

**EFEK ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN PACAR AIR (*Impatiens balsamina* Linn)  
TERHADAP *Staphylococcus aureus* ISOLAT PUS SECARA *IN VITRO***Tita Dwi Cahyaningtyas<sup>1</sup>, Sri Winarsih<sup>2</sup>, Sri Poeranto<sup>3</sup><sup>1</sup>Mahasiswa Program Studi Pendidikan Dokter FKUB, <sup>2</sup>Laboratorium Mikrobiologi FKUB, <sup>3</sup>Laboratorium Parasitologi FKUB**Abstract (English)**

*Staphylococcus aureus* is a normal flora bacteria that may cause infection in almost entire human body. Recently, some strain of *S.aureus* have been known for their antibiotic resistance because the using of antibiotic in incompatible dosage. There are continuous development for using plant as medicine. Impatiens leaves contain some substances that are predicted to have antibacterial effects such as qumarin, flavonoid, and saponin. This study is established to determine the antibacterial effects of Impatiens leaves against the growth of *S.aureus*. Bacterial samples of *S.aureus* were 4 isolates taken from pus specimen of 4 patients. Antibakterial testing used dillution agar method with the final extract's concentrations that were used are 0,2%; 0,4%; 0,6%; 0,8%; and 1%  $\%$ . The result showed that the MIC of the Impatiens leaves extract is at 0,8%  $\%$ . Test Kruskall Wallis and Mann Whitney result showed that there was significant difference number of bacterial colony at the alteration of Impatiens leaves extract's (Kruskall Wallis,  $p=0,000$ ). Spearman correlation test indicated close and reverse correlation and also significant influence of extract's concentration against the number of bacterial colony (Spearman,  $R= - 0,971$ ;  $p=0,001$ ). The conclusion of this research is the Impatiens leaves extract has antibacterial effects on *S.aureus* in vitro with MIC 0,8%  $\%$ .

**Abstrak (Indonesia)**

*Staphylococcus aureus* merupakan bakteri flora normal yang dapat menyebabkan infeksi pada hampir seluruh bagian tubuh manusia. Saat ini, beberapa galur *S.aureus* diketahui telah resisten terhadap antibiotik akibat penggunaan antibiotik yang tidak sesuai dengan ketentuan. Pengembangan tanaman sebagai obat terus dilakukan. Daun Pacar Air (*Impatiens balsamina* Linn) mengandung senyawa yang diprediksi memiliki efek antibakteri yakni kumarin, flavonoid, dan saponin. Penelitian ini bertujuan untuk menguji efek antibakterial ekstrak daun Pacar Air terhadap *Staphylococcus aureus*. Sampel bakteri *S.aureus* adalah 4 isolat yang berasal dari spesimen pus dari 4 penderita. Uji antibakteri menggunakan metode dilusi agar dengan konsentrasi akhir ekstrak yang digunakan yaitu 0,2%; 0,4%; 0,6%; 0,8%; dan 1%  $\%$ . Hasil penelitian menunjukkan bahwa KHM ekstrak daun Pacar Air terhadap *S.aureus* adalah 0,8%  $\%$ . Uji Kruskall Wallis dan Mann Whitney menunjukkan terdapat perbedaan jumlah koloni bakteri yang signifikan pada perubahan konsentrasi ekstrak daun Pacar Air (Kruskall Wallis,  $p=0,000$ ). Uji Korelasi Spearman menunjukkan adanya hubungan yang erat dan berbanding terbalik serta pengaruh yang signifikan antara konsentrasi ekstrak dengan jumlah koloni bakteri (Spearman,  $R= - 0,971$ ;  $p=0,001$ ). Kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak daun Pacar Air memiliki efek antibakteri terhadap *S.aureus* secara *in vitro* dengan KHM 0,8%  $\%$ .

**Article History**

Submitted: 24 June 2024

Accepted: 3 July 2024

Published: 4 July 2024

**Key Words***Staphylococcus aureus*,  
*Impatiens* leaves extract,  
antibakteri.**Sejarah Artikel**

Submitted: 24 June 2024

Accepted: 3 July 2024

Published: 4 July 2024

**Kata Kunci***Staphylococcus aureus*,  
Ekstrak daun Pacar Air,  
antibakteri.

## PENDAHULUAN

Infeksi bakteri merupakan masalah kesehatan besar yang dihadapi baik dewasa maupun anak-anak. Salah satu infeksi bakteri terbanyak disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*). Bakteri *S.aureus* merupakan flora normal di permukaan tubuh manusia sehingga dapat ditemukan secara luas dikomunitas. Wenzel dan Perl (1995) menemukan bahwa, diantara populasi umum orang dewasa sehat, terdeteksi carrier atau pembawa *S.aureus* sebanyak 11-32%, dan prevalensi sebesar 25% terdeteksi pada pekerja rumah sakit.<sup>1</sup>

Bakteri *S.aureus* meningkatkan berbagai resiko infeksi *Staphylococcus* yang dapat berupa jerawat, impetigo (mungkin juga disebabkan oleh "*Streptococcus pyogenes*"), furunkel, folikulitis selulitis, karbunkles, abses, dan penyakit-penyakit yang membahayakan kehidupan seperti radang paru-paru, meningitis, osteomielitis, endokarditis, *toxic shock syndrome (TSS)*, bakteremia dan septikemia. Pada bayi, infeksi *Staphylococcus* dapat menyebabkan penyakit mematikan yang disebut "*Staphylococcal scalded skin syndrome (SSSS)*".<sup>2</sup>

*S.aureus* dapat menginfeksi manusia jika sistem perlindungan alami (barier) rusak (seperti robeknya mukosa atau kulit). Keadaan ini memicu timbulnya furunkel (boil) dan karbunkel (kumpulan furunkel). Bakteri ini dapat menyebar melalui kontak dengan pus dari luka yang terinfeksi, kontak langsung kulit ke kulit dengan orang yang terinfeksi, dan kontak tidak langsung dengan benda-benda seperti handuk, baju, sprei, atau alat-alat olahraga yang telah digunakan oleh orang yang terinfeksi. Penetrasi yang dalam dari *S.aureus* beresiko sangat mematikan, misalnya yang terjadi pada pengguna sendi buatan beresiko terkena sepsis arthritis, *staphylococcal endokarditis* (infeksi pada katup jantung), dan pneumonia, yang cepat sekali menyebar ke organ-organ lain.<sup>3</sup>

Dalam mengatasi berbagai infeksi *Staphylococcus* telah dikembangkan banyak antibiotik yang berasal dari metabolit sekunder mikroorganisme dan ada pula yang semi sintetik. Penggunaan antibiotik yang tidak sesuai dengan ketentuan baik menggunakan antibiotik secara terus menerus ataupun penggunaan antibiotik dibawah dosis dan durasi waktunya kurang, dapat menyebabkan munculnya sifat resisten pada bakteri patogen. Munculnya sifat resisten ini disebabkan karena bakteri patogen yang dikenai senyawa antibakteri dengan dosis yang kurang memadai tidak mati, tetapi beradaptasi dengan supresi yang dialaminya. Proses adaptasi yang terus-menerus menyebabkan terjadinya perubahan genetik yang mengarah pada terbentuknya gen yang menyebabkan bakteri patogen resisten terhadap obat yang digunakan, sehingga obat yang sama tidak efektif lagi. Dengan demikian, maka pencarian antibakteri baru atau memodifikasi yang sudah ada harus terus dilakukan, untuk mendapatkan senyawa antibakteri yang aktivitasnya lebih efektif, lebih aman dan mempunyai spectrum yang lebih luas agar problem resistensi teratasi.<sup>4</sup>

Pada saat ini penelitian dibidang farmakologi untuk mencari antibiotik dari tumbuhan tingkat tinggi sedang banyak dilakukan. Salah satu tumbuhan yang selama ini hanya dikenal sebagai tanaman hias yang mudah sekali ditemukan diberbagai tempat adalah Pacar Air (*Impatiens balsamina* L.). Masyarakat Bengkulu telah memanfaatkan tanaman Pacar Air sebagai obat luka potong, bengkak-bengkak, koreng, obat panas dalam dan susah kencing bagi anak kecil.<sup>5</sup> Dalam pengobatan Cina, pacar air digunakan untuk mengobati penyakit encok, luka memar dan beri-beri<sup>6</sup> sedangkan di India digunakan juga sebagai racun ikan.<sup>7</sup>

Dalam daun tumbuhan Pacar Air terdapat kandungan senyawa kumarin, flavonoid, dan saponin.<sup>5,8</sup> Masing-masing senyawa tersebut memiliki potensi sebagai antibakteri. Penelitian

sebelumnya menunjukkan tumbuhan Pacar Air mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes* pada KHM 32 $\mu$ g/ml.<sup>9</sup> Dengan mempertimbangkan bahwa bakteri *S.aureus* juga merupakan bakteri Gram positif seperti halnya *Propionibacterium acnes*, maka akan diuji efektifitas daun Pacar Air sebagai antibakteri terhadap *S.aureus* secara *in vitro*.

## METODE PENELITIAN

### Desain Penelitian

Penelitian yang dilakukan menggunakan rancangan eksperimental laboratorik dengan metode dilusi agar untuk mengetahui konsentrasi ekstrak daun Pacar Air (*Impatiens balsamina* L.) yang dapat mempengaruhi pertumbuhan isolat bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*.

### Sampel Penelitian

Pada penelitian ini digunakan sampel berupa empat isolat bakteri *S.aureus* dengan kepadatan masing-masing 10<sup>6</sup> CFU/ml yang dikembangkan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Sampel diperoleh dari spesimen pus pasien di Rumah Sakit Saiful Anwar Malang.

### Lokasi dan Waktu Penelitian

Prosedur penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi FKUB pada bulan April 2013 s.d Juni 2013. Prinsip-prinsip aseptis yaitu dengan cara penggunaan ruang kultur steril dan penggunaan alat dan bahan yang steril, menjaga agar lingkungan penelitian tetap bersih dan steril, serta dengan mengikuti prosedur eksperimen yang benar telah diterapkan dalam pelaksanaan penelitian ini untuk mencegah kontaminasi yang bisa mengganggu hasil eksperimen.

### Definisi Operasional

- *Staphylococcus aureus* yang digunakan dalam penelitian ini adalah 4 isolat yang berasal dari spesimen pus 4 pasien. *S.aureus* diidentifikasi dengan pewarnaan Gram, uji katalase, uji koagulase, dan inokulasi pada medium Manitol Salt Agar (MSA).
- Daun Pacar Air (*Impatiens balsamina* L.) yang digunakan adalah daun berwarna hijau tua, berukuran 10-15cm, dan telah dipisahkan dari bagian batangnya. Tumbuhan Pacar Air dalam penelitian ini adalah dengan bunga merah dan didapat dari Materia Medika Malang.
- Ekstrak daun Pacar Air (*Impatiens balsamina* L.) adalah hasil ekstrak daun Pacar Air menggunakan cara maserasi dengan etanol 96%.
- Kadar Hambat Minimum (KHM) adalah konsentrasi antimikroba terendah yang tidak terdapat pertumbuhan *S.aureus* pada media agar.
- Penilaian pertumbuhan koloni menggunakan skoring, yaitu:
  - 0 : tidak ada pertumbuhan koloni
  - +1 : koloni tipis, jarak renggang, tepi tipis tidak meninggi
  - +2 : koloni tipis, jarak renggang, tepi tebal tidak meninggi
  - +3 : koloni tebal, jarak rapat, tepi tebal tidak meninggi
  - +4 : koloni tebal, jarak rapat, tepi tebal meninggi

## HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

### Hasil Penelitian

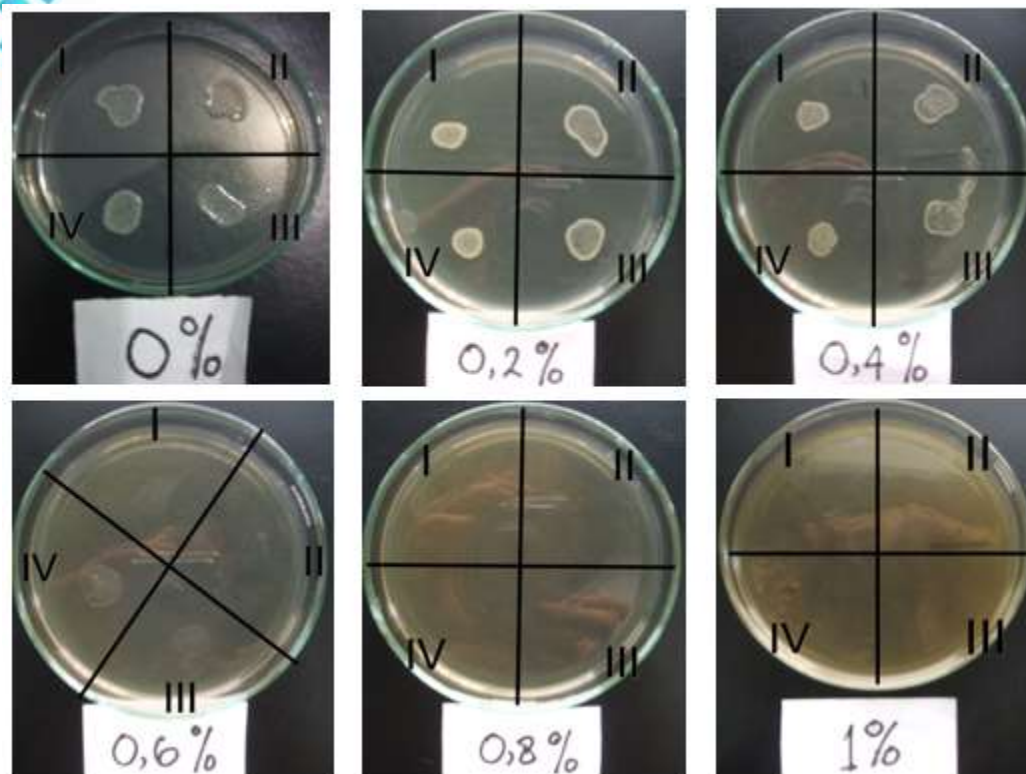
#### 1. Hasil Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus*

Sebelum digunakan dalam penelitian ini, 4 galur bakteri *S.aureus* yang diperoleh telah diidentifikasi oleh laboratorium Mikrobiologi Universitas Brawijaya. Identifikasi dilakukan dengan beberapa cara yaitu pewarnaan Gram, uji Katalase, uji Koagulase dan penanaman pada medium *Manitol Salt Agar* (MSA).

Hasil identifikasi bakteri *S.aureus* dari masing-masing isolat pada pengecatan Gram, didapatkan gambaran bentuk bakteri Gram positif yang ditandai dengan warna ungu pada bakteri. Dapat ditemukan satu-satu, berpasangan, dan bergerombol menyerupai anggur. Pada uji Katalase ditemukan gelembung udara yang berarti terdapat gas, sedangkan pada Uji koagulase ditemukan gumpalan-gumpalan putih (*clumping*). Penanaman bakteri *S.aureus* pada medium *Manitol Salt Agar* (MSA) didapatkan adanya daerah terang (halo) berwarna kuning disekitar koloni *S.aureus*.

#### 2. Hasil Uji Dilusi Agar

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan beberapa macam konsentrasi ekstrak daun Pacar Air, dengan variasi konsentrasi 0,2%, 0,4%, 0,6%, 0,8%, 1%  $v/v$  serta 1 kelompok kontrol dengan tanpa diberi ekstrak daun Pacar Air (konsentrasi 0%). Kadar Hambat Minimal (KHM) ekstrak daun Pacar Air terhadap bakteri *S.aureus* pada penelitian ini ditentukan dengan ditandai tidak adanya pertumbuhan bakteri. Hal ini dapat dilihat berdasarkan pengamatan hasil inokulasi 4 galur bakteri *S.aureus* pada media agar yang diberi ekstrak dan diinkubasi selama 24 jam. Hasil penentuan KHM dapat dilihat pada (Gambar 1).



**Gambar 1. Hasil Inokulasi Bakteri Pada Media Nutrient Agar**

Keterangan :

- I. Galur *Staphylococcus aureus* kode isolat 024-p
- II. Galur *Staphylococcus aureus* kode isolat 034-p
- III. Galur *Staphylococcus aureus* kode isolat 098-p
- IV. Galur *Staphylococcus aureus* kode isolat 186-p

Terlihat pada Gambar 1 bahwa terdapat koloni bakteri yang tumbuh pada konsentrasi ekstrak 0% (Kontrol Positif) yang tebal, sangat rapat dan pada bagian tepi tebal meninggi di semua galur pada plate. Pada konsentrasi 0,2%, koloni masih tebal dan rapat namun tampak pada bagian tepi tidak meninggi, yang menunjukkan jumlah bakteri tidak sepadat kelompok kontrol 0%. Pada konsentrasi 0,4%, galur I, II, dan IV tampak koloni yang tebal, rapat, dan tepi tebal tidak meninggi, namun pada galur III tampak koloni yang lebih tipis, ada jarak sehingga terlihat renggang meskipun bagian tepi masih tebal dan tidak meninggi. Pada konsentrasi 0,6% koloni sudah tampak tipis, pada galur III dan IV terlihat koloni yang tipis meski tepi masih tebal, sementara galur I dan II sudah sangat tipis, dan tepi juga tipis. Dan pada konsentrasi 0,8% dan 1% sudah tidak ditemukan adanya pertumbuhan koloni.

Pada hasil pengamatan (Gambar 1) pada medium agar setelah diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, tampak bahwa semakin tinggi pemberian dosis ekstrak daun Pacar Air maka semakin sedikit pertumbuhan koloni yang dapat dilihat pada setiap spot atau titik-titik tempat penetesan inokulasi bakteri. Sesuai dengan definisi KHM dengan metode dilusi agar, maka dapat ditentukan bahwa KHM ekstrak daun Pacar Air adalah konsentrasi antimikroba terendah yang

tidak terdapat pertumbuhan bakteri. Hasil pengamatan jumlah koloni dari uji coba perlakuan dengan menggunakan ekstrak daun Pacar Air dapat dilihat pada Tabel 1 berikut.

**Tabel 1 Derajat Pertumbuhan Koloni *S.aureus* Dalam Beberapa Konsentrasi Ekstrak Daun Pacar Air**

Ulangan	Konsentrasi					
	0% v/v	0,2% v/v	0,4% v/v	0,6% v/v	0,8% v/v	1% v/v
<b>Galur 1</b>	+4	+3	+3	+1	0	0
<b>Galur 2</b>	+4	+3	+3	+1	0	0
<b>Galur 3</b>	+4	+3	+2	+2	0	0
<b>Galur 4</b>	+4	+3	+3	+2	0	0
<b>Rerata</b>	+4	+3	+2,75	+1,5	0	0

Keterangan :

- 0 : tidak ada pertumbuhan koloni
- +1 : koloni tipis, jarak renggang, tepi tipis tidak meninggi
- +2 : koloni tipis, jarak renggang, tepi tebal tidak meninggi
- +3 : koloni tebal, jarak rapat, tepi tebal tidak meninggi
- +4 : koloni tebal, jarak rapat, tepi tebal meninggi

Berdasarkan hasil pengamatan terhadap pertumbuhan koloni bakteri *S.aureus* yang dihasilkan pada media agar dalam beberapa konsentrasi ekstrak daun Pacar Air dan kontrol (konsentrasi 0%) pada Tabel 1 menunjukkan hasil yang bervariasi. Adanya perbedaan konsentrasi daun Pacar Air pada perlakuan memberikan pengaruh atau efek yang berbeda sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan koloni bakteri *S.aureus* yang dihasilkan pada media agar. Adanya pengaruh pemberian ekstrak daun Pacar Air tersebut mulai terlihat dimana pertumbuhan koloni bakteri *S.aureus* yang dihasilkan pada media agar menjadi lebih sedikit setelah diberikan perlakuan berupa ekstrak daun Pacar Air mulai 0,2% dibandingkan dengan pertumbuhan koloni bakteri *S.aureus* yang dihasilkan pada media agar pada kelompok kontrol (konsentrasi 0%). Kemudian pertumbuhan koloni bakteri *S.aureus* yang dihasilkan pada media agar cenderung semakin menurun ketika diberi konsentrasi yang lebih tinggi. Bahkan pada konsentrasi yang lebih tinggi yaitu konsentrasi 0,8% menunjukkan sudah tidak ada pertumbuhan koloni bakteri yang tumbuh dalam media agar tersebut. Dengan demikian, maka dapat dikatakan bahwa pemberian perlakuan berupa ekstrak daun Pacar Air menunjukkan efek atau pengaruh yang berbeda jika dibandingkan kontrol, dengan KHM 0,8% v/v.

Selanjutnya dari hasil penelitian akan dianalisis dengan menggunakan uji Kruskal Wallis untuk mengetahui adanya perbedaan efektivitas tiap variasi konsentrasi ekstrak daun Pacar Air terhadap pertumbuhan koloni bakteri *S.aureus*, Uji Mann Whitney untuk mengetahui perlakuan mana saja yang menunjukkan efek yang berbeda, serta pengujian dengan korelasi Spearman untuk mengetahui keeratan pengaruh dari pemberian ekstrak daun Pacar Air tersebut terhadap pertumbuhan koloni bakteri *S.aureus*.

Dari hasil analisis data dengan Uji Kruskall Wallis menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,000 ( $p < 0,05$ ), sehingga dapat ditrepretasikan bahwa terdapat perbedaan efek antibakteri pada pemberian ekstrak daun Pacar Air antara setiap perlakuan terhadap pertumbuhan koloni bakteri *S.aureus* yang dihasilkan pada media agar. Dari hasil Uji Mann Whitney antara setiap perlakuan, menunjukkan bahwa antara pertumbuhan koloni bakteri *S.aureus* yang dihasilkan pada media agar pada kelompok kontrol (0%) berbeda signifikan dengan kelompok yang diberi ekstrak daun Pacar Air dengan konsentrasi 0,2%, 0,4%, 0,6%, 0,8%, 1% ( $p < 0,05$ ). Pada pertumbuhan koloni bakteri pada konsentrasi 0,2% berbeda signifikan dengan kelompok yang diberi ekstrak daun Pacar Air dengan konsentrasi 0,6%, 0,8%, dan 1% namun tidak berbeda signifikan pada konsentrasi 0,4%. Sedangkan pada pertumbuhan koloni bakteri pada konsentrasi 0,4% dengan kelompok yang diberi ekstrak daun Pacar Air dengan konsentrasi 0,6%, 0,8% dan 1% kemudian pada pertumbuhan koloni bakteri pada konsentrasi 0,6% dengan kelompok yang diberi ekstrak daun Pacar Air dengan konsentrasi 0,8% dan 1% hasilnya berbeda signifikan ( $p < 0,05$ ). Namun, pertumbuhan koloni bakteri pada konsentrasi 0,8% tidak berbeda signifikan dengan kelompok yang diberi ekstrak daun Pacar Air dengan konsentrasi 1%. Dari kesimpulan ini dapat dianalisis bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak daun Pacar Air mempunyai efek sebagai antibakteri pada konsentrasi tertentu saja. Setelah melakukan Uji Mann Whitney, dilanjutkan dengan uji korelasi dengan menggunakan Uji Spearman.

Dari Uji Korelasi Spearman didapatkan nilai signifikansi 0,001 dari koefisien korelasi yaitu  $R = -0,971$  yang berarti pemberian ekstrak daun Pacar Air mempunyai hubungan (korelasi) yang signifikan dengan jumlah koloni bakteri *S.aureus* dengan arah korelasi negatif, artinya semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun Pacar Air semakin turun jumlah koloni bakteri *S.aureus*.

## PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui Kadar Hambat Minimal (KHM) potensi antibakteri dari ekstrak daun Pacar Air (*Impatiens balsamina* Linn) terhadap *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan metode Dilusi Agar.

Penelitian dengan menggunakan daun Pacar Air dilakukan karena pemanfaatan Pacar Air telah dikenal oleh masyarakat antara lain sebagai obat penyembuh luka-luka memar. Disamping itu kemudahan dalam mendapatkan tanaman ini karena tumbuh subur sebagai tanaman liar di sekitar lingkungan rumah pada daerah tropis.<sup>6</sup>

Untuk memperoleh efek zat aktif dari daun Pacar Air secara maksimal, dilakukan ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan bahan pelarut etanol 96%. Metode maserasi digunakan karena metode ini lebih efektif dan mudah bila diaplikasikan ke masyarakat. Etanol 96% digunakan sebagai bahan pelarut karena sifat zat aktif golongan fenol yang terkandung di dalam daun Pacar Air larut dalam etanol. Meskipun menggunakan etanol, efek antibakteri ekstrak daun Pacar Air terhadap *S.aureus* diyakini bukan pengaruh etanol, karena dalam proses pembuatan ekstrak telah mengalami evaporasi dan di oven pada suhu 80°C sedangkan titik didih etanol 78%. Pemberian perlakuan tersebut dimaksudkan agar seluruh pelarut etanol menguap karena setelah proses evaporasi didapatkan hasil ekstrak berupa larutan pekat yang berwarna hijau gelap. Untuk mendapatkan larutan yang benar-benar homogen, sebelum ekstrak dipakai

untuk pengujian efek antibakteri, dilakukan proses sentrifus terhadap hasil ekstrak daun Pacar Air.

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah galur *S.aureus* yang dimiliki oleh Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang yang berasal dari pus pada kulit pasien. *Staphylococcus aureus* yang berasal dari pus lebih dipilih karena lebih terlokalisir sehingga lebih mudah memperolehnya, selain itu dengan didapatkannya sampel bakteri yang terdapat pada pus dari kulit pasien, diharapkan nantinya hasil penelitian ini bisa lebih sesuai dalam penerapannya pada masyarakat yang selama ini sudah menggunakannya sebagai obat topikal.

Sebelum digunakan untuk penelitian, 4 galur bakteri *S.aureus* ini diidentifikasi terlebih dahulu dengan pewarnaan Gram didapatkan Gram positif berwarna ungu, uji Katalase didapatkan gelembung udara, uji Koagulase didapatkan gumpalan putih (*clumping*) dan penanaman pada medium *Manitol Salt Agar* (MSA) didapatkan adanya daerah terang (halo) berwarna kuning disekitar koloni *S.aureus* karena memfermentasi manitol.

Pada penelitian ini, dilakukan standarisasi jumlah koloni bakteri yang akan diujikan (konsentrasi  $10^6$  CFU/ml) dengan menggunakan spektrofotometri dengan panjang gelombang 625 nm, sehingga hasilnya lebih objektif karena dengan pengamatan bentuk dan warnanya saja akan memiliki nilai subyektifitas yang tinggi yang dapat mempengaruhi validitas hasil.

Metode dilusi agar dipilih karena penentuan KHM dengan metode dilusi agar tidak dipengaruhi oleh kekeruhan ekstrak. Sehingga metode ini menjadi solusi untuk mencari KHM bila bahan antibakteri yang digunakan berpengaruh terhadap degradasi kekeruhan bakteri pada dilusi tabung.

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan beberapa macam konsentrasi ekstrak daun Pacar Air, dengan variasi konsentrasi 0,2%, 0,4%, 0,6%, 0,8%, 1%  $\text{v/v}$ , serta kelompok kontrol 0% atau tanpa konsentrasi ekstrak daun Pacar Air. Besarnya konsentrasi tersebut ditentukan berdasarkan penelitian pendahuluan (eksplorasi) yang sebelumnya, sehubungan dengan belum ditemukan informasi yang mendukung mengenai konsentrasi ekstrak daun Pacar Air yang biasa digunakan di dalam penelitian.

Pada metode dilusi agar proses penentuan KHM, nilai yang diamati adalah derajat pertumbuhan koloni bakteri yang telah diinokulasikan pada permukaan medium agar dalam bentuk tetesan berdiameter 5-6 mm ( $10\mu\text{l}$ ). Dari pengamatan hasil penelitian, terdapat gambaran koloni yang berbeda pada 4 galur bakteri *S.aureus*, misalnya terlihat pada pengamatan konsentrasi 0,4% pada galur III sudah didapatkan gambaran koloni yang tipis, sedangkan 3 galur yang lain koloninya masih tampak tebal, begitu pula yang terlihat pada konsentrasi 0,6% terdapat perbedaan gambaran antara galur III dan IV yang masih memiliki gambaran koloni tepi yang tebal, dibandingkan dengan galur I dan II. Hal ini terjadi dikarenakan bakteri *S.aureus* berasal dari pasien yang berbeda-beda yang kemungkinan pasien tersebut sudah terpapar oleh berbagai agen antimikroba sehingga daya tahan masing-masing galur dari pasien tersebut berbeda pula. Meskipun gambaran koloni berbeda pada konsentrasi 0,4% dan 0,6%, namun pada konsentrasi 0,8% semua galur tidak tampak tumbuh, sehingga dapat dikatakan bahwa ekstrak daun Pacar Air menghambat pertumbuhan *S.aureus* secara bermakna dengan KHM 0,8%  $\text{v/v}$ .

Fakta penurunan jumlah koloni *S.aureus* dalam penelitian ini diduga karena efek dari senyawa-senyawa kimia aktif yang berasal dari ekstrak daun Pacar Air. Hasil ekstrak daun Pacar Air mengandung senyawa kumarin, flavonoid, dan saponin. Senyawa-senyawa tersebut memiliki sifat antibakteri dengan mekanisme yang berbeda-beda.

*Kumarin* adalah senyawa fenol yang pada umumnya berasal dari tumbuhan tinggi. Salah satu senyawa yang terkandung adalah golongan 4-hidroksi kumarin yang memiliki sifat antibakteri melalui mekanismenya mengganggu sintesis sitokrom untuk kebutuhan respirasi bakteri, menurunkan jumlah ergosterol yang menyusun membran sel bakteri, dan merusak asam amino-asam amino pada sel bakteri.<sup>10,11</sup> *Flavonoid* merupakan senyawa polar karena mengandung sejumlah gugus hidroksi sehingga umumnya senyawa ini dapat larut dalam pelarut polar seperti etanol. Senyawa ini mempunyai kerja menghambat DNA gyrase yang berperan sebagai repair pada DNA yang rusak, menghambat enzim untuk metabolisme energi, menghambat fungsi membran sitoplasma, dan merusak dinding sel.<sup>12</sup> *Saponin* memiliki aktifitas luas sebagai agen antifungi, penurun kolesterol tubuh, dan menghambat pertumbuhan sel kanker. Senyawa ini merupakan membranolitik karena mengubah fluiditas membran sehingga mengganggu aktifitas enzimatis membran sel dan transport ion yang melewati membran sel.<sup>13</sup>

Hasil penelitian menunjukkan adanya penurunan jumlah koloni bakteri *S.aureus* seiring dengan peningkatan konsentrasi perlakuan yang merupakan cerminan dari kandungan bahan aktif ekstrak daun Pacar Air (*Impatiens balsamina* Linn) yang mampu menghambat pertumbuhan *S.aureus*, maka dapat dikatakan bahwa ekstrak daun Pacar Air terbukti memiliki efek sebagai antibakteri terhadap *S.aureus*. Hal ini membuktikan bahwa hipotesis yang telah disusun adalah benar.

Kesesuaian hasil tersebut terdapat pula pada beberapa literatur. Berdasarkan penelitian yang diteliti oleh Adfa (2001), telah diuji metabolit sekunder dari daun Pacar Air yang mengandung kumarin, flavonoid, kuinon, saponin dan diduga mempunyai korelasi terhadap aktivitas antibakteri ekstrak daun Pacar Air. Pada penelitian yang dilakukan oleh Hotmauli (2010), disimpulkan bahwa ekstrak daun Pacar Air (*Impatiens balsamina* Linn) 100%, 50%, dan 25% sebanding efektifitasnya dengan ketoconazol 2% dalam menghambat pertumbuhan *Candida* ATCC 10231 pada media SDA. Ekstrak daun Pacar Air (*Impatiens balsamina* Linn) 100% dan 50% efektif dalam menghambat pertumbuhan *Candida* ATCC 10231 pada media SDA, sedangkan ekstrak daun Pacar Air 25% tidak efektif dalam menghambat pertumbuhan *Candida* ATCC 10231 pada media SDA.<sup>14</sup> Penelitian lain menyatakan bahwa efektifitas kaempferol pada tumbuhan Pacar Air yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes* didapatkan KHM sebesar 32µg/ml.<sup>9</sup>

Analisa statistik dengan uji Korelasi Spearman terhadap hasil-hasil pemeriksaan laboratorium dalam penelitian ini menunjukkan bahwa efektifitas antibakteri ekstrak daun Pacar Air terhadap *Staphylococcus aureus* mempunyai validitas internal yang tinggi.

Penelitian ini memiliki keterbatasan antara lain jumlah pasti masing-masing kandungan bahan aktif yang dihasilkan dari proses ekstraksi masih belum diketahui secara pasti untuk dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus*. Faktor lain yang mungkin mempengaruhi hasil penelitian ini adalah lamanya masa penyimpanan ekstrak. Makin lama disimpan, maka

sensitifitas ekstrak biasanya akan menurun. Pada penelitian ini masih belum diketahui bagaimana pengaruh lama penyimpanan terhadap sensitifitas ekstrak.

Aplikasi klinis dari penelitian ini masih memerlukan penelitian lebih lanjut mengenai standarisasi bahan aktif apa saja yang dapat digunakan dan berapa konsentrasi yang efektif apabila digunakan sebagai antibakteri. Untuk itu diperlukan penelitian lebih lanjut tentang farmakokinetik, farmadinamik, toksisitas, dan efek ekstrak daun Pacar Air pada hewan coba dan *clinical trial* pada manusia. Penelitian-penelitian lanjutan tersebut diperlukan untuk mengetahui dosis yang aman dan tepat dari ekstrak daun Pacar Air dalam potensinya sebagai antibakteri terhadap bakteri *S.aureus*, agar dapat digunakan sebagai pengobatan alternatif yang efektifitasnya tinggi dan aman untuk manusia.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan dalam penelitian mengenai efektifitas ekstrak daun Pacar Air (*Impatiens balsamina Linn*) sebagai antibakteri terhadap *S.aureus* secara *in vitro* dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut:

- Ekstrak daun Pacar Air (*Impatiens balsamina Linn.*) efektif sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*.
- Semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun Pacar Air maka semakin rendah pertumbuhan koloni bakteri *S.aureus*.
- Nilai Kadar Hambat Minimal (KHM) dari ekstrak daun Pacar Air sebagai antibakteri terhadap bakteri *S.aureus* secara *invitro* adalah 0,8 %<sup>v/v</sup>.

## SARAN

Berdasarkan kesimpulan yang telah dikemukakan maka diberikan saran-saran untuk mengadakan perbaikan di masa mendatang yaitu sebagai berikut:

- Perlu dilakukan pengujian untuk mengetahui kadar masing-masing zat aktif yang terkandung didalam ekstrak daun Pacar Air sehingga dapat diketahui zat aktif utama yang memiliki aktifitas antibakteri terbesar terhadap bakteri yang diuji.
- Perlu dilakukan pengujian lebih lanjut secara *in vivo* untuk mengetahui dosis efektif, dosis letal, dosis toksik, efek samping serta dilanjutkan dengan pengujian pada manusia sebelum digunakan untuk keperluan pengobatan medis pada masyarakat luas.
- Perlu dilakukan penyebaran informasi yang berimbang secara luas tentang manfaat dari ekstrak daun Pacar Air sebagai antibakteri agar dapat digunakan oleh masyarakat sebagai pengobatan tradisional atau *back to nature*, dimana bahannya mudah didapat, murah (terjangkau oleh seluruh lapisan masyarakat), semua orang bisa membuatnya, dan dengan lebih sedikit resiko resistensi dari penggunaan obat antibakteri sintesis.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Tolan, RW. 2009. *Staphylococcus aureus Infection*. (<http://emedicine.medscape.com/article/971358>, diakses tanggal 2 Juni 2013).
2. Siegrist, J. 2011. Staphylococcus Infection and Detection. *Microbiology Focus*. Vol 3.4, p.2.

3. Chang FY, MacDonald BB, Peacock JE, *et al.* 2003. A Prospective Multicenter Study of Staphylococcus aureus Bacteremia: Incidence of Endocarditis, Risk Factors for Mortality, And Clinical Impact of Methicillin Resistance. *Medicine (Baltimore)*;82(5):322-32.
4. Dharma, A., 2001, *Uji Bioaktivitas Metabolit Sekunder*, Makalah Workshop Kimia Bahan Alam Hayati, Proyek Ditjen Dikti, Unand, Padang.
5. Adfa, M., dan Kasrina, 2001, *Pacar air (Impatiens spp.) sebagai Tanaman Obat Masyarakat Bengkulu: Survey Etnobotani dan Keanekaragaman hayati*, Laporan Penelitian, Lembaga Penelitian Universitas Bengkulu.
6. Fukomoto, H., K. Isoi, K. Ishiguro, M. Semma, M. Yamaki.1996. *Phytother-res*, 10(3),p.202-206.
7. Shoji. N, A. Umeyama, K. Yoshikawa, N. Saitou, Y. Kan and S. Arihara.1994. Baccharene Glycosides From Seeds of Impatiens balsamina. *J. Tetrahedron*. Vol 50 (17),p.4973-4986.
8. Zainab, dan Sumiwi, S.A. 2007. Impatiens balsamina (Pacar Air), (online), ([http://tnalaspurwo.org/media/pdf/kea\\_pacar\\_air%28impatiens\\_balsamina%29.pdf](http://tnalaspurwo.org/media/pdf/kea_pacar_air%28impatiens_balsamina%29.pdf)). Diakses 2 Januari 2013.
9. Lim, Young-Hee., Kim, In-Hwan., Seo, Jung-Ju. 2007. *The Journal of Microbiology*, In vitro Activity of Kaempferol Isolated from the Impatiens balsamina alone and in Combination with Erythromycin or Clindamycin against Propionibacterium acnes. Vol 45(5), p.473-477.
10. Adfa. 2006. 6-Metoksi, 7-Hidroksi Kumarin dari Daun Pacar Air (*Impatiens Balsamina* L.). *Jurnal Gradien* (2006)2: 183-186.
11. Thati, B. 2007. *Mechanism of Action of Cuomarin and Silver(I)-Coumarin Complexes Against The Pathogenic Yeast Candida Albicans*. Ireland. Volume 21(5) p.801-808.
12. Cushnie, A. 2005. Antimicrobial Activity of Flavonoid. *International journal of Antimicrobial Agent*. p.343-356.
13. Cheeke. 2001. *Actual and Potential Application of Yucca Schidigera and Quillaja Saponaria Saponin in Human and Animal Nutrition*. <http://Livestocklibrary.com.au>.
14. Hotmauli, M. 2010. *Perbandingan efektifitas ekstrak daun pacar air (Impatiens balsamina Linn) dengan ketokonazol 2% terhadap pertumbuhan Candida ATCC 10231 pada media SDA*. Tugas Akhir. Diterbitkan, Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang.