

Pertumbuhan Bakteri *Bacillus Cereus* dan *Salmonella Typhi* pada Ekstrak Mentimun (*Cucumis Sativus*)

Lully Hanni Endarini

Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Surabaya; lullyhanniendarini@gmail.com

Diah Titik Mutiarawati

Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Surabaya; dihtitikmutiarawati@gmail.com
(koresponden)

Alda Nugrahini

Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Surabaya; aldanugrahini@gmail.com

ABSTRACT

Enteropathy caused by ingestion of food contaminated with bacteria causes morbidity and mortality in many countries. Several bacteria, including Salmonella typhi and Bacillus cereus have been reported to cause food poisoning. Cucumis sativus is useful for humans as antibacterial, hepatoprotective, antioxidant, anthelmintic, antiulcer and anti-inflammatory. Antibacterial test of cucumber ethanol extract was carried out with agar disc-diffusion according to the Kirby Bauer method. The ready test bacterial suspension was then inoculated and put into an incubator at 37°C for 24 hours in an inverted position. After 24 hours, the antibacterial activity around the disc in the test dish was observed by looking at the clear zone around the disc. The results showed that the inhibition zone formed on Salmonella typhi bacteria with concentrations of 30%, 50% and 70% had an average of 11.4 mm, 15 mm and 18.5 mm. Meanwhile, Bacillus cereus bacteria have an average inhibition zone of 7 mm, 18.7 mm and 19.1 mm. The results of the one way ANOVA test obtained a sig value. $p < 0.05$ which proves the presence of antibacterial effect in inhibiting the growth of Salmonella typhi and Bacillus cereus.

Keywords: cucumber extract; *Salmonella typhi*; *Bacillus cereus*; antibacterial

ABSTRAK

Enteropati yang disebabkan oleh konsumsi makanan yang terkontaminasi bakteri menyebabkan morbiditas dan mortalitas di banyak negara. Beberapa bakteri, termasuk *Salmonella typhi* dan *Bacillus cereus* telah dilaporkan menyebabkan keracunan makanan. *Cucumis sativus* bermanfaat bagi manusia sebagai antibakteri, hepatoprotektif, antioksidan, anthelmintik, antiulkus dan antiinflamasi. Uji antibakteri ekstrak etanol mentimun dilakukan dengan *agar disc-diffusion* menurut metode Kirby Bauer. Suspensi bakteri uji yang telah siap kemudian diinokulasi dan dimasukkan ke dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam dengan posisi terbalik. Setelah 24 jam, aktivitas antibakteri disekitar cakram dalam cawan uji diamati dengan melihat adanya *clear zone* di sekitar cakram. Hasil penelitian menunjukkan zona hambat terbentuk pada bakteri *Salmonella typhi* dengan konsentrasi 30%, 50% dan 70% memiliki rerata 11,4 mm, 15 mm dan 18,5 mm. Sedangkan pada bakteri *Bacillus cereus* memiliki rerata zona hambat 7 mm, 18,7 mm dan 19,1 mm. Hasil uji *one way ANOVA* didapatkan nilai sig. $p < 0,05$ yang membuktikan terdapatnya efek antibakteri dalam menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi* dan *Bacillus cereus*.

Kata kunci: ekstrak mentimun; *Salmonella typhi*; *Bacillus cereus*; antibakteri

PENDAHULUAN

Antibakteri adalah senyawa yang digunakan untuk mengendalikan pertumbuhan bakteri yang bersifat merugikan⁽¹⁾. Pengendalian pertumbuhan mikroorganisme bertujuan untuk mencegah penyebaran penyakit dan infeksi, membasmi mikroorganisme pada inang yang terinfeksi, dan mencegah pembusukan serta kerusakan bahan oleh mikroorganisme Antimikroba meliputi golongan antibakteri, antimikotik dan antiviral⁽²⁾. Salah satunya tanaman yang cukup banyak dibudidayakan khususnya di Indonesia adalah mentimun (*Cucumis sativus*). Analisa fitokimia dari ekstrak buah tanaman mentimun (*Cucumis sativus*) mengandung senyawa aktif yang berperan dalam melawan mikroorganisme seperti alkaloid, glikosida, steroid, flavonoid, saponin, dan tannin⁽³⁾. Selain batang, daun dan bunga, buah mentimun juga memiliki senyawa aktif yang berperan sebagai antifungi dan antibakteri⁽⁴⁾. Secara umum tanaman mentimun (*Cucumis sativus*) memiliki nilai ekonomis terutama hasil dari buahnya⁽⁵⁾. Tetapi belum banyak diketahui dan di eksplorasi tentang penggunaan buah mentimun yang berasal dari Indonesia sebagai bahan antibakteri⁽⁶⁾. Karena spesies tanaman yang sama dapat menghasilkan berbagai senyawa metabolit sekunder yang berbeda akibat pengaruh lingkungan⁽⁷⁾.

Penyakit intestinal akibat konsumsi bahan makanan yang terkontaminasi bakteri penyebab terjadinya morbiditas dan mortalitas pada berbagai negara⁽⁸⁾. Beberapa spesies bakteri dilaporkan menjadi penyebab penyakit yang ditularkan melalui makanan (*food bone*) di antaranya *Salmonella spp.* (lebih dari 1600 tipe), atau *Bacillus cereus* yang merupakan bakteri patogen intestinal⁽⁹⁾. Bakteri *Salmonella typhi* merupakan jenis bakteri yang menyebabkan infeksi pada saluran gastrointestinal, meskipun tidak secara khusus berasosiasi dengan kejadian diare akut, tetapi dapat menyebabkan inflamasi, ulserasi dan nekrosis pada saluran usus⁽¹⁰⁾. Sedangkan menyebabkan infeksi secara langsung, tetapi bakteri *Bacillus cereus* tidak meracuni makanan dengan menghasilkan toksin, sehingga menyebabkan sindrom diare dan *emetic*⁽¹¹⁾. Pada sakit diare, toksin dihasilkan pada usus kecil (dosis infeksi 10^4 - 10^9 sel per gram makanan), sementara toksin *emetic* jumlah sel adalah 10^5 - 10^9

cells per gram⁽¹²⁾. Awalnya untuk membunuh dan menghambat pertumbuhan bakteri patogen digunakan berbagai jenis antibiotik, namun beberapa laporan menunjukkan bahwa terjadi peningkatan resistensi bakteri terhadap beberapa jenis antibiotik. Studi tanaman sebagai sumber senyawa aktif farmakologi meningkat sebagai bagian dari pencarian agen antibakteria baru⁽¹³⁾.

Dari hasil penelitian dengan menggunakan metode difusi cakram, telah terbukti bahwa ekstrak air dan kloroform mentimun pada konsentrasi 25mg/ml, 50mg/ml, dan 100mg/ml memiliki daya hambat terhadap beberapa bakteri Gram-positif dan negatif.⁽¹⁴⁾ dalam penelitiannya terkait dengan penggunaan ekstrak mentimun (*Cucumis sativus*) sebagai antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak dari daun dan batang *Curcumis sativus* terdapat aktivitas antibakteri dan antifungi. Sedangkan ekstrak buah mentimun (*Cucumis sativus*) juga memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri dan fungi seperti *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, *E.faecalis*, *Bacillus cereus* dan *Candida lunata*, *Candida albicans*⁽¹⁵⁾.

Tujuan penelitian ini adalah untuk yaitu mengetahui adanya efek pemberian ekstrak mentimun (*Cucumis sativus*) pada pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* dan *Bacillus cereus*

METODE

Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental yaitu mengetahui adanya efek pemberian ekstrak mentimun (pada pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* dan *Bacillus cereus*).

Penyiapan Buah Mentimun

Buah mentimun diperoleh dari perkebunan di daerah pasar Kab. Malang yang kemudian buah dicuci bersih dengan air mengalir dan buah dipotong dalam ukuran kecil. Kemudian dikeringkan di dalam oven lalu ditumbuk hingga menjadi serbuk. Serbuk mentimun dimasukkan ke dalam wadah meserasi, tambahkan metanol 96% hingga mentimun tersebut terendam, biarkan selama lima hari dalam bejana tertutup dan terlindungi dari cahaya sambil diaduk berulang kali. Setelah lima hari, sampel disaring dan ampasnya direndam lagi dengan cairan penyari yang baru. Hal ini dilakukan sebanyak tiga kali. Hasil penyarian dikumpul dan diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* untuk menghasilkan ekstrak buah mentimun. Hasil ekstrak ini yang akan digunakan sebagai bahan uji.

Persiapan Pengenceran Ekstrak dan Kertas Cakram

Konsentrasi ekstrak yang digunakan dalam pengujian ini adalah 30%, 50% dan 70% dan Aquades sebagai kontrol negatif, sedangkan kontrol positif menggunakan *Chloramphenicol* (30 µg). Pengenceran ekstrak dilakukan dengan penambahan aquades pada konsentrasi sesuai rumus $M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$. Kertas cakram yang digunakan adalah dari blank disk. Setelah *disk* disterilkan dengan autoklaf, selanjutnya *disk* dicelupkan dan direndam selama 15-20 menit ke dalam masing-masing larutan ekstrak sesuai dengan konsentrasi ekstrak yang diperlukan.

Pembuatan Suspensi Bakteri

Biakan murni bakteri *S. typhi* dan *B. cereus* yang diperoleh dari Departemen Mikrobiologi Universitas Indonesia, kemudian dilakukan peremajaan kembali (subkultur) pada media Muller- Hinton agar (MHA), diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37°C. Kemudian dibuat suspensi bakteri uji dari bakteri yang tumbuh menggunakan larutan NaCl 0,9% fisiologis sampai kekeruhan sesuai dengan standar Mc Farland 0,5 (Larutan BaCl₂ 1% sebanyak 0,05 ml dicampur dengan larutan H₂SO₄ 1% sebanyak 9,95 ml), yang diperkirakan mengandung lebih kurang 10⁸cfu/ml. Selanjutnya digunakan sebagai bakteri uji.

Uji Aktivitas Antibakteri

Uji antibakteri ekstrak etanol mentimun dilakukan dengan *agar disc-diffusion* menurut metode Kirby Bauer. Suspensi bakteri uji yang telah siap kemudian diinokulasikan dalam cawan MHA dengan menggunakan kapas swab steril. Cawan kemudian didiamkan selama 3 sampai 5 menit, dan kertas cakram pada berbagai konsentrasi ekstrak etanol mentimun, cakram chloramphenicol sebagai kontrol positif, dan aquades steril sebagai kontrol negatif, diletakkan diatas permukaan media MHA menggunakan pinset steril. Masing-masing kertas cakram dalam satu cawan perlakuan di ulang sebanyak 8 kali.

Selanjutnya cawan dimasukkan ke dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam dengan posisi terbalik. Setelah 24 jam, aktivitas antibakteri disekitar cakram dalam cawan uji diamati dengan melihat adanya zona bening (clear zone) di sekitar cakram, sedangkan yang tidak mempunyai daya antibakteri tidak akan menghasilkan clear zone. Diameter yang terbentuk diukur dengan jangka sorong.

Analisis Data

Data yang diperoleh kemudian disajikan dalam bentuk tabel, kemudian dilakukan pengolahan data dengan uji normalitas untuk mengetahui apakah data berdistribusi normal atau tidak. Data yang berdistribusi normal dan homogen akan dilanjutkan pada uji statisti *One Way Anova*.

HASIL

Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol buah mentimun (*C. sativus*) menggunakan metode metode *agar disc-diffusion* menurut metode *Kirby Bauer* secara *in vitro*, menunjukkan bahwa buah mentimun memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. typhi* dan *B. cereus*. Hal ini dapat dilihat dari terbentuknya zona bening pada sekitar kertas cakram. Hasil aktivitas antibakteri ekstrak etanol buah mentimun terhadap bakteri *S. typhi* dan *B. cereus* memiliki rerata diameter yang berbeda satu dengan yang lainnya. Hasil pengukuran luas zona hambat di sekitar cakram dapat dilihat pada tabel berikut ini.

Dari hasil penelitian diketahui bahwa diameter zona hambat pertumbuhan *Bacillus cereus* dan *Salmonella typhi* terhadap ekstrak etanol mentimun menunjukkan hasil yang berbeda pada tiap seri konsentrasi, peningkatan diameter zona hambat yang terbentuk berbanding lurus dengan peningkatan konsentrasi dari ekstrak buah tersebut. Zona hambat bakteri terbentuk pada ketiga konsentrasi tersebut, diameter zona hambat maksimal tersebut tidak lebih baik dibandingkan chloramphenicol, dan aquades tidak menunjukkan adanya daya hambat pertumbuhan bakteri.

Tabel 1. Hasil pengukuran zona hambat bakteri *Bacillus cereus*

No.	Diameter zona hambat (mm)	Konsentrasi ekstrak mentimun (<i>Cucumis sativus</i>)				
		30 %	50 %	70 %	Kontrol positif (Chloramphenicol)	Kontrol negatif (aquades)
1.	P1	5	15	21	29	-
2.	P2	6	22	19	28	-
3.	P3	9	20	18	31	-
4.	P4	8	19	21	29	-
5.	P5	6	17	20	30	-
6.	P6	5	21	19	29	-
7.	P7	8	16	24	31	-
8.	P8	9	20	21	28	-
9.	Rerata diameter	7	18,7	19,1	29,4	-

Tabel 2. Hasil pengukuran zona hambat bakteri *Salmonella typhi*

No.	Diameter Zona Hambat (mm)	Konsentrasi Ekstrak Mentimun (<i>Cucumis sativus</i>)				
		30 %	50 %	70 %	Kontrol positif (Chloramphenicol)	Kontrol negatif (aquades)
1.	P1	11	15	19	31	-
2.	P2	12	15	18	30	-
3.	P3	10	16	18	33	-
4.	P4	12	15	19	25	-
5.	P5	13	17	17	23	-
6.	P6	11	14	19	31	-
7.	P7	10	15	18	30	-
8.	P8	12	13	20	26	-
9.	Rerata diameter	11,4	15	18,5	28,6	-

PEMBAHASAN

Luas diameter zona hambat menjadi parameter bagi kemampuan aktivitas bakteri suatu zat. Semakin lebar diameter zona hambat yang terbentuk maka semakin kuatnya senyawa bioaktif itu menghambat pertumbuhan bakteri. Ekstrak yang menunjukkan zona hambat yang kecil bukan berarti sampel tersebut kurang aktif, tetapi kemungkinan tidak terdeteksi pada konsentrasi sampel uji yang digunakan⁽¹⁶⁾. Berdasarkan uji fitokimia yang dilakukan dalam penelitian ini, ekstrak mentimun mempunyai kandungan alkaloid, saponin dan tannin⁽¹⁷⁾, dimana kandungan tersebut mempunyai aktivitas sebagai antibakteri. Hasil penelitian efektivitas antibakteri ekstrak mentimun (*Cucumis sativus*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* dan *Salmonella typhi* dengan konsentrasi 30%, 50% dan 70% setelah dianalisis dengan uji *One Way Analysis of Variance (ANOVA)* dan *Post-Hoc Least Significant Difference (LSD)* menunjukkan adanya aktivitas penghambat pertumbuhan bakteri patogen. Berdasarkan hasil uji ANOVA didapatkan nilai signifikansi pada bakteri *Bacillus cereus* dan *Salmonella typhi* adalah 0,000 dengan taraf kepercayaan α (0,05) dari hasil tersebut dapat diketahui bahwa nilai $\text{sig} < \alpha$ (0,05), maka dengan demikian dapat diketahui bahwa adanya perbedaan yang signifikan, artinya ekstrak mentimun memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Bacillus cereus* dan *Salmonella typhi*. Setelah mendapat hasil tersebut, kemudian dilanjutkan dengan uji *Post-Hoc Least Significant Difference (LSD)*. Berdasarkan hasil uji *Post-Hoc* perlakuan ekstrak mentimun terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* pada konsentrasi 30% lebih rendah dari konsentrasi 50% dan 70%, pada konsentrasi 30% zona hambat masuk ke dalam kategori lemah sedangkan pada konsentrasi 50 dan 70% tergolong dalam kategori sedang. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak mentimun pada konsentrasi rendah belum mampu mengganggu metabolisme bakteri uji secara maksimal sehingga zona hambat yang terbentuk kecil.

Pada perlakuan ekstrak mentimun terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* pada konsentrasi 30%, 50% dan 70% diketahui memiliki hasil zona hambat yang tidak berbeda jauh. Hal tersebut diketahui bahwa terdapat beberapa faktor yang menyebabkan perbedaan diameter zona hambat antara lain kecepatan difusi, sifat dan ketebalan media agar, jumlah mikroorganisme yang terinkubasi, serta kondisi pada saat inkubasi serta suhu

lingkungan dan tingkat kontaminasi yang tinggi. Diameter zona hambat tergantung pada kecepatan difusi senyawa antibakteri pada media agar⁽¹⁸⁾. Kecepatan difusi dapat dipengaruhi oleh perbandingan jumlah pelarut dan zat terlarut⁽¹⁹⁾. Dalam keadaan tertentu, antibakteri dapat bekerja secara optimal pada konsentrasi yang rendah⁽²⁰⁾. Pada konsentrasi yang rendah, jumlah pelarut lebih banyak dibandingkan dengan zat terlarut. Aquades sebagai pelarut dapat mempercepat proses difusi pada media agar. Apabila konsentrasi tinggi, maka kerapatan molekul antar senyawa antibakteri tinggi sehingga lebih lama berdifusi pada media agar dibandingkan dengan konsentrasi yang rendah⁽²¹⁾. Oleh karena itu, antar perlakuan konsentrasi ekstrak 30%, 50% dan 70% hasilnya tidak berbeda nyata. Harapannya dengan diketahui aktivitas antibakteri dari buah mentimun dapat dimanfaatkan sebagai bahan obat oleh masyarakat dalam mencegah berbagai penyakit infeksi yang disebabkan oleh mikroba. Selain itu perlu dikembangkan penelitian untuk menemukan aktivitas antibakteri dari berbagai jenis kultivar mentimun dan dosis yang tepat untuk menyamai kemampuan antibiotik yang sudah ada.

KESIMPULAN

Ekstrak mentimun memiliki efek antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* dan *Salmonella typhi*. Untuk bakteri *Bacillus cereus* zona hambat yang terbentuk lebih kecil daripada *Salmonella typhi*, hal tersebut bisa terjadi karena beberapa faktor eksternal seperti takaran inoculum bakteri saat *streak* yang terlalu banyak dan tingkat kontaminasi yang tinggi saat proses inkubasi. Peneliti selanjutnya diharapkan dapat mengatasi masalah tersebut dengan melakukan pemilihan jarum dengan variasi ukuran tertentu yang tepat sebelum memulai penelitian, yaitu *inoculating needle* untuk inokulasi secara tusukan pada agar tegak dan *inoculating loop* pada *streak* di permukaan media agar sehingga nantinya akan didapatkan *streak* yang seragam, melakukan penelitian dengan teknis aseptis dan memastikan area kerja bebas dari kontaminan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Gonelimali FD, Lin J, Miao W, Xuan J, Charles F, Chen M, et al. Antimicrobial properties and mechanism of action of some plant extracts against food pathogens and spoilage microorganisms. *Front Microbiol.* 2018;9:1–9.
2. Zachary JF. CHAPTER 4 Mechanisms of Microbial Infections 1. 2020;(January).
3. Sood A, Kaur P, Gupta R. Phytochemical Screening And Antimicrobial Assay Of Various Seeds Extract Of Cucurbitaceae Family. *Int J Appl Biol Pharm Technol.* 2012;3(3):401–9.
4. Sahu T, Sahu J. Cucumis Sativus (Cucumber): a Review on Its Pharmacological Activity. *J Appl Pharm Res [Internet].* 2015;3(1):4–9. Available from: www.japronline.com
5. Shrestha SP, Group K, Dahal J, Pandey U. EVALUATION OF CUCUMBER (Cucumis sativus L .) VARIETIES FOR QUALITY. 2020;(October).
6. Insanu M, Rizaldy D, Silviani V, Fidrianny I. Chemical compounds and pharmacological activities of cucumis genus. *Biointerface Res Appl Chem.* 2022;12(1):1324–34.
7. Li Y, Kong D, Fu Y, Sussman MR, Wu H. The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants. *Plant Physiol Biochem.* 2020;148:80–9.
8. Bintsis T. Foodborne pathogens. *AIMS Microbiol.* 2017;3(3):529–63.
9. Iwamoto M, Ayers T, Mahon BE, Swerdlow DL. Epidemiology of seafood-associated infections in the United States. *Clin Microbiol Rev.* 2010;23(2):399–411.
10. CHAPTER 4 Infectious Disorders of the GI Tract. 2020;(January).
11. Tewari A, Abdullah S. Bacillus cereus food poisoning: international and Indian perspective. *J Food Sci Technol.* 2015;52(5):2500–11.
12. Health Protection Surveillance Centre (HPSC). Infectious Intestinal Disease: Public Health & Clinical Guidance. 2012;(July):57. Available from: www.hpsc.ie
13. Davies J. Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiologia.* 1996;12(1):9–16.
14. Gopalakrishnan SB, Kalaiarasi T. Screening of Various Extracts of the Fruits of Cucumis Sativus Linn. for Antimicrobial Activity. *Int J Res Dev Pharm Life Sci.* 2014;3(5):1200–5.
15. Muruganatham N, Solomon S, Senthamilselvi MM. Antimicrobial activity of Cucumis Sativas (Cucumber) flowers. *Int J Pharm Sci Rev Res.* 2016;36(1):97–100.
16. Balouiri M, Sadiki M, Ibsouda SK. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *J Pharm Anal [Internet].* 2016;6(2):71–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>
17. Tuama AA, Mohammed AA. Phytochemical screening and in vitro antibacterial and anticancer activities of the aqueous extract of Cucumis sativus. *Saudi J Biol Sci.* 2019;26(3):600–4.
18. Fernanda SA, Amru BA, Rahmani HA, Gozan M, Irsyad NS, Bahar M, et al. Antibacterial potential of Nicotiana tabacum L. var virginia pyrolysis extract against Staphylococcus aureus, Enterococcus faecalis, Escherichia coli, and Pseudomonas aeruginosa. *IOP Conf Ser Earth Environ Sci.* 2021;755(1).
19. Byrn SR, Zografi G, Chen XS. Solubility and Dissolution. *Solid State Prop Pharm Mater.* 2017;249–64.
20. Leekha S, Terrell CL, Edson RS. General principles of antimicrobial therapy. *Mayo Clin Proc.* 2011;86(2):156–67.
21. Eloff JN. Avoiding pitfalls in determining antimicrobial activity of plant extracts and publishing the results. *BMC Complement Altern Med.* 2019;19(1):1–8.