Sebagai Pestisida Nabati Untuk Hama Penggerek Buah Kakao (Conopomorpha cramerella)*. *Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri*, 19 (3) hal. 24-26.
- [3] Nurcahyati, S. 2008. Efektivitas Ekstrak Daun Mojo (*Aegle marmelos* L.) Terhadap Kematian Aedes Aegypti Instar III. Skripsi. Fakultas Ilmu Kesehatan Muhammadiyah Surakarta. Surakarta.
- [4] Hutapea, J.R. 1993. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia II*. Departemen Kesehatan RI. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Jakarta.
- [5] Nurcahyati, S. 2008. Efektivitas Ekstrak Daun Mojo (*Aegle marmelos* L.) Terhadap Kematian Aedes Aegypti Instar III. Skripsi. Fakultas Ilmu Kesehatan Muhammadiyah Surakarta. Surakarta.
- [6] Syauqi, A. 2017. *Buku Mikrobiologi Lingkungan Peranan Mikroorganisme dalam Kehidupan*. Universitas Islam Malang. Malang.
- [7] Davis & Stout. 1971. Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Essay. *Journal of Microbiology*, 22(4).
- [8] Sulistyoyo. 1971. *Farmakologi dan Terapi*. Penerbit EKG. Yogyakarta.