

POTENSI ANTIMIKROBIA ALAMI NANOEMULSI EKTRAK BINAHONG TERHADAP *Salmonella typhi*

Faizal Rivaldy Wijanarko¹, Nalendra Gigih Wibawanto Putra¹, Melinda Erdya Krismaputri², Listya Purnamasari², Roni Yulianto², Himmatul Khasanah², Desy Cahya Widianingrum^{2*}

¹ Mahasiswa Program Studi Peternakan Fakultas Pertanian, Universitas Jember

² Program Studi Peternakan Fakultas Pertanian, Universitas Jember

*Korespondensi email: dsycahya312@gmail.com

Abstrak. Potensi binahong (*Anredera cordifolia (ten) steenis*) sebagai antimikrobia alami tengah dikembangkan dewasa ini. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui daya hambat ekstrak binahong terhadap *Salmonella typhi* dengan formula penyusun nanoemulsi yang berbeda. Larutan nano diformulasikan dengan konsentrasi Tween 80 dan sorbitol yang berbeda (P1: 24 dan 36 % b/b, P2: 25 dan 35% b/b, P3: 26 dan 34% b/b). Daya hambat nanoemulsi ekstrak binahong terhadap *Salmonella typhi* diuji dengan metode difusi sumuran. Seluruh data yang didapatkan dilaporkan secara deskriptif. Berdasarkan hasil penelitian diketahui nanoemulsi ekstrak binahong memiliki efek daya hambat terhadap *Salmonella typhi* yang kuat pada formula P1 (8 mm) dan sangat kuat pada formula P3 (10 mm), serta daya hambat yang lemah formula P2 (0.8 mm). Kesimpulan dari penelitian ini adalah daya hambat nanoemulsi ekstrak binahong terhadap *Salmonella typhi* sangat dipengaruhi oleh formula larutan campurannya. Pembuatan nanoemulsi ekstrak daun binahong dengan formula perbandingan Tween 80 dan sorbitol 26 dan 34% b/b potensial dikembangkan sebagai alternatif antibiotik.

Kata kunci: nano teknologi, ekstrak binahong, zona hambat, alternatif antibiotik

Abstract. The potential of binahong (*Anredera cordifolia (ten) steenis*) as a natural antimicrobial is being developed recently. This study aimed to determine the inhibition power of binahong extract against *Salmonella typhi* with different nanoemulsion formulas. The nano solutions were formulated with concentrations of Tween 80 and sorbitol (P1: 24 and 36% w/w, P2: 25 and 35% w/w, P3: 26 and 34% w/w). The inhibition of binahong extract nanoemulsion against *Salmonella typhi* was tested by the well diffusion method. All data obtained were reported descriptively. Based on the research results, it was known that binahong extract nanoemulsion has a strong inhibitory effect on *Salmonella typhi* on the P1 formula (8 mm), very strong in the P3 formula (10 mm), and the low inhibition power of the P2 formula (0.8 mm). The research could be concluded that the inhibition of binahong extract nanoemulsion against *Salmonella typhi* was strongly influenced by the mixed solution formula. The preparation of binahong extract nanoemulsion with a formula ratio of Tween 80 and sorbitol 26 and 34% w/w has the potential to be developed as an alternative to antibiotics.

Keywords: nano technology, binahong extract, inhibition zone, antibiotic alternative

PENDAHULUAN

Salmonella typhi merupakan salah satu penyebab diare (Li et al., 2021). Bakteri ini selain menginfeksi dan menyebabkan ternak sakit, juga dapat mengkontaminasi produk ternak sehingga membahayakan bagi konsumen (Nair et al., 2019). Munculnya galur resisten pada spesies ini terhadap berbagai antibiotik memberikan informasi bahwa perlunya evaluasi langkah penanganan infeksi (Baltazar et al., 2015; Arshad et al., 2021^a).

Tanaman Binahong (*Anredera cordifolia (ten) steenis*) merupakan tanaman herbal yang memiliki kandungan antioksidan dan antimikrobia alami yang dapat dijadikan sebagai alternatif antibiotik

(Widodo et al., 2020). Bagian simplisia daun binahong sering dijadikan obat karena memiliki kandungan senyawa alkaloid, polifenol, saponin, flavanoid, dan minyak atsiri (Fitriyah et al., 2013; Marwoko, 2013). Disisi lain, tanaman ini juga memberikan efek peningkatan daya tahan tubuh (Baskoro dan Purwoko, 2012).

Senyawa antibakteri berbahan alami dilaporkan mampu menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi* (Evendi, 2017) termasuk daun binahong (Widodo et al., 2020). Kemampuan aktivitas antibakteri dapat ditingkatkan dengan teknologi nano (Kumar et al., 2019). Nanoemulsi berisi campuran minyak, surfaktan, kosurfaktan, dan zat atif dengan karakteristik yang erat dengan stabilitas fisik dan kejernihan yang memiliki ukuran 5-200 nm (Lina et al., 2017). Pembuatan nanoemulsi bertujuan untuk memudahkan zat aktif yang larut dalam formula yang dibuat serta dapat langsung menuju daerah yang spesifik (Arshad et al., 2021^b). Formula penyusun nanoemulsi memberikan pengaruh yang sangat besar terhadap daya hambat yang dihasilkan (McClements et al., 2021).

Pada penelitian ini kami menganalisa daya hambat dari nanoemulsi ekstrak binahong dengan formula yang berbeda terhadap bakteri *Salmonella typhi*. Hasil penelitian ini selanjutnya dapat dikembangkan sebagai alternatif penggunaan antibiotik dalam penanganan penyakit infeksi akibat *Salmonella typhi*.

METODE PENELITIAN

Formula nanoemulsi ketiga perlakuan disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Formula nanoemulsi ekstrak binahong

Bahan	Perlakuan		
	P1 (% b/b)	P2 (% b/b)	P3 (% b/b)
Daun binahong	5	10	15
Tween 80	24	25	26
Sorbitol	36	35	34
Metil paraben	0,1	0,1	0,1
Propil paraben	0,02	0,02	0,02
Aquadestilata	100	100	100

Pembuatan Ekstrak Binahong

Sebanyak 250 gram tepung daun binahong dimaserasi dengan pelarut etanol 96% dengan konsentrasi 1:7.5 pada tabung maserator lalu didiamkan selama 3 hari dalam suhu ruang sambil diaduk 2 kali sehari pagi dan sore. Larutan kemudian disaring menggunakan alat saring dengan tujuan memisahkan ampas dan filtratnya. Larutan hasil penyaringan di evaporasi menggunakan *vacuum rotary evaporator* (Laborota 4000, Heidolp, North America) selama 3 jam dengan suhu 50°C agar etanol pada larutan menguap sehingga didapatkan ekstrak kental. Larutan di oven dengan suhu 40°C selama 1 hari dan disimpan dalam suhu ruang hingga pekat (Misna dan Diana, 2016). Ekstrak yang didapat ditimbang sesuai jumlah sampel yang dibutuhkan untuk dilanjutkan ke proses pembuatan nanoemulsi.

Preparasi Nanoemulsi

Preparasi suspensi dilakukan dengan metode Hakim et al. (2017) dengan modifikasi. Modifikasi dalam studi ini yaitu pengadukan dilakukan dalam suhu 40°C dan partikel larutan disonikasi setelah terbentuk larutan jernih. Ekstrak binahong dicampurkan dengan sorbitol (Wintersun chemical, China) (larutan ini selanjutnya disebut sebagai fase minyak). Metil paraben (PT Clariant, Indonesia) dan propil paraben (PT Clariant, Indonesia) dilarutkan dalam aquadestilata yang telah dipanaskan, kemudian ditambahkan tween 80 (Merck, Indonesia) (larutan ini selanjutnya disebut sebagai fase air). Aduk larutan fase air dengan magnetic stirrer (merk, negara) pada kecepatan 3000-4000 rpm. Tambahkan fase minyak sedikit-demi sedikit ke dalam fase air dan aduk dengan magnetic stirrer selama 6 jam dengan suhu 40°C hingga terbentuk larutan yang jernih dan transparan.

Uji Antimikrobia dengan metode difusi sumuran

Uji daya hambat nanoemulsi ekstrak binahong dengan bakteri *Salmonella typhi* (koleksi FMIPA Universitas Jember) dilakukan dengan metode difusi sumuran (Retnaningsih et al., 2019). Sebanyak 50 µL suspensi bakteri diinokulasikan pada media Mueller-Hinton agar (MHA) (Oxoid, Germany) dan diratakan dengan hockey kemudian diamkan hingga kering. Sumuran dibuat dengan menggunakan bagian ujung pipet steril kemudian masukkan sebanyak 40 µL nanoemulsi ekstrak binahong P1, P2, P3 pada masing-masing sumur. Inkubasi dilakukan selama 24 jam pada suhu 37°C. Pengamatan daya hambat diketahui berdasar zona bening yang terbentuk disekitar semuran. Aktivitas antimikrobia didasarkan pada standar Pan et al., (2009) yaitu diameter zona hambat lebih dari 6 mm tergolong kuat, 3-6 mm tergolong sedang, kurang dari 3 mm tergolong lemah dan 0 mm berarti tidak terdapat aktivitas antimikrobia.

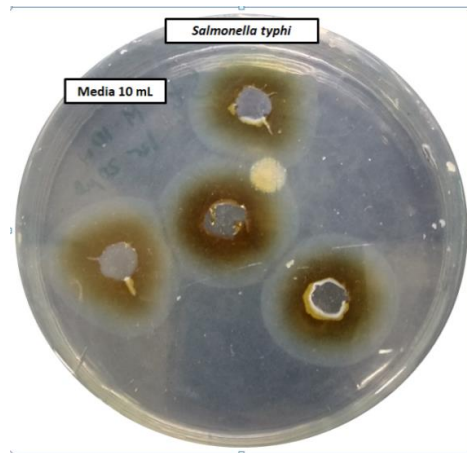
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa formulasi P3 nanoemulsi ekstrak binahong memiliki kemampuan zona hambat terhadap *Salmonella typhi* terbaik (10 mm) dengan kategori sangat kuat. Zona hambat kuat dihasilkan pada formula perlakuan P1 (8 mm), sedangkan pada formula P2 hanya dihasilkan zona hambat (0.8 mm). Daya hambat nanoemulsi ekstrak binahong terhadap *Salmonella thypi* disajikan pada Tabel 2 dan Gambar 1.

Tabel 2. Daya hambat nanoemulsi ekstrak binahong terhadap *Salmonella thypi*

Perlakuan	Diameter total	Diameter sumur	Zona Hambat	Analisa
	Mm			
Binahong P ₁	14,7	6,7	8	Kuat
Binahong P ₂	7,8	7	0,8	Lemah
Binahong P ₃	17,2	7,2	10	Sangat kuat



Gambar 1. Zona hambat nanoemulsi ekstrak binahong perlakuan P3 dengan metode difusi sumuran

Pembahasan

Hasil uji daya hambat ekstrak binahong dengan formula P3 memiliki kekuatan yang sangat kuat (10 mm) terhadap *Salmonella typhi*. Hasil penelitian ini sebanding dengan hasil daya hambat ekstrak binahong yang dilakukan oleh Widodo *et al.* (2020) terhadap bakteri *Salmonella typhi*. Pada penelitian tersebut, daya hambat sangat kuat dihasilkan pada pengujian ekstrak binahong mulai dari 1% (10.79 mm) dan semakin kuat dengan level yang meningkat. Kekuatan senyawa bioaktif yang terkandung dalam ekstrak binahong dapat diketahui melalui lebar diameter zona hambat, semakin lebar diameter zona hambat maka semakin kuat senyawa bioaktif menghambat pertumbuhan bakteri (Xiong, *et al.* 2013).

Zat aktif dalam binahong sebagai antibakteri adalah senyawa flavanoid, alkaloid, fenol, dan saponin (Ulfah 2006; Kurniawan dan Aryana 2015). Flavonoid bekerja dengan efek penghambatan berspektrum luas dan gangguan metabolisme target berupa denaturasi protein didalam sel bakteri (Dewanti dan Wahyudi, 2011). Senyawa alkaloid merusak komponen peptidoglikan sehingga dapat menyebabkan kematian sel (Wulandari *et al.*, 2009). Mekanisme kerja lain diantaranya penghambatan sintesis dinding sel, asam nukleat, sintesis protein, dan gangguan metabolisme sel bakteri (Tenover 2006).

Formula pada ketiga perlakuan dalam penelitian ini terdiri dari komposisi formula ekstrak binahong, tween 80, dan sorbitol yang berbeda. Daya hambat yang dihasilkan pada ketiga perlakuan juga berbeda. Perbedaan komposisi bahan disetiap formulasi kemungkinan memberikan optimalitas daya hambat yang berbeda terhadap agen infeksi (Noveriza *et al.*, 2017). Komposisi fase minyak berperan penting terhadap proses emulsifikasi dan sifat fisika kimia produk nano (Bouchemal *et al.*, 2004). Stabilitas terbaik dihasilkan dari nano dengan penggunaan Tween 80 (Koroleva *et al.*, 2018; Rao and McClements, 2012). Kemampuan daya hambat dengan teknologi nano meningkat berkali-kali lipat dibanding dengan ekstrak bahan yang langsung diuji tantang dengan agen infeksi (Mutiasari, 2018).

KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah pembuatan nanoemulsi ekstrak binahong dan efek daya hambatnya terhadap *Salmonella typhi* sangat dipengaruhi oleh formula larutan campurannya. Pembuatan nanoemulsi ekstrak daun binahong dengan formula perbandingan Tween 80 dan sorbitol 26 dan 34% b/b memberikan hasil daya hambat sangat kuat dan potensial dikembangkan sebagai alternatif antibiotik.

SARAN

Saran dalam penelitian ini adalah diperlukan tambahan data ukuran partikel nanoemulsi ekstrak binahong dengan menggunakan *Transmission Electron Microscopy* (TEM).

DAFTAR PUSTAKA

- Arshad, R., K. Pal, F. Sabir, A. Rahdar, M. Bilal, G. Shahnaz and G.Z. Kyzas. 2021. A review of The Nanomaterials use for the Diagnosis and Therapy of Salmonella Typhi. *Journal of Molecular Structure*. 129928.
- Arshad, R., T.A. Tabish, A.A. Naseem, M.R. ul Hassan, I. Hussain, S.S. Hussain and G. Shahnaz. 2021. Development of poly-L-lysine Multi-functionalized muco-penetrating self-emulsifying Drug Delivery System (SEDDS) for Improved Solubilization and Targeted Delivery of Ciprofloxacin Against intracellular Salmonella typhi. *Journal of Molecular Liquids*. 115972.
- Baltazar, M., A. Ngandjio, K.E. Holt, E. Lepillet, M.P. De La Gandara, J.M. Collard, R. Bercion, A. Nzouankeu, S. Le Hello, G. Dougan and M.C. Fonkoua. 2015. Multidrug-Resistant Salmonella Enterica Serotype typhi, gulf of Guinea region, Africa. *Emerging infectious diseases*, 21 (4): 655.
- Baskoro, D., dan B. S. Purwoko. 2012. Pengaruh Bahan Perbanyak Tanaman dan Jenis Pupuk Organik Terhadap Pertumbuhan Tanaman Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). *Jurnal Hortikultura Indonesia*, 2 (1): 6.
- Bouchemal, K., S. Briçon, E. Perrier and H. Fessi. 2004. Nano-emulsion formulation using spontaneous emulsification: solvent, oil and surfactant optimisation. *International journal of pharmaceutics*, 280 (2): 241-251.
- Dewanti, S., and M. Wahyudi. 2011. Antibacteri Activity of Bay Leaf infuse (*Folia Syzygium Polyanthum* wight) to *Escherichia Coli* In-Vitro. *Jurnal Medika Planta*, 1(4), 245970.
- Evendi, A. 2017. Uji Fitokimia dan Anti Bakteri Ekstrak Daun Salam (*syzygium polyanthum*) Terhadap Bakteri *Salmonella Typhi* dan *Escherichia Coli* Secara In Vitro. *Mahakam Medical Laboratory Technology Journal*, II (1): 1–9.
- Fitriyah, N., M.K. Purwa, M. A. Alfiyanto, N. Wahuningsih dan J. Kismanto. 2013. Obat Herbal Antibakteri Ala Tanaman Binahong. *Jurnal KesMaDaSka*, 116–122.
- Hakim, N.A., A. Arianto dan H. Bangun. 2017. Formulasi dan Evaluasi Nanoemulsi dari Extra Virgin Olive Oil (Minyak Zaitun Ekstra Murni) sebagai Anti-Aging. *TM Conference Series 2*: 397-403.
- Koroleva, M., T. Nagovitsina and E. Yurtov. 2018. Nanoemulsions Stabilized by Non-ionic Surfactants: Stability and Degradation mechanisms. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 20 (15): 10369-10377
- Kumar, M., R. S. Bishnoi. A.K. Shukla and C.P Jain. 2019. Techniques for Formulation of Nanoemulsion Drug Delivery System: a review. *Preventive nutrition and food science*, 24 (3): 225.
- Kurniawan, B., and W.F. Aryana. 2015. Binahong (*Cassia alata* l) as Inhibitor of *Escherichia coli* Growth. *J Majority*. 4: 100-104.

- Li, C., Z. Zhang, X. Xu, S. He, X. Zhao, Y. Cui, X. Zhou, C. Shi, Y. Liu, M. Zhou and X. Shi. 2021. Molecular Characterization of Cephalosporin-Resistant Salmonella Enteritidis ST11 Isolates Carrying bla CTX-M from Children with Diarrhea. *Foodborne Pathogens and Disease*
- Lina, N. W. M., T. Maharani, M. R. Sutharini, N.P.A.D. Wijayanti dan K.W. Astuti. 2017. Karakteristik Nanoemulsi Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.). *Jurnal Farmasi Udayana*, 6.
- Marwoko, M. T. B. 2013. Isolasi, Identifikasi dan Uji Aktifitas Senyawa Alkaloid Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis). *Chem Info Journal*, 1(1), 196–201.
- McClements, D.J., A.K. Das, P. Dhar, P.K. Nanda and N. Chatterjee. 2021. Nanoemulsion-based Technologies for Delivering Natural Plant-based Antimicrobials in Foods. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5: 35.
- Misna dan K. Diana. 2016. Aktivitas Bakteri Ekstrak Kulit Bawang Merah (*Allium cepa* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Antibacterial Activity Extract Of Garlic (*Allium cepa* L.) *Skin Against Staphylococcus aureus*. 2(2).
- Mutiasari, A.S. 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Biji Ketumbar (*Coriandrum Sativum* L.) dan Nanoemulsinya Terhadap *Staphylococcus Epidermidis*.
- Nair, D.V., and A. K. Johny. 2019. Salmonella in Poultry Meat Production. *In Food Safety in Poultry Meat Production* (pp. 1-24). Springer, Cham.
- Noveriza, R., M. Mariana, S. Yuliani dan B.P Panen. 2017. Keefektifan Formula Nanoemulsi Minyak Serai Wangi Terhadap Potyvirus Penyebab Penyakit Mosaik pada Tanaman Nilam.
- Pan, X., F. Chen, T. Wu, H. Tang and Z. Zhao. 2009. The acid, bile tolerance and antimicrobial property of *Lactobacillus acidophilus* NIT. *J. Food Control*. 20: 598-602.
- Rao, J. and D. J. McClements. 2012. Lemon Oil Solubilization in Mixed Surfactant Solutions: Rationalizing Microemulsion & Nanoemulsion Formation. *Food Hydrocolloids*, 26 (1): 268-276.
- Retnaningsih, A., A. Primadimanti and I. Marisa. 2019. Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Biji Pepaya terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae* dengan Metode Difusi Sumuran. *Jurnal Analis Farmasi*, 4 (2): 122-129.
- Tenover, F. C. 2006. Mechanisms of antimicrobial Resistance in Bacteria. *Am J Medic*, 119: S3-S10.
- Ulfah, M. 2006. Potensi Tumbuhan Obat Sebagai Fitobiotik Multi Fungsi untuk Meningkatkan Penampilan dan Kesehatan Satwa di Penangkaran. *Media Konservasi*, 11: 109-114.
- Wulandari, R., P. I. Utami dan D. Hartanti. 2009. *Urena lobata*. Penapisan Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Herba Pulutan (*Urena Lobata* Linn.), 06 (1): 1–9.
- Widodo, N., M. E. Krismaputri, D. C. Widianingrum. 2020. Aktivitas Anti-Bakteri Tepung Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap *Echerichia coli*, *Salmonella* sp. dan *Lactobacillus* sp. Sebagai Fitobiotik. Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner.
- Xiong, J., S. Li, W. Wang, Y. Hong, K. Tang and Q. Luo. 2013. Screening and Identification of the Antibacterial Bioactive Compounds from *Lonicera Japonica* Thunb leaves. *Food chemistry*, 138 (1): 327-333.