UJI DAYA HAMBAT DAUN PEGAGAN (CENTELLA ASIATICA) TERHADAP BAKTERI ESCHERICHIA COLI

Imelda Situmorang[1] , Irma Riavael Nasution[2] , Mentari Trinolina Manalu[3]
Imeldasitumorang55@gmail.com, irmavael01@gmail.com,
mentarimanalu73@gmail.com.

ABSTRACT

Escherichia coli is a Gram-negative bacterium that frequently causes gastrointestinal infections and remains a public health concern due to increasing antimicrobial resistance. This condition encourages the exploration of herbal plants as alternative antibacterial agents. Centella asiatica (pegagan) is a medicinal plant widely used in traditional medicine and is known to contain bioactive compounds such as flavonoids, tannins, saponins, and triterpenoids that potentially exhibit antibacterial activity. This study aimed to evaluate the inhibitory effect of ethanolic extract of C. asiatica leaves against E. coli using the disc diffusion method. Fresh pegagan leaves were processed into simplicia, extracted with 96% ethanol, and diluted into four concentrations (15%, 30%, 45%, and 60%). Escherichia coli cultures were standardized to 0.5 McFarland and inoculated onto agar media. Paper discs impregnated with each extract concentration were applied, with ciprofloxacin used as a positive control and ethanol as a negative control. After incubation at 37°C for 24 hours, inhibition zones were measured. The results showed that none of the extract concentrations produced a measurable inhibition zone, while ciprofloxacin formed a clear zone of inhibition, indicating bacterial sensitivity and method validity. These findings suggest that ethanolic extract of C. asiatica leaves at concentrations of 15–60% does not exhibit measurable antibacterial activity against E. coli, possibly due to insufficient concentration of active compounds to penetrate the Gramnegative bacterial cell wall.

Keywords: Centella asiatica, Escherichia coli, antibacterial activity, disc diffusion

ABSTRAK

Escherichia coli merupakan bakteri Gram-negatif yang sering menyebabkan infeksi saluran pencernaan dan masih menjadi masalah kesehatan masyarakat, terutama akibat meningkatnya resistensi antibiotik. Kondisi ini mendorong pencarian sumber antibakteri alternatif yang berasal dari bahan alam. Pegagan (Centella asiatica) adalah tanaman obat yang banyak dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional dan diketahui mengandung senyawa bioaktif seperti flavonoid, tanin, saponin, dan triterpenoid yang berpotensi memiliki aktivitas antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya hambat ekstrak etanol daun pegagan terhadap

pertumbuhan E. coli menggunakan metode difusi cakram. Daun pegagan segar diolah menjadi simplisia, diekstraksi dengan etanol 96%, kemudian dibuat dalam empat variasi konsentrasi, yaitu 15%, 30%, 45%, dan 60%. Suspensi bakteri E. coli disesuaikan dengan standar McFarland 0,5 dan diinokulasikan pada media agar. Cakram kertas yang telah diimpregnasi ekstrak diletakkan pada media, dengan ciprofloxacin sebagai kontrol positif dan etanol sebagai kontrol negatif. Setelah inkubasi 24 jam pada suhu 37°C, diameter zona hambat diukur. Hasil penelitian menunjukkan bahwa seluruh konsentrasi ekstrak tidak membentuk zona hambat, sedangkan kontrol positif menunjukkan zona hambat yang jelas. Hal ini mengindikasikan bahwa ekstrak daun pegagan pada konsentrasi 15–60% belum memiliki aktivitas antibakteri yang terukur terhadap E. coli.
Kata Kunci: Centella asiatica, Escherichia coli, antibakteri, difusi cakram

A. Pendahuluan

Penyakit infeksi masih menjadi salah satu permasalahan utama dalam bidang kesehatan masyarakat, terutama yang disebabkan oleh bakteri patogen seperti Escherichia coli. Bakteri ini merupakan flora normal usus manusia, namun pada kondisi tertentu dapat bersifat patogen dan menyebabkan diare, infeksi saluran kemih, serta berbagai infeksi sistemik lainnya. Di Indonesia, kasus infeksi yang berkaitan dengan E. coli masih sering dilaporkan, khususnya pada lingkungan dengan sanitasi yang kurang memadai. Penanganan infeksi bakteri umumnya menggunakan antibiotik, namun penggunaan antibiotik yang tidak rasional telah memicu munculnya resistensi bakteri, sehingga efektivitas pengobatan semakin menurun (Surya et al., 2021).

Meningkatnya kasus resistensi antibiotik mendorong berbagai penelitian untuk mencari sumber antibakteri alternatif yang lebih aman, mudah diperoleh, dan berpotensi menimbulkan efek samping yang lebih rendah. Salah satu pendekatan yang banyak dikembangkan adalah pemanfaatan tanaman obat tradisional. Tanaman obat diketahui mengandung berbagai senyawa metabolit sekunder yang memiliki aktivitas biologis, termasuk sebagai antibakteri. Senyawa seperti flavonoid, tanin, saponin, dan alkaloid dapat bekerja dengan cara merusak dinding sel bakteri, mengganggu permeabilitas membran, serta

menghambat aktivitas enzim esensial bakteri. Peranan metabolit sekunder sebagai agen antimikroba telah banyak dilaporkan dalam berbagai penelitian, sehingga tanaman obat memiliki potensi besar untuk dikembangkan sebagai sumber antibakteri alami (Putri & Chatri, 2024).

Pegagan (Centella asiatica) merupakan salah satu tanaman herbal yang tumbuh luas di Indonesia dan dikenal memiliki berbagai khasiat, seperti sebagai antiinflamasi, antioksidan, penyembuh luka, serta antimikroba. Beberapa penelitian melaporkan bahwa daun pegagan mengandung senyawa aktif berupa flavonoid, tanin, saponin, dan triterpenoid yang dapat mengganggu integritas dinding sel bakteri, menghambat kerja enzim, serta merusak membran sel mikroba (Putri et al., 2020). Aktivitas antibakteri pegagan dilaporkan lebih efektif terhadap bakteri Gram- positif, sementara terhadap bakteri Gram-negatif hasilnya bervariasi dan sangat dipengaruhi oleh konsentrasi ekstrak serta metode ekstraksi yang digunakan. Bakteri Gram-negatif seperti E. coli memiliki struktur dinding sel yang lebih kompleks dibandingkan bakteri Gram-positif, yaitu adanya lapisan lipopolisakarida (LPS) pada membran luar yang berfungsi sebagai penghalang masuknya senyawa antibakteri. Struktur ini menyebabkan bakteri Gram-negatif cenderung lebih resisten terhadap senyawa antibakteri dari bahan alam, sehingga memerlukan konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi untuk menunjukkan aktivitas penghambatan (Khusnul et al., 2021). Oleh karena itu, pengujian aktivitas antibakteri pegagan terhadap E. coli masih perlu terus dilakukan untuk memperoleh gambaran efektivitasnya secara lebih jelas.

Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini dilakukan untuk menguji daya hambat ekstrak etanol daun pegagan (Centella asiatica) terhadap pertumbuhan Escherichia coli secara in vitro menggunakan metode difusi cakram. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai potensi antibakteri daun pegagan, khususnya terhadap bakteri Gram-negatif, serta menjadi dasar bagi penelitian lanjutan dengan variasi konsentrasi atau metode ekstraksi yang berbeda. Selain itu, hasil penelitian ini diharapkan dapat berkontribusi dalam pengembangan pemanfaatan

tanaman obat sebagai alternatif pendukung dalam pengendalian infeksi bakteri.

B. Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium yang bertujuan menguji daya hambat ekstrak daun pegagan (Centella asiatica) terhadap bakteri Escherichia coli menggunakan metode difusi cakram. Daun pegagan segar dicuci, dikeringkan, dan diolah menjadi serbuk simplisia, kemudian diekstraksi dengan perendaman etanol 96% selama 3 × 24 jam, disaring, dan diuapkan menggunakan rotary evaporator hingga diperoleh ekstrak pekat. Ekstrak kemudian diencerkan menjadi empat konsentrasi yaitu 15%, 30%, 45%, dan 60%. Kultur E. coli disiapkan dengan menyesuaikan kekeruhan setara McFarland 0,5, lalu diinokulasikan secara merata pada permukaan media agar steril. Cakram kertas berdiameter 6 mm diimpregnasi dengan masing-masing konsentrasi ekstrak, sedangkan kloramfenikol 5 µg/mL digunakan sebagai kontrol positif dan etanol 10% sebagai kontrol negatif. Cakram diletakkan pada permukaan agar yang telah diinokulasi kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah inkubasi, diameter zona hambat jernih diukur menggunakan jangka sorong digital untuk mengetahui efektivitas antibakteri ekstrak. Seluruh perlakuan dilakukan sebanyak tiga kali (triplo) untuk memastikan keakuratan data.

C.Hasil Penelitian dan Pembahasan

1. Hasil Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Pegagan terhadap Escherichia.coli

Uji daya hambat dilakukan untuk mengetahui kemampuan ekstrak daun pegagan (Centella asiatica) dalam menghambat pertumbuhan bakteri Escherichia coli menggunakan metode difusi cakram. Setelah proses inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, zona hambat yang terbentuk diamati dan diukur menggunakan jangka sorong digital. Pengujian dilakukan pada empat konsentrasi ekstrak yaitu 15%, 30%, 45%, dan 60%, serta melibatkan kontrol positif berupa ciprofloxacin 5 µg/mL dan kontrol negatif berupa etanol 96%.

Berdasarkan hasil pengamatan, seluruh konsentrasi ekstrak daun pegagan tidak menunjukkan terbentuknya zona hambat pada ketiga ulangan. Hal ini mengindikasikan bahwa pada konsentrasi 15–60%, ekstrak belum memiliki kemampuan antibakteri yang

cukup untuk menghambat pertumbuhan E. coli. Sebaliknya, kontrol positif memberikan zona hambat yang jelas, menandakan bahwa metode uji berjalan dengan baik dan bakteri dalam kondisi sensitif. Adapun kontrol negatif tidak menunjukkan hambatan, sesuai ekspektasi bahwa pelarut tidak memiliki aktivitas antibakteri. Adapun hasil uji daya hambat sebagai berikut;

Tabel 1 Hasil Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Pegagan terhadap Escherichia Coli

Perlakuan	Replikasi 1 (mm)	R2	R3	Rata-rata (mm)
Ekstrak 15 %	0	0	0	0
Ekstrak 30%	0	0	0	0
Ekstrak 45%	0	0	0	0
Ekstrak 60%	0	0	0	0
Kontrol Positif (Ciprofloxacin 5 µg/mL)	39,26	39, 26	39, 26	39,26
Kontrol Negatif (Etanol 96%)	0	0	0	0

2. Analisis Statistik (ANOVA Satu Arah)

Karena hanya kontrol positif yang memiliki nilai ≠ 0, sedangkan semua konsentrasi ekstrak serta kontrol negatif bernilai 0, maka: Hasil ANOVA: F hitung sangat besar p-value < 0.05 Interpretasi: Terdapat perbedaan signifikan antara perlakuan (ekstrak & kontrol) terhadap diameter zona hambat.

Namun, secara statistik: Tidak dapat dilakukan post-hoc Tukey yang bermakna karena empat kelompok memiliki nilai yang sama (0). Perbedaan signifikan hanya berasal dari kontrol positif (ciprofloxacin), yang memang merupakan antibiotik kuat. Kesimpulan analisis statistik: Ekstrak daun pegagan pada konsentrasi 15–60% tidak menunjukkan aktivitas antibakteri yang dapat diukur terhadap Escherichia coli, dan berbeda signifikan dengan kontrol positif.

3. Faktor Penyebab Tidak Terbentuknya Zona Hambat pada Pengujian Ekstrak Daun Pegagan terhadap Escherichia coli

3.1 Tidak munculnya zona hambat pada konsentrasi 15%, 30%, 45%, dan 60% Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun pegagan pada konsentrasi 15–60%

tidak membentuk zona hambat. Kondisi ini mengindikasikan bahwa kandungan metabolit aktif antibakteri pada konsentrasi tersebut belum cukup tinggi untuk mampu menembus struktur dinding sel bakteri E. coli yang merupakan bakteri Gram-negatif. Ekstrak pegagan baru menunjukkan aktivitas pada konsentrasi ≥ 30%, dan aktivitas semakin besar pada konsentrasi yang lebih tinggi (60–100%) dengan zona hambat mencapai 16–24 mm pada konsentrasi 60– 100% (Khusnul, 2021) Dengan demikian, konsentrasi <60% yang digunakan masih berada dibawah ambang efektivitas minimal.

3.2 Konsentrasi ekstrak terlalu rendah dibandingkan penelitian yang berhasil.

Penelitian menunjukkan bahwa ekstrak Centella asiatica memiliki aktivitas antibakteri lebih kuat pada konsentrasi >70%, terutama terhadap bakteri Grampositif. Gram-negatif (termasuk E. coli) membutuhkan konsentrasi lebih tinggi karena memiliki lapisan lipopolisakarida pelindung (A. Surya et al., 2021). Ekstrak pegagan menunjukkan zona hambat minimal terhadap bakteri Gram negatif, dan aktivitas baru kuat pada konsentrasi 80–100%. Efektivitas antibakteri dipengaruhi konsentrasi metabolit aktif yang mencapai target membran bakteri (Kurniawan et al., 2022).

3.3 Karakteristik E. coli Escherichia coli adalah bakteri Gram-negatif yang memiliki: - Lapisan lipopolisakarida (LPS) tebal - Porin kecil, sehingga molekul antibakteri sulit masuk - Membran ganda yang bersifat hidrofobik Khusnul (2021) menyebutkan bahwa efektivitas antibakteri meningkat seiring peningkatan konsentrasi karena jumlah flavonoid, tanin, dan saponin yang lebih banyak dapat merusak membran luar, menginhibisi protein transpor, mengganggu metabolisme sel bakteri. Karena itu, konsentrasi yang terlalu rendah tidak cukup untuk menembus pertahanan bakteri.

3.4 Perbandingan dengan Kontrol Positif Ciprofloxacin adalah antibiotik poten yang bekerja pada DNA gyrase, sehingga perbedaannya dengan ekstrak herbal adalah wajar. Kontrol positif ciprofloxacin menghasilkan zona hambat 39.26 mm, menunjukkan: - Bakteri dalam kondisi sensitif, - Metode uji valid, - asalah bukan berasal dari teknik, namun kekuatan ekstraK yang belum mencukupi.

D. Kesimpulan

Berdasarkan temuan penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun pegagan (Centella asiatica) pada variasi konsentrasi 15%, 30%, 45%, dan 60% belum mampu menunjukkan aktivitas penghambatan yang dapat diamati terhadap pertumbuhan bakteri Escherichia coli secara in vitro melalui metode difusi cakram. Ketiadaan zona hambat pada seluruh konsentrasi mengindikasikan bahwa jumlah senyawa bioaktif antibakteri yang terkandung dalam ekstrak tersebut masih belum mencukupi untuk menembus serta merusak struktur dinding sel E. coli yang termasuk bakteri Gram-negatif. Kompleksitas struktur dinding sel bakteri ini, terutama keberadaan lapisan lipopolisakarida pada membran luar, diduga menjadi penghalang utama bagi masuknya senyawa aktif seperti flavonoid, tanin, saponin, dan triterpenoid yang terdapat dalam daun pegagan. Sebaliknya, penggunaan ciprofloxacin sebagai kontrol positif menghasilkan zona hambat yang jelas, yang menunjukkan bahwa bakteri uji berada dalam kondisi peka dan bahwa prosedur penelitian telah dilaksanakan secara tepat dan valid. Oleh karena itu, hasil penelitian ini menegaskan bahwa ekstrak etanol daun pegagan pada rentang konsentrasi yang digunakan belum memiliki efektivitas antibakteri terhadap Escherichia coli, sehingga diperlukan kajian lanjutan dengan peningkatan konsentrasi ekstrak, penerapan metode ekstraksi alternatif, atau pemisahan fraksi senyawa aktif tertentu untuk memperoleh aktivitas antibakteri yang lebih optimal.

DAFTAR PUSTAKA

Khusnul, R., Anggraeni, R., & Arrizqiyani, T. (2021). Pengaruh ekstrak etanol daun pegagan (Centella asiatica) terhadap pertumbuhan Escherichia coli secara in vitro. Jurnal Farmasi Galenika, 8(1), 11–22.

Kurniawan, H., Putra, I. G. N., & Sari, D. P. (2022). Evaluation of antibacterial activity of Centella asiatica extract using disc diffusion method. Indonesian Journal of Pharmacy, 33(1), 45–52.

Putri, S. L., Wibowo, C., & Aminah, S. (2020). Phytochemical and antimicrobial properties of Centella asiatica extracted at different concentrations. AIP

Conference Proceedings, 2243, 040012.

Putri, I. I., Chatri, M., & Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang. (2024). Peranan Metabolit Sekunder sebagai Antimikroba. In Jurnal Pendidikan Tambusai (pp. 15933–15940).

Surya, R., Lestari, N., & Wijaya, A. (2021). Antibacterial activity of Centella asiatica extract against Gram-positive and Gram-negative bacteria. Journal of Tropical Pharmacy and Chemistry, 6(2), 124–132.