Activity of *Bixa orellana* L. Root Extract on Clinical Isolates of Resistant *Escherichia coli*

Tina Rostinawati*, Nisa A. Amalia, Imam A. Wicaksono

Department of Biological Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Universitas Padjadjaran - Indonesia

Submitted 04 August 2021; Accepted 13 August 2021; Published 31 August 2021

*Corresponding author: t.rostinawati@unpad.ac.id

Abstract

Antibiotic resistance has become a major clinical problem to the quality of life in patients with urinary tract infection (UTI) caused by *Escherichia coli*. It is necessary to test the active substances derived from natural materials against these resistant bacteria. Root extract of *Bixa orellana* L. was known to have activity against sensitive *E. coli*. So, this research was to investigate activity of *Bixa orellana* L. root on clinical isolates of resistant *E. coli*. The method used was the agar diffusion with paper discs for antibacterial activity test and solid dilution method for determination of MIC and MBC. Result from this research showed antibacterial activity at concentrations 50%, 40%, 30%, 20%, dan 10% (w/v). MIC value for *E. coli* isolate from patient 1 was 1450 µg/mL and for *E. coli* isolate from patient 2 was 2970 µg/mL. MBC value for *E. coli* isolate from patient 1 was 1480 µg/mL, and for *E. coli* isolate from patient 2 was 3000 µg/mL. The equivalence value of gentamicin antibacterial activity against root extract of *Bixa orellana* L. for resistant *E. coli* of patient 1 and patient 2 were 1 : 1,341x10³ and 1 : 1,254x10³, respectively.

Keywords: Agar diffusion, Antibiotic resistance, *Escherichia coli*, extract of *Bixa orellana* L., paper disc, and solid dilution.

Aktivitas Ekstrak Akar *Bixa orellana* L. terhadap Isolat Klinis *Escherichia coli* Resisten

Abstrak

Resistensi antibiotik telah menjadi permasalahan klinis yang utama terhadap kualitas hidup pasien infeksi saluran kemih (ISK) yang disebabkan oleh bakteri *Escherichia coli*. Perlu dilakukan pengujian zat aktif yang berasal dari bahan alam terhadap bakteri resisten tersebut. Ekstrak akar *Bixa orellana* L. diketahui memiliki aktivitas terhadap *E. coli* yang sensitif. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas akar *Bixa orellana* L. terhadap isolat klinis *E. coli* resisten. Metode yang digunakan adalah difusi agar dengan kertas cakram untuk uji aktivitas antibakteri dan metode pengenceran padat untuk penentuan KHM dan KBM. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak akar kesumba keling (*Bixa orellana* L.) memiliki aktivitas antibakteri pada konsentrasi 50%, 40%, 30%, 20%, dan 10% dengan nilai KHM 1450 µg/mL untuk isolat pasien 1, dan 2970 µg/mL untuk isolat pasien 2. Nilai KBM 1480 µg/mL untuk isolat pasien 1, dan 3000 µg/mL untuk isolat pasien 2. Nilai kesetaraan aktivitas antibakteri gentamisin terhadap ekstrak etanol *Bixa orellana* L. keling untuk *E. coli* resisten isolat klinis pasien 1 dan isolat klinis pasien 2 masing-masing sebesar 1 : 1,341x10³ dan 1 : 1,254x10³.

Kata Kunci: Cakram kertas, difusi agar, dilusi padat, *Escherichia coli*, ekstrak *Bixa orellana* L., resistensi antibiotik

1. Pendahuluan

Infeksi Saluran Kemih (ISK) merupakan salah satu infeksi mikroba yang umum dilaporkan di berbagai layanan kesehatan. Infeksi saluran kemih secara signifikan sering terjadi terutama pada wanita daripada pria.¹ Populasi spesifik seperti ibu hamil, lanjut usia, pasien diabetes, pasien *Human Immunodeficiency Virus* (HIV), dan penggunaan kateter juga memiliki resiko terkena ISK.^{2,3} Sekitar 50-80 % *Escherichia coli* menjadi penyebab kasus penyakit ISK.⁴ Umumnya digunakan antibiotik empiris yang diresepkan kepada pasien ISK di klinik rawat jalan. Namun, karena adanya jumlah patogen yang meningkat, dan perubahan pola resistensi antimikroba menyebabkan perlu adanya evaluasi serta saran pengobatan yang lebih baik untuk pasien ISK.

Prevalensi Multidrug-resistant (MDR) *E. coli* mengalami peningkatan di dunia. Telah diketahui bahwa *E. coli* menjadi multiresisten dengan cara memproduksi enzim β -laktamase. Kasus multiresistensi ini mencapai 60-79% di wilayah Asia.⁵ Di Indonesia, prevalensi kejadian ISK cukup tinggi yaitu 180.000 kasus per tahun.⁶ Selain itu, berdasarkan pada penelitian sebelumnya telah dilakukan identifikasi bakteri secara genetik dengan PCR 16S rRNA dan uji resistensi antibiotik terhadap isolat klinis *E. coli* resisten dari dua pasien ISK. Dari dua isolat tersebut, isolat dari pasien pertama resisten terhadap antibiotik ampisilin, ampisilin-sulbaktam, sefazolin, sefalotin, dan asam nalidiksat. Isolat dari pasien kedua resisten terhadap antibiotik ampisilin, ampisilin-sulbaktam, tikarsilin-asam klavulanat, sefazolin, sefalotin, sefuroksim, sefotaksim, seftazidim, sefepim, asam nalidiksat, siprofloksasin, levofloksasin dan ofloksasin.⁷

Berdasarkan data kejadian resistensi terhadap berbagai antibiotik tersebut dapat menyebabkan keterbatasan dalam pemilihan terapi yang akan digunakan. Maka dari itu, salah satu alternatif pengobatan yang perlu dikembangkan adalah dengan menggunakan bahan alam yang diharapkan lebih efektif, efisien serta aman dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* resisten.

Keanekaragaman hayati Indonesia menyediakan tumbuhan untuk alternatif pengobatan salah satunya sebagai antibakteri. Akar dari tumbuhan *Bixa orellana* L. (kesumba keling) sebagai salah satu tumbuhan yang tersebar luas di berbagai daerah tropis di Indonesia dan memiliki potensi untuk dikembangkan. *Bixa orellana* L. merupakan tanaman hias atau tanaman peneduh yang agian akar, daun dan bijinya memiliki aktivitas antibakteri yang berasal dari senyawa "bixin".⁸

Oleh karena itu, pada penelitian ini akan dilakukan uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol akar *Bixa orellana* L. sebagai alternatif antibakteri terhadap isolat klinis *E. coli* resisten dari dua pasien ISK. Maka dari itu, diharapkan dapat memberikan informasi mengenai potensi pengembangan obat antibakteri yang berasal dari bahan alam.

2. Metode

2.1. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain autoclave (Hirayama HL 42AE, Japan), batang pengaduk, beaker glass, bejana kromatografi, cawan penguap, cawan petri (Pyrex), desikator, inkubator (Sakura, IF-4, Japan), jangka sorong, kapas, korek api, labu erlenmeyer, lampu UV 254 dan 366 nm (Camag, Germany), lemari pendingin, maserator, mikropipet volume 1 μ L–10 μ L, mikropipet volume 10 μ L– 100 μ L, mikropipet volume 10 μ L–1000 μ L, neraca analitik (Mettler Toledo, AL204, USA), ose, oven (Mettmert 200 dan Metmert 400-800, Germany), paper disc, pelat silika gel GF 254, pembakar spiritus, penangas air (Mettmert, germany), pinset, rotary evaporator (Buchi Rotavapor R-300), silika gel 60 (MERCK, USA), spatel, tabung reaksi, tanur, tip mikropipet, vortex mixer (Health®HVM-300), dan water bath (SMIC Thermostatic Water Bath).

2.2. Bahan

Bahan tanaman yang digunakan berupa simplisia akar *Bixa orellana* L. yang diperoleh dari Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman, Kota Bogor, Jawa Barat. Bahan kimia yang digunakan dalam

penelitian ini adalah amil alkohol (Merck), amonia (Merck), aquades, asam asetat anhidrat (Merck), asam klorida (PT. Brataco), asam sulfat pekat (Merck), besi (III) klorida (Merck), dimetil sulfoksida 1 % (DMSO) (Merck), etanol 96% (CV. Agung Menara), eter (Merck), etil asetat (PT. Brataco), gelatin 1%, kalium hidroksida 5% (Merck), kloroform (PT. Quadrin), pereaksi Mayer (Merck), pereaksi Dragendorff (Merck), pereaksi Liebermann-Burchard (Merck), serbuk magnesium (CV. Agung Menara), spirtus (CV. Agung Menara Abadi) dan vanilin 10%. Bakteri uji yang digunakan pada penelitian ini adalah *Escherichia coli* resisten yang merupakan isolat klinis dari dua pasien ISK yang diperoleh dari Puskesmas Ibrahim Adjie Kota Bandung.

2.3. Prosedur Rinci

2.3.1. Ekstraksi Simplisia

Proses ekstraksi dilakukan pada simplisia direndam dengan pelarut etanol 96% selama 24 jam disertai penggantian pelarut sebanyak tiga kali. Simplisia akar *Bixa orellana* L. sebanyak 400 g dimaserasi dengan menggunakan etanol 96 % sebanyak 3 L. Pengadukan dilakukan sesekali agar memaksimalkan proses penyarian kandungan ekstrak. Untuk memperoleh ekstrak dilakukan penyaringan dengan kapas, sehingga diperoleh ekstrak yang bebas dari partikel yang berukuran besar. Setelah itu, maserat dipisahkan dengan menggunakan rotatory vaporator pada suhu 60-70°C dan dikentalkan lagi di atas penangas air sehingga didapatkan ekstrak etanol akar yang kental serta pekat.⁹ Ekstrak pekat yang diperoleh selanjutnya dapat dihitung % rendemen (b/b).

2.3.2. Penapisan Fitokimia, Karakteristik Ekstrak, dan Penentuan Profil Kromatografi Lapis Tipis

Penapisan fitokimia bertujuan untuk mendeteksi golongan metabolit sekunder yang terdapat dalam simplisia akar *Bixa orellana* L. Penapisan fitokimia meliputi identifikasi golongan senyawa alkaloid, polifenol, tanin, flavonoid, monoterpenoid dan seskuiterpenoid, steroid dan triterpenoid, kuinon, dan saponin dengan menggunakan

metode Farnsworth yang telah dimodifikasi.¹⁰ Sedangkan karakteristik berdasarkan pengamatan meliputi organoleptik, kadar air dan kadar abu.

Penentuan profil ekstrak dengan kromatografi Lapis Tipis (KLT) menggunakan pelat silika gel GF 254 sebagai fase diam serta kloroform : metanol : air (6,5 : 2,5 : 1) sebagai fase gerak. Penotolan ekstrak pada pelat silika gel yang berukuran 1 x 8 cm menggunakan pipa kapiler yang bersih. Kemudian pelat dimasukkan ke dalam bejana kromatografi yang sebelumnya telah dijenuhkan dengan larutan pengembang. Ketika cairan pengembang mencapai garis akhir, maka pelat diangkat dari bejana. Pola kromatogram yang dihasilkan dapat diamati pada sinar tampak, sinar UV λ 254 dan λ 366 nm saat sebelum dan sesudah diberikan penampak bercak.

2.3.3. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak

Masing-masing suspensi *E. coli* resisten isolat pasien 1 dan pasien 2 dimasukkan ke dalam cawan petri sebanyak 40 μ L yang sudah berisi MHA steril sebanyak 20 mL. Kemudian ditebarkan secara merata menggunakan cotton swab steril dan dibiarkan selama $\pm$ 15 menit. Cakram kertas steril ditetesi dengan 20 μ L ekstrak etanol akar kesumba keling dengan konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40% dan 50%. Setelah itu, cakram kertas diletakkan diatas media dan dibiarkan berdifusi. Diinkubasi pada suhu 35°C $\pm$ 2°C selama 16-20 jam untuk *E. coli*.¹¹ Selanjutnya, dilakukan pengamatan dan pengukuran diameter zona hambat menggunakan jangka sorong di daerah bening atau tidak adanya pertumbuhan bakteri disekitar cakram kertas.¹²

2.3.4. Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum dan Konsentrasi Bunuh Minimum Ekstrak

a. Penyiapan Larutan Uji

Ekstrak etanol akar *Bixa orellana* L. sebanyak 300 mg dilarutkan dalam 0,1 L DMSO 1% kemudian dihomogenkan sehingga didapatkan larutan ekstrak etanol 3000 μ g/mL. Kemudian diencerkan sehingga didapatkan variasi konsentrasi larutan uji dari 50 μ g/mL hingga 3000 μ g/mL.

b. Penyiapan Suspensi Bakteri

Bakteri *E. coli* resisten isolat pasien 1 dan pasien 2 ditumbuhkan dalam medium MHA lalu diinkubasi dalam inkubator pada suhu $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 16-20 jam.¹¹ Kemudian, biakan mikroba disuspensikan dalam NaCl fisiologis dengan turbiditas disesuaikan dengan standar 0,5 McFarland. Standar ini dapat dihasilkan dengan menghitung absorbansi menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 625 nm. Lalu didapatkan absorbansi 0,08-0,1 yang sesuai dengan standar 0,5 McFarland sehingga mengandung bakteri $1-2 \times 10^8$ CFU/mL.¹¹

c. Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum Ekstrak terhadap Bakteri

Pada penentuan KHM digunakan metode dilusi padat dengan hasil yang diamati dari adanya pertumbuhan koloni masing-masing isolat *E. coli* resisten pada media MHA setelah diinkubasi selama 16-20 jam pada suhu $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Tahap ini dilakukan dengan mengambil masing-masing konsentrasi larutan uji sebanyak 1 mL dan ditambahkan dengan 9 mL MHA ke dalam cawan petri berdiameter 5 cm. Kemudian dibiarkan selama 30 menit hingga campuran homogen serta memadat pada suhu ruang. Setelah itu diambil sebanyak 12,1 μL suspensi bakteri uji, diratakan menggunakan cotton swab steril sehingga didapatkan inokulum akhir yaitu 10^5 CFU per spot.¹² Setelah itu, dibiarkan selama 30 menit pada suhu ruang hingga inokulum terabsorpsi pada media agar padat dan diinkubasi selama 16-20 jam pada suhu $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.¹²

Kontrol positif berisi 10 mL MHA dan 12,1 μL suspensi bakteri uji. Sedangkan kontrol negatif berisi 10 mL MHA pada cawan petri, dibiarkan hingga memadat. Nilai KHM ditentukan dari konsentrasi terendah larutan uji yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri pada media dilusi padat.¹² Kemudian, dapat ditentukan KHM50 dan KHM90 terhadap masing-masing bakteri uji. Penentuan nilai KHM50 dan KHM90 selanjutnya dilihat berdasarkan jumlah reduksi koloni bakteri pada masing-masing konsentrasi larutan ekstrak yang diuji.

2.3.5. Penentuan Konsentrasi Bunuh Minimum Ekstrak terhadap Bakteri

Penentuan KBM dilakukan dengan memilih media kultur yang tidak ditumbuhi bakteri dari hasil pengujian KHM. Kemudian dilakukan goresan dengan metode streak dari media padat tersebut menggunakan cotton swab steril ke media kultur baru. Media kultur baru dibuat dengan konsentrasi larutan ekstrak yang tidak terdapat pertumbuhan bakteri pada KHM. Nilai KBM ditentukan dari media kultur padat yang tidak menunjukkan pertumbuhan bakteri setelah diinkubasi kembali selama 16-20 jam pada suhu $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ untuk *E. coli*.¹²

2.3.6. Uji Kesetaraan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Terhadap Antibiotik Pembanding

Uji kesetaraan dilakukan dengan metode difusi agar menggunakan teknik cakram kertas. Antibiotik yang digunakan sebagai zat pembanding adalah Gentamisin sulfat injeksi yang dibuat dengan berbagai konsentrasi yang disesuaikan. Bakteri uji yaitu *E. coli* isolat pasien 1 dan pasien 2 disesuaikan dengan standar 0,5 McFarland lalu diambil sebanyak 72,9 μL dan dimasukkan ke MHA steril. Kemudian ditebarkan secara merata dengan cotton swab steril.

KHM ekstrak yang didapatkan terhadap masing-masing *E. coli* pada tahap sebelumnya digunakan sebagai konsentrasi ekstrak pada penentuan kesetaraan. Kemudian kertas cakram steril masing-masing ditetesi dengan larutan antibiotik dan ekstrak sebanyak 20 μL lalu ditempatkan pada media dan ditekan. Cawan petri kemudian diinkubasi pada suhu $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 16-20 jam.¹¹

3. Hasil

Ekstrak yang diperoleh sebanyak 97 g dalam bentuk kental dengan rendemen 24,25% (b/b). Terhadap ekstrak ini dilakukan penapisan fitokimia yang dapat dilihat hasilnya pada Tabel 1. Ekstrak etanol memiliki karakter berdasarkan pengamatan organoleptik berupa warna coklat kekuningan, tidak berbau, rasa sedikit pahit dan sepat. Kandungan kadar air dan kadar abu total ekstrak adalah 9,4 % dan 1,09% (b/b). Hasil

Tabel 1. Hasil penapisan fitokimia ekstrak

No	Golongan Senyawa	Pereaksi	Hasil
1	Alkaloid	Dragendorff, Mayer	-
2	Flavonoid	HCl	+
3	Tanin	Gelatin	+
4	Polifenol	FeCl ₃	+
5	Saponin	Aquades	-
6	Monoterpenoid dan Sesquiterpenoid	Vanilin	-
7	Steroid	Liebermann-Burchard	-
8	Triterpenoid	Liebermann- Burchard	-
9	Kuinon	KOH	+

Keterangan: + = mengandung golongan senyawa tersebut, - = tidak mengandung golongan senyawa tersebut

penentuan profil ekstrak dengan KLT dapat dilihat pada Tabel 2 dan hasil uji aktivitas ekstrak pada konsentrasi 10-50 5 (b/v) dapat dilihat pada Tabel 3.

Hasil pengujian ekstrak untuk menentukan nilai KHM dan KBM ekstrak terhadap *E. coli* resisten dapat dilihat pada Tabel 4. Pada *E. coli* isolat pasien 1 masih tumbuh pada konsentrasi ekstrak $\leq 1470 \mu\text{g/mL}$, sedangkan *E. coli* isolat 2 pada konsentrasi ekstrak $\leq 2990 \mu\text{g/mL}$.

Hasil uji kesetaraan aktivitas ekstrak terhadap antibiotik gentamisin dapat dilihat pada tabel 5. Sehingga nilai banding aktivitas antibakteri ekstrak akar kesumba keling terhadap gentamisin untuk *E. coli* resisten isolat pasien 1 adalah $1 : 1,34 \times 10^3$ sedangkan terhadap *E. coli* resisten isolat 2 adalah $1 : 1,25 \times 10^3$.

4. Pembahasan

Ekstraksi simplisia dilakukan dengan tujuan mendapatkan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam simplisia akar *Bixa orellana* L. Etanol 96% digunakan karena semakin tinggi konsentrasi pelarut

maka diharapkan akan semakin banyak senyawa yang tersari.¹³ Hal ini dapat menjelaskan ekstrak akar *Bixa orellana* L. mengandung senyawa golongan tanin, flavonoid, polifenol, dan kuinon.

Pengamatan organoleptik terhadap ekstrak bertujuan untuk mengenal secara subjektif ekstrak akar kesumba keling menggunakan panca indera. Akan tetapi, hasil pengamatan organoleptik ekstrak tidak dapat dibandingkan dengan standar karena belum terdapat referensi untuk ekstrak akar *Bixa orellana* L. Selanjutnya kadar air ekstrak sebesar 9,4 % menunjukkan bahwa kandungan air dalam ekstrak tidak rentan ditumbuhi jamur karena kadar air $\leq 10\%$ sesuai standar umum ekstrak kental.¹⁴ Kandungan air ekstrak yang masih memenuhi syarat menunjukkan bahwa ekstrak dapat disimpan dan selama proses penyimpanan tidak rentan adanya pertumbuhan mikroba sehingga relatif tidak mengurangi aktivitas biologis ekstrak. Selain itu, terdapat pula hasil penetapan kadar abu total sebesar 1,09 % yang menunjukkan adanya residu berupa senyawa anorganik maupun kontaminan yang tidak menguap.

Tabel 2. Hasil penentuan profil KLT ekstrak

Retention factor	Sinar Tampak	Sinar Tampak + H ₂ SO ₄	UV λ 254 nm	UV λ 254 nm + H ₂ SO ₄	UV λ 366 nm	UV λ 366 nm + H ₂ SO ₄
Rf ₁	0,73	0,73	0,5	0,73	0,5	0,5
Rf ₂	0,87	0,87	0,73	0,87	0,62	0,73
Rf ₃	-	-	0,87	-	0,73	0,87
Rf ₄	-	-	-	-	0,87	-

Tabel 3. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak akar kesumba keling

Bakteri Uji	Konsentrasi Ekstrak (%)	Diameter zona hambat (mm)	Rata-rata diameter zona (mm)	Standar Deviasi	Kategori
Isolat Pasien 1	50	13,6	13,8	0,14	Kuat
		14			
		13,8			
	40	13	13	0,1	Kuat
		12,9			
		13,1			
	30	11,8	11,9	0,1	Kuat
		12			
		11,9			
	20	11,7	11,3	0,35	Kuat
		11,3			
		11			
	10	9,3	9,4	0,37	Sedang
		9,2			
		9,9			
Isolat Pasien 2	50	11,6	11,7	0,15	Kuat
		11,9			
		11,8			
	40	10,7	10,9	0,15	Sedang
		10,9			
		11			
	30	10	10	0,2	Sedang
		9,8			
		10,2			
	20	9,3	9,3	0,4	Sedang
		9,8			
		9			
	10	6,9	6,9	0,05	Sedang
		7			
		6,9			

Pada hasil profil ekstrak dengan metode KLT menunjukkan senyawa yang terpisah belum teridentifikasi secara pasti karena belum terdapat Rf standar senyawa yang terdapat dalam akar *Bixa Orellana* L. Rf yang dihasilkan dapat dipengaruhi oleh polaritas eluen yang digunakan. Pemilihan fase gerak kloroform : metanol : air berdasar pada hasil penapisan fitokimia yang diduga ekstrak cenderung mengandung senyawa yang polar. Air bersifat lebih polar dari metanol sedangkan kloroform bersifat semi polar sehingga dapat membawa senyawa dalam ekstrak bermigrasi ke atas dan memiliki

afinitas lebih kecil terhadap fase diam silika gel F254.

Pada hasil uji aktivitas ekstrak terhadap *E. coli* resisten isolat 1 dan 2 kandungan senyawa dalam ekstrak seperti tanin, polifenol, flavonoid, dan kuinon diduga memiliki aktivitas antibakteri dalam menghambat pertumbuhan *E. coli* resisten isolat klinis ISK. Tanin yang diduga memiliki aktivitas antibakteri dengan merusak membran sel bakteri dan pembentukan ikatan kompleks ion logam dari tanin sehingga mengakibatkan toksisitas.¹⁵ Bakteri gram negatif aerob seperti *E. coli* memerlukan zat besi sehingga

Tabel 4. Hasil penentuan KHM dan KBM Ekstrak

Bakteri Uji	Konsentrasi Ekstrak ($\mu\text{g/mL}$)	Σ koloni bakteri	Persen reduksi Σ koloni bakteri (%)	Nilai
Isolat Pasien 1	1450	7	86	KHM ₅₀
	1460	3	94	KHM ₉₀
	1470	2	96	KHM ₉₀
	1480	0	100	KBM
Isolat Pasien 2	2970	12	76	KHM ₅₀
	2980	4	92	KHM ₉₀
	2990	1	98	KHM ₉₀
	3000	0	100	KBM

ikatan tanin dengan besi akan menyebabkan terganggunya fungsi metabolisme bakteri.¹⁵

Selain itu, mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks sehingga akan menghambat fungsi membran sel diikuti dengan keluarnya intrasel.¹⁶ Mekanisme kerja kuinon yaitu dengan mengikat polipeptida dan enzim bakteri. Polifenol sebagai antibakteri bekerja dengan cara mendenaturasi protein sehingga struktur protein menjadi rusak.¹⁷

Sifat kekuatan zat aktif dengan diameter zona hambat ≤ 5 mm aktifitas penghambatannya dikategorikan lemah, 5-10 mm dikategorikan sedang, 10-19

mm dikategorikan kuat, dan ≥ 20 mm dikategorikan sangat kuat.¹⁸ Perbedaan besar diameter hambat ekstrak terhadap kedua *E. coli* resisten isolat pasien ISK disebabkan oleh perbedaan tingkat resistensinya terhadap antibiotik.⁷

Berdasarkan penentuan nilai KHM ekstrak maka aktivitas antibakteri ekstrak akar *Bixa orellana* L. termasuk dalam kategori sedang untuk *E. coli* resisten isolat pasien 1 dan kategori lemah untuk *E. coli* resisten isolat pasien 2. Aktivitas antibakteri ekstrak masuk kedalam kategori kuat ketika KHM < 500 $\mu\text{g/mL}$, sedang ketika nilai KHM berkisar dari 500 $\mu\text{g/mL}$ - 1500 $\mu\text{g/mL}$, dan lemah bila $>$

Tabel 5. Hasil uji kesetaraan aktivitas ekstrak terhadap antibiotik gentamisin

Bakteri Uji	Konsentrasi Ekstrak ($\mu\text{g/mL}$)	Σ koloni bakteri	Persen reduksi Σ koloni bakteri (%)	Nilai
Isolat Pasien 1	Gentamisin	22	1,34	14,6
		20	1,3	13,8
		18	1,25	12
		16	1,2	11,1
		14	1,14	10,8
		12	1,07	8,1
		10	1	6,7
	Ekstrak	14.700	4,16	7,9
Isolat Pasien 2	Gentamisin	40	1,6	18,2
		35	1,54	16,9
		30	1,47	15,8
		25	1,39	14,5
		20	1,3	12,7
		15	1,17	10
		10	1	8,2
	Ekstrak	14.700	4,16	8,9

1500 µg/mL.¹⁹

5. Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa ekstrak akar *Bixa orella* L. memiliki aktivitas yang sedang terhadap *E. coli* resisten isolat 1 dan aktivitas yang lemah pada isolat 2.

Daftar Pustaka

1. Foxman B. Epidemiology of Urinary Tract Infections : Incidence, Morbidity, and Economic Costs. Am J Med. 2002;113(1):5–13.
2. Olowe et al. Detection of Bacteriuria among Human Immunodeficiency Virus Seropositive Individuals in Osogbo, South Western Nigeria. Eur J Microbiol Immunol. 2015;5(1):126–30.
3. Banu A, and Joythi R. Asymptomatic Bacteriuria in HIV Positive Individuals in Tertiary Care Hospital. J HIV hum reprod. 2013;1(2):54.
4. Kahlmeter G. An International Survey of The Antimicrobial Susceptibility of Pathogens from Uncomplicated Urinary Tract Infections: The ECO. SENS Project. J Antimicrob Chemother. 2003;51(1):6–12.
5. Hanna E, and David P. Multidrug-resistant *Escherichia coli* in Asia: Epidemiology and Management. Expert Rev Anti Infect Ther. 2015;13(5):1.
6. Kemenkes. Survey Demografi dan Kesehatan Indonesia. Jakarta:Kementerian Kesehatan Republik Indonesia; 2014.
7. Rostinawati T, Pamungkas TB, Moektiwardojo M, Subarnas A. Pola Resistensi Antibiotik Bakteri Penyebab Infeksi Saluran Kemih di Puskesmas Ibrahim Adjie Kota Bandung. J Sains Farm Klin. 2021;8(1):27.
8. Hagiwara A, Imai N, Ichihara T. A thirteen-week oral toxicity study of annatto extract (norbixin), a natural food color extracted from the seed coat of annatto (*Bixa orellana* L.), in Sprague-Dawley rats. Food Chem Toxicol. 2003;41:1157–64.
9. Hamdanah S, Jamaluddin, Anam S. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Ekstrak Etanol Buah Belimbing Wuluh (*Avverhoa blimbi* L.) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. GALENIKA. 2015;1(1):22–34.
10. Siregar et al. Antioxidant and Antityrosinase Activities of Ethanolic Extract Pachyrhizosorus Peel and Tuber Extract. Maj Kedokt Bandung. 2019;51(2):76–7.
11. CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 19th informational supplement (CLSI document M100-S19). Wayne,PA: Clinical and Laboratory Standard Institute; 2009.
12. CLSI. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically: Approved-Standard Tenth Edition. Wayne,PA: Clinical and Laboratory Standard Institute; 2015.
13. Diem Do, Artik Q, Phoung E. Effect Of Extraction Solvent On Total Phenol Content, Total Flavonoid Content, and Antioxidant Activity Of *Limnophila arimatica*. J Food Drug Anal. 2014;55(3):225–76.
14. Kemenkes. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Pertama. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia; 2000.
15. Kaczmarek B. Tannic acid with antiviral and antibacterial activity as a promising component of biomaterials-A minireview. Materials (Basel). 2020;13(14).
16. Xie et al. Antibacterial Activities of Flavonoids: Structure-Activity Relationship and Mechanism. Curr Med Chem. 2014;22(1):132–49.
17. Papuc et al. Plant Polyphenols as Antioxidant and Antibacterial Agents for Shelf-Life Extension of Meat and Meat Products: Classification, Structures, Sources, and Action Mechanisms. Compr Rev Food Sci Food Saf. 2017;16(6):1243–68.
18. Morales et al. Secondary Metabolites Four Medical Plants From Northern Chile : Antimicrobial Activity and Toxicity Against *Artemia salina*. J Chil Chem Soc. 2003;48:13–8.
19. Aligiannis N, Kalpoutzakis E, Sofia M, Ioanna B. Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils of Two *Origanum* Species. J Agric Food Chem. 2001;49:4168–4170.