

Efektivitas Zat Antibakteri Biji Mimba (*Azadirachta indica*) untuk Menghambat Pertumbuhan *Salmonella thyposa* dan *Staphylococcus aureus*

The effectiveness of antibacteria substances from neem seeds (*Azadirachta indica*) to
impede the growth of *Salmonella thyposa* and *Staphylococcus aureus*

AMBARWATI*

Prodi Kesehatan Masyarakat, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta

Diterima: 04 Agustus 2007. Disetujui: 20 September 2007

ABSTRACT

Neem (*Azadirachta indica*) is a multifunction plant. Its leaves and seeds can be used as a traditional medicine. One of the benefits of neem seeds is that they can serve as antibacteria. It happens because neem seeds contain certain substances which can impede the growth of *Salmonella thyposa* and *Staphylococcus aureus* bacteria. The aims of this research were to find out the effectiveness of soaking neem seed powder in hampering the growth of *Salmonella thyposa* and *Staphylococcus aureus* bacteria and to find out the active chemistry compound in soaking neem seed powder based on the result of Tin Layer Chromatografi (TLC). It was an experimental research. Paper disc method was used to find out the impeding ability of soaking neem seed powder toward both kinds of bacteria. The effective concentration is shown by the existence of the biggest barrier area in that concentration. Based on the result of this research, it was known that the barrier's diameter (didn't include the paper disc's diameter) at *Salmonella thyposa* is as follow : soaking neem seed powder with 0% concentration (control) = 0 mm, 10.5% = 2.33 mm, 11.5% = 3.0 mm, 12.5% = 18.67 mm, 13.5% = 5.33 mm, 14.5% = 5.0 mm, and 15.5% = 4.0 mm. While the barrier's diameter at *Staphylococcus aureus* is as follow : soaking neem seed powder with 0% concentration (control) = 0 mm, 10.5% = 2.0 mm, 11.5% = 2.83 mm, 12.5% = 19.67 mm, 13.5% = 4.0 mm, 14.5% = 3.0 mm, 15.5% = 5 mm. Based on qualitative test result with TLC, it was found that the active chemistry compound in soaking neem seed powder are saponin and flavonoid. Based on this result, it can be concluded that soaking neem seed powder can impede the growth of *Salmonella thyposa* and *Staphylococcus aureus*.

© 2007 Jurusan Biologi FMIPA UNS Surakarta

Key words: Neem (*Azadirachta indica*), Barrier, *Salmonella thyposa* and *Staphylococcus aureus*, Paper disc, TLC

PENDAHULUAN

Mimba (*Azadirachta indica*) merupakan tanaman multi fungsi, karenanya tanaman ini juga dikenal sebagai *Wonderful tree*. Menurut Sukrasno dan Tim Lentera (2003), daun dan biji mimba mempunyai banyak manfaat. Biji mimba dapat dimanfaatkan untuk insektisida alami, fungisida, antibakteri, spermisida, sabun minyak mimba dan pelumas minyak mimba. Manfaat mimba sebagai insektisida alami telah banyak dibuktikan dalam beberapa penelitian, namun manfaat biji mimba sebagai antibakteri belum banyak dikaji peneliti.

Menurut Sukrasno dan Tim Lentera (2003) biji mimba mengandung minyak yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella thyposa* dan *Staphylococcus aureus*. *Salmonella thyposa* merupakan bakteri penyebab penyakit tipus, sedangkan *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu bakteri

penyebab gastroenteritis (penyakit perut). Jika biji mimba mampu menghambat pertumbuhan kedua bakteri ini maka dapat diasumsikan bahwa biji mimba dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional untuk menyembuhkan penyakit tipus dan penyakit perut (gastroenteritis).

Penyakit tipus merupakan salah satu penyakit yang sering terjadi di masyarakat. Tipus atau demam tifoid merupakan penyakit menular dan akut. Masa inkubasi tipus pada umumnya 10-14 hari. Gejala dini mencakup demam, perut kembung, sukar buang air besar, pusing, lesu, ruam, tak bersemangat, tidak nafsu makan, mual dan muntah (Pelczar and Chan, 1988). Penyakit ini biasanya parah, dan bila pengobatan tidak segera diberikan penyakit ini akan berlangsung selama beberapa minggu dan penderita dapat meninggal. Gejala gastroenteritis yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* adalah tiba-tiba dan muntah hebat sampai 24 jam (Budiyanto, 2004).

Banyak penelitian yang telah dilakukan untuk menguji kandungan bahan aktif pada tanaman atau bahan alam untuk menghambat pertumbuhan kedua bakteri tersebut, diantaranya penelitian tentang penggunaan daun beluntas untuk menghambat *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* oleh Ardiansyah (2005). Penelitian lain tentang penghambatan terhadap *Salmonella typhosa* (*Salmonella typhi*) dengan rimpang temu kunci (Lestari, 2005), patikan kebo (Ambarwati, 2005), dan cacing tanah (Winarsih,

▼ Alamat Korespondensi:

Jl. A. Yani Tromol Pos 1, Pabelan, Surakarta 57102
Tel: +62 271- 717417 Fax: +62 271- 715 448.

2006; Nurwati, 2006). Penelitian tentang penghambatan terhadap *Staphylococcus aureus* dengan adas manis (Kuswandi *et al.*, 2000), kulit buah dan daun jeruk kasturi (Jamal *et al.*, 2000), pinus (Erindyah dan Maryati, 2003), rimpang dlingo (Umamah *et al.*, 2003), kayu cendana (Simanjutak, 2003).

Sejauh ini belum ditemukan penelitian yang menggunakan mimba sebagai antibakteri terhadap *Salmonella typhosa* dan *Staphylococcus aureus*. Penelitian yang pernah dilakukan adalah penggunaan ekstrak mimba untuk menghambat *Streptococcus mutans* dan *Streptococcus faecalis* (Almas, 1999), minyak mimba untuk menghambat *E. coli* dan *Klebsiella pneumoniae* (SaiRam *et al.*, 2000), dan mimba sebagai pencuci mulut untuk menghambat *Streptococcus mutans* dan *Lactobacillus* (Vanka *et al.*, 2001).

Berdasarkan hasil uji pendahuluan diketahui bahwa cairan biji mimba, ekstrak biji mimba dengan berbagai pengencer (*aquadest*, etanol 70% dan DMSO) dan rendaman serbuk biji mimba pada konsentrasi 0%, 25%, 50%, 75%, dan 100%, tidak mampu menghambat pertumbuhan *Salmonella typhosa* dan *Staphylococcus aureus*. Pada uji pendahuluan yang menggunakan minyak atsiri biji mimba dengan konsentrasi yang sama, diketahui bahwa minyak atsiri biji mimba mampu menghambat *Salmonella typhosa* pada konsentrasi 50% dengan diameter daerah hambatan (daerah bening yang tidak ditumbuhi bakteri uji) sebesar 3 mm (tidak termasuk diameter *paper disc* 6 mm), konsentrasi 75% sebesar 4 mm dan konsentrasi 100% sebesar 5 mm. Sedangkan penghambatan minyak atsiri biji mimba terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 50% terbentuk daerah hambatan dengan diameter daerah hambatan sebesar 4 mm, konsentrasi 75% sebesar 5 mm dan konsentrasi 100% sebesar 6 mm. Berdasarkan hasil ini dapat diketahui bahwa minyak atsiri biji mimba mampu menghambat kedua bakteri uji, namun demikian tingkat hambatannya lemah. Selanjutnya uji pendahuluan dilakukan dengan menggunakan serbuk biji mimba sebanyak 5 gr yang direndam dalam 40 ml *aquadest* selama 2 hari (rendaman serbuk biji mimba 12,5%), hal ini didasarkan pada cara kerja yang tercantum dalam label serbuk biji mimba yang akan digunakan sebagai pestisida. Dengan cara ini didapatkan daerah hambatan yang cukup besar, untuk *Salmonella typhosa* sebesar 17 mm dan *Staphylococcus aureus* sebesar 18 mm. Berdasarkan hasil ini maka penelitian selanjutnya dikembangkan dengan menggunakan rendaman biji mimba dengan konsentrasi 0% (kontrol), 10,5%, 11,5%, 12,5%, 13,5%, 14,5% dan 15,5%.

Menurut Tjitrosoepomo (2000), berdasarkan taksonominya mimba tergolong dalam Divisi Spermatophyta, Anak divisi Angiospermae, Kelas Dicotyledoneae, Anak kelas Monochlamydeae, Bangsa Rutales, Suku Meliaceae, Anak suku Meliadeae, Marga *Azadirachta*, dan Jenis *Azadirachta indica*. Mimba memiliki beberapa nama lain atau nama daerah, diantaranya : Mimba (sunda), intaran (Bali dan Nusa Tenggara), mambha atau mempheuh (Madura) dan sebagainya (Sukrasno dan Tim Lentera, 2003).

Mimba merupakan pohon dengan ketinggian 10-15 meter. Mimba terdiri dari akar, batang, daun, bunga, buah dan biji. Biji bulat, diameter satu cm, dan berwarna putih. Mimba tumbuh baik di daerah panas, di ketinggian 1-700 meter dari permukaan laut dan tahan tekanan air (Kardinan, 2000).

Biji mimba dapat dimanfaatkan sebagai insektisida alami, fungisida, antibakteri, spermisida, sabun minyak mimba dan pelumas minyak mimba (Sukrasno dan Tim Lentera, 2003). Sebagai antibakteri, peran mimba disebabkan karena kandungan minyak dalam bijinya. Jenis bakteri yang bisa dihambat pertumbuhannya oleh minyak mimba adalah : 1). *Staphylococcus aureus* yang sering menyebabkan penyakit perut (gastroenteritis), keracunan makanan, radang dan bisul-bisul, serta 2). *Salmonella typhosa* yang dapat menyebabkan penyakit tipus.

Salmonella typhosa merupakan bakteri yang selnya berbentuk batang dan termasuk gram negatif serta motif. *Salmonella typhosa* memiliki antigen V1 kapsular selain antigen somatik (O) dan flagelar (H) yang digunakan untuk identifikasi secara serologis (Pelczar and Chan, 1988).

Staphylococcus aureus merupakan bakteri yang selnya berbentuk bulat, gram positif, terdapat tunggal, berpasangan dan dalam gerombol, tidak berkapsul, tidak membentuk spora, aerobik atau fakultatif anaerobik, serta tidak motil (Pelczar and Chan, 1988). Menurut Stehulak (2005), *Staphylococcus aureus* umumnya menyebabkan penyakit yang berasal dari makanan, karena bakteri ini menghasilkan racun yang dapat menimbulkan penyakit. Enterotoksin dari *Staphylococcus aureus* berfungsi pada penerima di usus yang meneruskan impuls ke pusat medula.

Tujuan penelitian ini adalah : 1). Mengetahui efektivitas rendaman serbuk biji mimba untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhosa* dan *Staphylococcus aureus*, 2). Mengetahui konsentrasi rendaman serbuk biji mimba yang efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhosa* dan *Staphylococcus aureus* dan 3). Mengetahui kandungan senyawa kimia aktif dalam rendaman serbuk biji mimba berdasarkan hasil uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT).

BAHAN DAN METODE

Jenis penelitian

Jenis penelitian ini adalah eksperimen (*true experiment*) karena dalam penelitian ini dilakukan perlakuan, yaitu penambahan rendaman serbuk biji mimba dalam berbagai konsentrasi (0% (kontrol), 10,5%, 11,5%, 12,5%, 13,5%, 14,5%, dan 15,5%) dan akan dilihat pengaruhnya terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella typhosa* dan *Staphylococcus aureus*. Sedangkan rancangan penelitian yang dipakai adalah rancangan acak lengkap dengan asumsi kondisi sampel, lingkungan, alat, bahan dan media relatif homogen.

Waktu dan Tempat Penelitian

Waktu penelitian mulai bulan Maret-Oktober 2007. Tempat pembuatan ekstrak dan minyak atsiri biji mimba di Laboratorium Biologi Farmasi Fakultas Farmasi UMS, tempat uji kandungan senyawa kimia aktif dengan Kromatografi Lapis Tipis di LPPT UGM dan tempat percobaan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Surakarta.

Alat dan Bahan

Cawan petri, pinset, inkubator, seperangkat alat ekstraksi (maserasi), seperangkat alat pembuatan minyak atsiri, seperangkat alat untuk KLT. Biji mimba, etanol 70%, kapas, Nutrient Agar (E. Merck), biakan agar miring

Salmonella thyposa dan *Staphylococcus aureus*, aquadest, amsaldehid H₂SO₄, Dragendroff, Laktosa Broth (Oxoid), Vanillin H₂SO₄ dan amoniak.

Cara Kerja

Pembuatan ekstrak dan minyak atsiri biji mimba, dilakukan di laboratorium Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi UMS. Isolasi bakteri *Salmonella thyposa* dan *Staphylococcus aureus* dilakukan dengan : Biakan kedua bakteri uji dipesan di laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran UGM. Kemudian biakan ditanam pada NA miring dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C untuk peremajaan.

Uji antibakteri rendaman serbuk biji mimba dilakukan dengan metode cawan potongan kertas (*paper disc*). *Nutrient Agar* (NA) cawan yang sudah steril diambil, kemudian biakan *Salmonella thyposa* dan *Staphylococcus aureus* umur 24 jam ditanam pada NA cawan tersebut. Suspensi kedua bakteri uji masing-masing diambil sebanyak 1 ml, kemudian suspensi dimasukkan ke dalam cawan petri dan diratakan dengan *grigalsky* (dibuat 7 agar cawan untuk *Salmonella thyposa* dan 7 agar cawan untuk *Staphylococcus aureus*). Setelah itu masing-masing cawan petri dibagi menjadi 3 juring. Selanjutnya potongan kertas yang telah dicelupkan pada rendaman serbuk biji mimba (0%) ditempatkan pada tiap-tiap juring tadi, baik untuk biakan *Salmonella thyposa* maupun *Staphylococcus aureus*, biakan ini bertindak sebagai kontrol. Dengan cara yang sama, uji antibakteri dilakukan untuk konsentrasi rendaman serbuk biji mimba sebanyak 10,5%, 11,5%, 12,5%, 13,5%, 14,5%, dan 15,5%. Setelah itu semua biakan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 48 jam. Setelah 48 jam biakan tersebut diamati ada tidaknya daerah hambatan (daerah jernih yang tidak ditumbuhi bakteri uji), kemudian daerah hambatan yang terbentuk diukur diameternya (diameter keseluruhan dikurangi diameter *paper disc* 6 mm). Selanjutnya diameter daerah hambatan tersebut dikategorikan sesuai dengan penggolongan Davis and Stout (1971) cit Ardiansyah (2005). Konsentrasi efektif ditentukan dengan melihat konsentrasi mana yang menimbulkan daerah hambatan terbesar.

Untuk mengetahui senyawa kimia aktif yang terkandung dalam rendaman serbuk biji mimba dilakukan uji kualitatif dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Pemeriksaan dilakukan di LPPT UGM.

Uji Kualitatif Kandungan Saponin.

Uji kualitatif kandungan saponin ditentukan dengan cara: Rendaman serbuk biji mimba dimasukkan dalam cawan porselin, kemudian rendaman dikeringkan dalam lemari pengering sampai didapatkan serbuk kering. Selanjutnya serbuk dihidrolisa dalam refluks dengan H₂SO₄ 2N dan didinginkan. Setelah itu serbuk diekstraksi dengan CHCl₃ sehingga didapatkan fase asam dan fase CHCl₃.

Fase CHCl₃ yang diperoleh ditotolkan pada kertas kromatogram silika gel 60 F₂₅₄ sebagai fase diam. Selanjutnya kertas kromatogram di diproses dalam tangki pengembang yang telah berisi efluen, yaitu kloroform : methanol (95 : 5). Pemrosesan dilakukan sampai larutan sampel bergerak sepanjang 8 cm. Kertas kromatogram kemudian dikeringanginkan. Untuk melihat penampakan *spot* pada kertas kromatogram dapat dilihat di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 365 nm. Dari *spot* yang muncul dapat dilakukan pengukuran nilai Rf-nya yang merupakan perbandingan antara jarak *spot* dari titik awal dengan jarak batas resapan dari titik awal (Wagner, 1984).

Uji Kualitatif Kandungan Flavonoid, Steroid dan Terpenoid.

Uji kualitatif kandungan flavonoid, steroid dan terpenoid dilakukan dengan cara : Rendaman serbuk biji mimba dimasukkan cawan porselin, kemudian serbuk dikeringkan dalam lemari pengering sampai didapatkan serbuk kering. Selanjutnya serbuk dilarutkan dalam MeOH. Larutan serbuk kemudian divortek selama 2 menit dan disentrifuse selama 2 menit, sehingga didapatkan fase organik.

Fase organik yang didapatkan ditotolkan pada kertas kromatogram selulose untuk flavonoid serta silika gel 60 F₂₅₄ untuk steroid dan terpenoid sebagai fase diam. Selanjutnya kertas kromatogram di diproses dalam tangki pengembang yang telah berisi efluen, yaitu etil asetat : asam formiat : asam asetat : air (100 : 11 : 11 : 27) untuk flavonoid, benzena : etil asetat (65 : 35) untuk steroid serta toluen : etil asetat (93 : 7) untuk terpenoid. Pemrosesan dilakukan sampai larutan sampel bergerak sepanjang 8 cm. Kertas kromatogram kemudian dikeringanginkan. Untuk melihat penampakan *spot* pada kertas kromatogram dapat dilihat di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 365 nm. Dari *spot* yang muncul dapat dilakukan pengukuran nilai Rf-nya yang merupakan perbandingan antara jarak *spot* dari titik awal dengan jarak batas resapan dari titik awal (Stahl, 1969; Wagner, 1984).

Uji Kualitatif Kandungan Alkaloid.

Uji kandungan alkaloid dilakukan dengan cara : Rendaman serbuk biji mimba dimasukkan cawan porselin, kemudian serbuk dikeringkan dalam lemari pengering sampai didapatkan serbuk kering. Selanjutnya serbuk dibasakan dengan amoniak 10%. Setelah itu serbuk divortek dan diekstraksi dengan CHCl₃.

Fase CHCl₃ yang didapatkan ditotolkan pada kertas kromatogram silika gel 60 F₂₅₄ sebagai fase diam. Selanjutnya kertas kromatogram di diproses dalam tangki pengembang yang telah berisi efluen, yaitu metanol : amoniak (100 : 1,5). Pemrosesan dilakukan sampai larutan sampel bergerak sepanjang 8 cm. Kertas kromatogram kemudian dikeringanginkan. Untuk melihat penampakan *spot* pada kertas kromatogram dapat dilihat di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 365 nm. Dari *spot* yang muncul dapat dilakukan pengukuran nilai Rf-nya yang merupakan perbandingan antara jarak *spot* dari titik awal dengan jarak batas resapan dari titik awal (Wagner, 1984).

Pengumpulan dan Analisis Data

Data dikumpulkan berdasarkan hasil pengukuran diameter daerah hambatan yang terbentuk dan hasil uji KLT. Analisis dilakukan secara deskriptif dan analitik. Analisis deskriptif untuk menggambarkan besarnya diameter daerah hambatan yang terbentuk dan mengkategorikannya. Selain itu untuk menggambarkan zat yang terkandung dalam serbuk biji mimba berdasarkan hasil uji KLT. Sedangkan analisis analitik dilakukan dengan korelasi Rank Spearman dengan tingkat signifikansi 99% untuk mengetahui hubungan antara konsentrasi rendaman serbuk biji mimba dengan diameter daerah hambatan pada *Salmonella thyposa* dan *Staphylococcus aureus*. Selain itu dilakukan uji Mann-Whitney test dengan tingkat signifikansi 99% untuk mengetahui perbedaan diameter daerah hambatan pada *Salmonella thyposa* dan *Staphylococcus aureus*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Pendahuluan

Pada penelitian ini terlebih dahulu dilakukan uji pendahuluan untuk menentukan konsentrasi yang akan dipakai pada uji selanjutnya. Berdasarkan hasil uji pendahuluan I, diketahui bahwa cairan biji mimba dan ekstrak biji mimba dengan pengencer *aquadest* pada konsentrasi 0%, 25%, 50%, 75%, dan 100%, tidak mampu menghambat pertumbuhan *Salmonella thyposa* dan *Staphylococcus aureus*. Pada uji pendahuluan II digunakan ekstrak biji mimba dengan pengencer etanol 70% dengan konsentrasi yang sama, namun cara ini juga tidak dapat menghambat pertumbuhan kedua bakteri uji. Pada uji pendahuluan III digunakan ekstrak biji mimba dengan pengencer DMSO dengan konsentrasi yang sama, pada uji ini juga tidak ditemukan adanya daerah hambatan pada kedua bakteri uji. Pada uji pendahuluan IV digunakan serbuk biji mimba yang direndam dalam *aquadest* dengan konsentrasi yang sama, namun cara ini juga tidak berhasil menghambat pertumbuhan kedua bakteri uji. Pada uji pendahuluan V digunakan minyak atsiri biji mimba dengan konsentrasi yang sama, hasilnya pada konsentrasi 50% mampu menghambat pertumbuhan *Salmonella thyposa* dengan diameter daerah hambatan 3 mm (tidak termasuk diameter *paper disc* 6 mm), konsentrasi 75% sebesar 4 mm dan konsentrasi 100% sebesar 5 mm. Sedangkan penghambatan minyak atsiri biji mimba terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, pada konsentrasi 50% dengan diameter daerah hambatan sebesar 4 mm, konsentrasi 75% sebesar 5 mm dan konsentrasi 100% sebesar 6 mm.

Berdasarkan hasil ini dapat diketahui bahwa minyak atsiri biji mimba mampu menghambat kedua bakteri uji, namun demikian tingkat hambatannya lemah dan sedang. Selanjutnya uji pendahuluan dilakukan dengan menggunakan serbuk biji mimba sebanyak 5 gr yang direndam selama 2 hari dalam 40 ml *aquadest* (rendaman serbuk biji mimba 12,5%), hal ini didasarkan pada cara kerja yang tercantum dalam label serbuk biji mimba yang akan digunakan sebagai pestisida. Dengan cara ini didapatkan daerah hambatan yang cukup besar, yaitu untuk *Salmonella typhosa* sebesar 17 mm dan *Staphylococcus aureus* sebesar 18 mm. Berdasarkan hasil ini maka penelitian selanjutnya dikembangkan dengan menggunakan rendaman biji mimba dengan konsentrasi 0% (kontrol), 10,5%, 11,5%, 12,5%, 13,5% 14,55 dan 15,5%.

Penelitian

Hasil pengukuran diameter daerah hambatan yang dibentuk oleh rendaman serbuk biji mimba pada berbagai konsentrasi terhadap pertumbuhan kedua bakteri uji dapat dilihat pada Tabel 1, sedangkan hasil pemeriksaan kualitatif kandungan senyawa kimia aktif pada rendaman serbuk biji mimba dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dapat dilihat pada Tabel 2. Berdasarkan hasil penelitian yang disajikan dalam Tabel 1 dapat diketahui bahwa rendaman serbuk biji mimba dapat menghambat pertumbuhan *Salmonella thyposa* dan *Staphylococcus aureus*, meskipun tingkat hambatannya berbeda. Hambatan rendaman serbuk biji mimba terhadap *Salmonella thyposa* lebih kecil dari pada hambatan terhadap *Staphylococcus aureus*, namun keduanya sama-sama dikategorikan kuat. Hal ini dimungkinkan karena *Salmonella thyposa* merupakan bakteri gram negatif yang memiliki dua membran sel yaitu

outer membrane dan *cytoplasmic membrane*, sedangkan *Staphylococcus aureus* termasuk bakteri gram positif yang hanya memiliki *cytoplasmic membrane* (Atlas, 1996). Membran sel ini berhubungan dengan mekanisme kerja mimba dalam menghambat bakteri. Berdasarkan hasil penelitian Baswa *et al.* (2001) diketahui bahwa aktivitas mimba yang utama dalam menghambat pertumbuhan bakteri adalah dengan menghambat sintesis membran sel bakteri.

Tabel 1. Hasil Pengukuran Diameter Daerah Hambatan

No.	Konsentrasi	Besarnya Diameter Daerah Hambatan (mm)	
		<i>Salmonella thyposa</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
1.	0 %	0,00	0,00
2.	10,5%	2,33	2,00
3.	11,5%	3,00	2,83
4.	12,5%	18,67	19,67
5.	13,5%	5,33	4,00
6.	14,5%	5,00	3,00
7.	15,5%	4,00	5,00

Tabel 2. Hasil Pemeriksaan Kandungan Senyawa Kimia Aktif dalam Rendaman Serbuk Biji Mimba dengan KLT

No.	Jenis Senyawa Kimia Aktif	Hasil Uji
1.	Saponin	Positif
2.	Flavonoid	Positif
3.	Steroid	Negatif
4.	Terpenoid	Negatif
5.	Alkaloid	Negatif

Keterangan : (+) : ada, (-) : tidak ada

Hasil penelitian ini juga mendukung pendapat Sukrasno dan Tim Lentera (2003), yang menyatakan bahwa biji mimba dapat digunakan sebagai antibakteri untuk menghambat *Salmonella thyposa* dan *Staphylococcus aureus*. Selain itu dapat diketahui pula bahwa pada konsentrasi 12,5%, rendaman serbuk biji mimba mampu membentuk daerah hambatan yang terbesar baik pada *Salmonella thyposa* (18,67 mm) maupun pada *Staphylococcus aureus* (19,67 mm). Hal ini dapat diartikan bahwa konsentrasi efektif untuk menghambat kedua bakteri uji adalah 12,5%. Dengan demikian biji mimba dimungkinkan dapat dijadikan sebagai alternatif obat tradisional untuk pengobatan tipus dan gastroenteritis yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus*. Namun demikian perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk menentukan dosis dan metode penggunaan yang tepat.

Menurut Davis and Stout, (1971) *cit* Ardiansyah (2005) bila diameter daerah hambatan 5 mm atau kurang maka aktifitas penghambatannya dikategorikan lemah, 5-10 mm dikategorikan sedang, 10-19 mm dikategorikan kuat, dan 20 mm atau lebih dikategorikan sangat kuat. Dengan demikian tingkat penghambatan rendaman serbuk biji mimba pada *Salmonella thyposa* dengan konsentrasi 10,5%, 11,5% dan 15,5% termasuk lemah (2,33 mm, 3,0 mm dan 4,0 mm), konsentrasi 13,5% dan 14,5% termasuk sedang (5,33 mm dan 5,0 mm) dan konsentrasi 12,5% termasuk kuat (18,67 mm). Sedangkan tingkat penghambatan rendaman serbuk biji mimba pada *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi 10,5%, 11,5%, 13,5% dan 14,5% termasuk lemah (2,0 mm, 2,83 mm, 4,0 mm dan 3,0 mm), konsentrasi 15,5% termasuk sedang (5,0 mm) dan konsentrasi 12,5% termasuk kuat (19,67 mm).

Berdasarkan hasil uji statistik dengan korelasi Rank Spearman dengan tingkat signifikansi 99%, diperoleh nilai $p=0,001$ untuk penghambatan rendaman serbuk biji mimba terhadap *Salmonella thyposa* dan nilai $p=0,000$ untuk

penghambatan terhadap *Staphylococcus aureus*. Dengan demikian nilai $p < 0,01$. Sehingga dapat disimpulkan bahwa ada hubungan antara konsentrasi rendaman serbuk biji mimba dengan diameter daerah hambatan pada *Salmonella thyposa* dan *Staphylococcus aureus*. Sedangkan berdasarkan hasil uji statistik dengan Mann-Whitney test dengan tingkat signifikansi 99% didapatkan nilai $p (0,099) > 0,01$, sehingga dapat disimpulkan bahwa tidak ada perbedaan diameter hambatan pada *Salmonella thyposa* dengan *Staphylococcus aureus*.

Bila dibandingkan dengan hasil penelitian Ardiansyah (2005), yang menggunakan ekstrak *non defatted* dan ekstrak *defatted* daun beluntas sebagai bahan antibakteri pada bakteri uji yang sama, maka penggunaan biji mimba dapat dikatakan lebih unggul. Hal ini dikarenakan diameter daerah hambatan yang dibentuk oleh ekstrak *non defatted* daun beluntas pada *Salmonella thyposa* hanya $10,2 \pm 0,4$ mm (kuat), dan ekstrak *defatted* memberikan hambatan yang lebih kecil yaitu $8,2 \pm 0,5$ mm (sedang). Sedangkan penghambatan pada *Staphylococcus aureus* untuk ekstrak *non defatted* sebesar $9,1 \pm 1,0$ mm (sedang), dan ekstrak *defatted* sebesar $7,1 \pm 0,6$ mm (sedang). Namun demikian perbandingan ini tidak bersifat mutlak karena pada hasil penelitian Ardiansyah (2005), tidak disebutkan dosis ekstrak beluntas yang digunakan, selain itu ada kemungkinan strain bakteri uji yang digunakan juga berbeda meskipun masih satu spesies.

Berdasarkan hasil penelitian Winarsih (2006), diketahui bahwa ekstrak cacing tanah mampu menghambat *Salmonella thypi* (*Salmonella thyposa*). Pada konsentrasi 20% terbentuk daerah hambatan sebesar 12,3 mm (kuat), 40% sebesar 14,6 mm (kuat), 60% sebesar 17,3 mm (kuat), 80% sebesar 29,6 mm (sangat kuat) dan 100% sebesar 31,6 mm (sangat kuat). Bila dibandingkan dengan hasil penelitian ini maka terlihat bahwa ekstrak cacing tanah dapat memberikan hambatan yang lebih besar terhadap *Salmonella thyposa* dibandingkan biji mimba. Sayangnya pada hasil penelitian Winarsih (2006), tidak dijelaskan cara pengukuran daerah hambatan, artinya diameter daerah hambatan yang dilaporkan tersebut termasuk diameter *paper disc* atau tidak. Bila ternyata diameter daerah hambatan yang terbentuk sudah termasuk diameter *paper disc*, dengan asumsi diameter *paper disc* sebesar 6 mm, maka untuk konsentrasi 20% diameter daerah hambatan sesungguhnya hanya sebesar 6,3 mm (sedang), 40% sebesar 8,6 mm (sedang), 60% sebesar 11,3 mm (kuat), 80% sebesar 23,6 (sangat kuat) dan 100% sebesar 25,6 mm (sangat kuat). Bila hal ini benar maka aktifitas penghambatan rendaman serbuk biji mimba dengan konsentrasi 12,5% terhadap *Salmonella thyposa* lebih kuat dibandingkan penghambatan ekstrak cacing tanah dengan konsentrasi 20%, 40% dan 60%, namun lebih lemah dibandingkan penghambatan ekstrak cacing tanah dengan konsentrasi 80% dan 100%.

Berdasarkan Tabel 2 dapat diketahui bahwa kandungan senyawa kimia aktif dalam rendaman serbuk biji mimba berdasarkan hasil uji kualitatif dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) adalah saponin dengan nilai R_f sebesar 0,18 dan flavonoid dengan nilai R_f sebesar 0,33. Saponin merupakan senyawa yang termasuk golongan glikosida kelompok aglikon. Senyawa glikosida ditemukan pada berbagai tanaman berbunga dan mempunyai fungsi khusus misalnya sebagai zat warna atau pigmen. Flavonoid merupakan golongan fenol alam yang terbesar. Flavonoid ditemukan pada semua tumbuhan hijau (Sumarno, 1992).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan di atas dapat disimpulkan beberapa hal sebagai berikut : 1). Rendaman serbuk biji mimba efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella thyposa* dan *Staphylococcus aureus*, 2). Konsentrasi rendaman serbuk biji mimba yang efektif untuk menghambat *Salmonella thyposa* maupun *Staphylococcus aureus* adalah 12,5% dengan diameter daerah hambatan (tidak termasuk diameter *paper disc*) sebesar 18,67 mm (kuat) pada *Salmonella thyposa* dan 19,67 mm (kuat) pada *Staphylococcus aureus*, dan 3). Kandungan senyawa kimia aktif dalam rendaman serbuk biji mimba berdasarkan uji KLT adalah saponin dan flavonoid.

UCAPAN TERIMAKASIH

Pada kesempatan ini tidak lupa penulis mengucapkan terima kasih kepada : 1). Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Departemen Pendidikan Nasional yang telah membiayai pelaksanaan penelitian ini, 2). Prof. Dr. Markhamah, MHum, selaku ketua lembaga penelitian UMS beserta staff lembaga penelitian UMS yang telah memfasilitasi pelaksanaan dan pelaporan hasil penelitian ini, 3). Bapak Dwi Adi S dari BALITTAS Malang, Bapak Kasto dari BPTO Tawang Mangu, dan Ibu Dian Widayastuti, SE yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Almas, K. 1999. The Antimicrobial Effects of extracts of *Azadirachta indica* (Neem) and *Salvadora persica* (Arak) Chewing Sticks. *Indian J Dent Res* 10 (1) : 23-6.
- Ambarwati, Y. 2005. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kloroform dan Ekstrak Metanol Patikan Kebo (*Euphorbia hirta* L) terhadap *Salmonella thyposa* [Skripsi]. Surakarta : Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Ardiansyah, 2005. Daun Beluntas Sebagai Bahan Antibakteri dan Antioksidan. <http://www.beritaiptek.com/zberita-beritaiptek-2005-05-31-Daun-Beluntas-Sebagai-Bahan-Antibakteri-dan-Antioksidan.shtml>. [24 April 2006].
- Atlas, R. M. 1996. Principles of Microbiology. Second Edition. Dubuque : Wm. C. Brown Publishers.
- Baswa, M., Rath, C.C., Dash, S.K., and Mishra, R.K. 2001. Antibacterial Activity of Karanj (*Pongamia pinata*) and Neem (*Azadirachta indica*) Seed Oil : A Preliminary Report. *Microbios* 105(412): 183-9.
- Budiyanto, M.A.K. 2004. Mikrobiologi Terapan. Malang : Universitas Muhammadiyah Malang Press.
- Das, B.K., Mukherjee, S.C., Sahu, B.B., and Murjani, G. 1999. Neem (*Azadirachta indica*) Extract as an Antibacterial Agent Against Fish pathogenic Bacteria. *Indian J Exp Biol* 37(11): 1097-100.
- Erindyah, R.W. dan Maryati. 2003. Uji Antibakteri Minyak Atsiri Pinus (*Pinus mercusii* Jung and De Vr) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Farmasi Indonesia Pharmacon* 4(1) : 20-24.
- Jamal, Y., Praptiwi., dan Agusta, A. 2000. Komponen Kimia dan Efek Antibakteri Minyak Atsiri Kulit Buah dan Daun Jeruk Kasturi (*Citrus microcarpa* Bunge). *Majalah Farmasi Indonesia* 11(2):77-85.
- Kardinan, A. 2000. Pestisida Nabati Ramuan dan Aplikasi. Jakarta : PT. Penebar Semangat.
- Kuswandi, M., Irvati, S., Rahayu, R.D.T., dan Setyaningsih, A. 2000. Daya Antibakteri Minyak Atsiri Adas Manis (*Foeniculum vulgare*) terhadap Bakteri yang Resisten Antibiotik. *Jurnal Farmasi Indonesia Pharmacon* 1 (2) : 5-11.
- Lestari, S. 2005. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Rimpang Temu Kunci (*Boesenbergia pandurata* (Roxb) Schlecht) terhadap *Staphylococcus hemolitik non pneumoniae* dan *Salmonella thypi* serta Uji Bioautografinya [Skripsi]. Surakarta : Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Nurwati, R. 2006. Pengaruh Serbuk Cacing Tanah (*Lumbricus rubellus*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Salmonella thypi* dengan Metode Sumuran [Skripsi]. Surakarta : Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Pelczar, M. and Chan. 1988. Dasar-Dasar Mikrobiologi 2. Alih Bahasa Hadiotomo, R.S., Imas, T., Tjitrosomo, S.S., dan Angka, S.L. Jakarta : Universitas Indonesia Press.

- SaiRam, M., Ilavazhagan, G., Sharma, S.K., Dhanraj, S.A., Suresh, B., Parida, M.M., Jana, A.M., Devendra, K., and Selvamurthy, W. 2000. Anti-Microbial Activity of a New Vaginal Contraceptive NIM-76 from Neem oil (*Azadirachta indica*). *J Ethnopharmacol* 71 (3) : 377-82.
- Simanjutak, P. 2003. Uji Antibakteri Ekstrak Metanol Kayu Cendana (*Santalum album* L.). *Majalah Farmasi Indonesia* 14(2): 326-332.
- Stahl, E. 1969. *Thin Layer Chromatography a Laboratory Handbook*. Second Edition. Springer International Student Edition. Tokyo, Japan : Toppan Company Limited.
- Stehulak, N. 2005. *Staphylococcus aureus*. <http://ohioline.osu.edu/hyg-fact/5000/5564.html>. [24 April 2006].
- Sukrasno dan Tim Lentera. 2003. *Mengenal Lebih Dekat Mimba Tanaman Obat Multifungsi*. Jakarta : Agromedia Pustaka.
- Sumarno. 1992. *Analisis Metabolit Sekunder dengan HPLC*. Yogyakarta : Pusat Antar Universitas-Bioteknologi Universitas Gadjah Mada.
- Tjitrosoepomo, G. 2000. *Taksonomi Tumbuhan (Spermatophyta)*. Yogyakarta : Universitas Gadjah Mada Press.
- Umamah, M., Wahyuono, S., dan Yuliani, S. 2003. Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Rimpang Dringo (*Acorus calamus* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 35218. *Majalah Obat Tradisional* 8 (25): 11-15.
- Vanka, A., Tandon, S., Rao, S.R., Udupa, N., and Ramkumar, P. 2001. The Effect of indigenous Neem *Azadirachta indica* (Correction of (*Adirachta indica*)) Mouth Wash on *Streptococcus mutans* and *Lactobacilli* Growth. *Indian J Dent Res*. 12 (3) : 133-44.
- Wagner. H. 1984. *Plant Drug Analysis a Thin Layer Chromatography Atlas*. Springer-Verlag.
- Winarsih. 2006. Pengaruh Ekstrak Cacing Tanah (*Lumbricus rubellus*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Salmonella thypi* dengan Metode Paper Disk [Skripsi]. Surakarta : Universitas Muhammadiyah Surakarta.