

## Penentuan Aktiviti Antimikrob Herba Kacangma *Leonurus sibiricus* (Determination of Antimicrobial Activities of Kacangma Herb *Leonurus sibiricus*)

CHUA HUN PIN\* & AMINAH ABDULLAH

### ABSTRAK

Kajian keberkesanan sifat antimikrob ekstrak kacangma dijalankan menggunakan ujian resapan cakera dan ujian perencatan langsung. Hasil menunjukkan ekstrak etanol dengan kepekatan 50 dan 100 mg/mL merencat *Staphylococcus aureus*. Bagi ekstrak air, kepekatan 10, 25, 50 dan 100 mg/mL merencat *Aspergillus niger*, 25, 50 dan 100 mg/mL dapat merencat *Saccharomyces cerevisiae* dan kepekatan 100 mg/mL dapat merencat *Staphylococcus aureus*. Perlakuan suhu yang berbeza ke atas ekstrak dalam ujian perencatan langsung tidak menunjukkan sebarang perbezaan ke atas perencatan mikroorganisma yang dikaji.

**Kata kunci:** Aktiviti antimikrob; *Leonurus sibiricus*; ujian perencatan langsung; ujian resapan cakera

### ABSTRACT

Evaluation of antimicrobial effectiveness of kacangma extract was carried out using disc diffusion test and direct inhibition test. Result showed that ethanol extracts at concentration of 50 and 100 mg/mL inhibited *Staphylococcus aureus*. Water extracts at concentration 10, 25, 50 and 100 mg/mL inhibited *Aspergillus niger*, 25, 50 and 100 mg/mL inhibited *Saccharomyces cerevisiae* and at concentration 100 mg/mL inhibited *Staphylococcus aureus*. Heat treatments during direct inhibition test with incorporation of extracts did not show any differences of inhibitory effects against all microorganisms tested.

**Keywords:** Antimicrobial activity; direct inhibition test; disc diffusion test; *Leonurus sibiricus*

### PENGENALAN

Agen antimikrob ialah sebatian kimia yang berupaya membunuh atau merencat pertumbuhan mikroorganisma (bakteria, kulat dan yis) secara terpilih. Sebatian ini boleh terdiri daripada bahan kimia sama ada jenis semula jadi mahupun sintetik (Fasihuddin & Hasmah 1993). Dalam industri makanan, agen antimikrob kerap digunakan untuk memanjangkan masa simpanan makanan. Mengikut Peraturan Makanan Malaysia (1985), pengawet kimia yang dibenarkan dalam makanan termasuk asid benzoat, sulfur dioksida, asid sorbik, asid propionat atau terbitan garam daripada sebatian ini (Anon. 2008).

Kesan sampingan jangka panjang yang sering dikaitkan dengan pengambilan bahan kimia sintetik telah menyedarkan pengguna ke arah pengambilan produk berasaskan ramuan semula jadi (Rukayah 2006). Minat terhadap pencarian sebatian semula jadi alternatif untuk kegunaan dalam makanan dan ubat-ubatan semakin meningkat. Usaha untuk mencari agen antimikrob daripada sumber asli seperti tumbuhan herba yang telah dibuktikan keberkesanannya bagi penghasilan makanan yang selamat (Alzoreky & Nakahara 2003; Girish & Satish 2008).

Famili Lamiaceae sering dirujuk sebagai famili tumbuhan herba yang penting daripada segi perubatan. Ini kerana kebanyakan tumbuhannya mengandungi sebatian fitokimia yang memperlihatkan pelbagai jenis aktiviti

biologi khususnya aktiviti antimikrob (Huang et al. 2005; Topcu & Goren 2007). Beberapa kajian yang dijalankan di Korea, Jepun, Mexico, Brazil dan Eropah mendapati herba daripada spesies *Leonurus* mempunyai potensi tinggi daripada segi aktiviti antimikrob (Ahmed et al. 2006; Mitscher et al. 1972; Woo et al. 1979; de Souza et al. 2004).

Kajian ini dijalankan untuk mengenalpasti aktiviti antimikrob ekstrak air dan ekstrak etanol herba kacangma (*Leonurus sibiricus*). Aktiviti antimikrob dikaji melalui ujian resapan cakera dan ujian perencatan langsung. Kesan perlakuan suhu terhadap aktiviti antimikrob ekstrak herba kacangma juga dikaji melalui pendedahan pada suhu 50, 100 dan 121°C.

### BAHAN DAN KAEDAH

#### SAMPEL HERBA

Kacangma kering diperolehi dengan mengeringkan herba kacangma yang telah ditanam di stesen MARDI Kuching. Herba kacangma varieti bunga merah jambu pada tahap kematangan 70 hari digunakan. Bahagian aerial kacangma segar yang terdiri daripada daun dan tangkai muda dicincang lalu dikeringkan di dalam ketuhar udara pada 60°C selama 5-6 jam sehingga kandungan lembapan akhirnya di bawah 6% (b/b). Herba kering kemudian

dikisar menjadi serbuk dan disimpan dalam bekas kedap udara sehingga dianalisis.

#### PENYEDIAAN EKSTRAK HERBA

Kaedah pengekstrakan herba kacangma dijalankan mengikut kaedah de Souza et al. (2004). Dalam pengekstrakan air, sebanyak 100 g sampel serbuk herba direndam dalam 500 mL air selama 3 hari dengan pengacauan setiap 24 jam. Campuran kemudian dituras menggunakan kertas turas (Whatman No.1, USA). Hasil pengekstrakan dikeringkan dengan alat penyejat (Heidolph WB 2001, Germany). Ini diikuti dengan pengeringan lanjut dalam ketuhar (Memmert ULE 500, Germany) pada suhu 60°C selama sejam atau sehingga kering.

Bagi pengekstrakan etanol, sebanyak 100 g sampel serbuk herba direndam dalam 500 mL etanol 95% selama 3 hari dengan pengacauan setiap 24 jam. Campuran kemudian dituras menggunakan kertas turas (Whatman No.1, USA). Hasil pengekstrakan dikeringkan dengan alat penyejat (Heidolph WB 2001) diikuti dengan pengeringan lanjut dalam ketuhar (Memmert ULE 500, Germany) pada suhu 45°C sehingga kering.

Hasil pengekstrakan ditimbang dan disimpan dalam botol steril yang dibalut dengan kerajang aluminium. Ia disimpan di dalam peti sejuk (sekitar 4°C) untuk kegunaan seterusnya. Kepekatan ekstrak yang berlainan iaitu 10, 25, 50 dan 100 mg/mL disediakan dengan melarutkan semula hasil pengekstrakan kering ke dalam 1 mL air suling atau larutan etanol 10%.

#### MEDIA DAN KULTUR MIKROORGANISMA

Media mikrobiologi terdiri daripada agar nutrien NA (Oxoid CM3), agar dekstrosa Sabouraud SDA (Oxoid CM41), agar Mueller-Hinton MHA (Oxoid CM0337), kaldu nutrien NB (Oxoid CM1), kaldu Sabouraud SB (Oxoid CM147), tablet Ringer's (Oxoid BR52) dan cakera kosong (Oxoid DD0014T).

Sebanyak 6 jenis mikroorganisma digunakan terdiri daripada 2 bakteria Gram positif (*Bacillus cereus*, ATCC 11778 dan *Staphylococcus aureus*, ATCC 25923), 2 bakteria Gram negatif (*Escherichia coli*, ATCC 11775 dan *Salmonella typhimurium*, ATCC 14028), 1 yis (*Saccharomyces cerevisiae*, ATCC 9763) dan 1 kulat (*Aspergillus niger*, ATCC 16404) digunakan.

Koloni kultur bakteria tulen dipindah secara coretan pada agar NA dan dieram pada suhu 37°C selama 24 jam. Bagi penyediaan inokulum bakteria, sebanyak 4 koloni diambil dengan menggunakan gelung dawai steril dan dipindahkan ke dalam 10 mL kaldu NB dan dieram pada suhu 37°C selama 24 jam. Kaldu kemudian dicairkan menurut kaedah pencairan bersiri kepada 10<sup>6</sup> unit pembentukan koloni per mL (cfu/mL) dengan menggunakan larutan Ringer suku kekuatan.

Kultur tulen yis dan kulat dihidupkan pada agar SDA dan dieram pada suhu 35°C selama 48-72 jam sehingga terbentuknya koloni (untuk yis) atau spora (untuk kulat).

Bagi penyediaan inokulum yis dan kulat, sel yis atau spora diambil dengan menggunakan gelung dawai steril dan dipindah ke dalam 10 mL kaldu SB dan dieram pada suhu 35°C selama 48 jam. Kaldu kemudian dicairkan menurut kaedah pencairan bersiri kepada 10<sup>6</sup> cfu/mL dengan menggunakan larutan Ringer suku kekuatan.

#### UJIAN ANTIMIKROB

Aktiviti antimikrob untuk kedua-dua ekstrak air dan etanol daripada herba kacangma diuji melalui 2 ujian iaitu ujian resapan cakera dan ujian perencatan langsung. Kedua-dua ujian ini dilakukan secara steril dalam kebuk aliran laminar (Nuair, USA). Media pertumbuhan agar dan peralatan kecil seperti forcep, mikropipet dan cakera kertas disterilkan menggunakan autoklaf (Tomy SS-325, USA) di bawah tekanan 15 psi selama 15 min pada suhu 121°C. Permukaan kebuk aliran laminar disterilkan dengan sinaran ultraviolet.

*Ujian Resapan Cakera* Ujian resapan cakera dijalankan mengikut standard NCCLS (1997a) dengan sedikit pengubahsuaian oleh Nascimento et al. (2000). Agar Mueller-Hinton (MHA) dan agar Dekstrosa Sabouraud (SDA) digunakan sebagai media pertumbuhan. Bagi penyediaan media agar, 38 g serbuk MHA atau 65 g serbuk SDA masing-masing ditambah ke dalam 1 L air suling. Campuran dimasak sehingga didih dan disterilkan dalam autoklaf. Kedua-dua media kemudiannya dituang ke dalam piring petri secara aseptik di dalam kebuk aliran laminar dan dibiarkan mengeras.

Sebanyak 1 mL kultur mikroorganisma diinokulat ke atas media pertumbuhan (MHA untuk bakteria dan SDA untuk yis dan kulat) dengan menyebarkan inokulum kultur secara rata pada permukaan media menggunakan rod kaca bentuk L yang steril. Piring petri dibiarkan selama 10 min supaya inokulat kering pada permukaan media.

Sebanyak 20 µL ekstrak kacangma dengan kepekatan 10, 25, 50 dan 100 mg/mL dititis sedikit demi sedikit secara aseptik pada cakera kertas (diameter 6 mm). Cakera kertas yang telah dititiskan dengan ekstrak kacangma dibiarkan kering pada suhu bilik di dalam kebuk aliran laminar sehingga kedua-dua pelarut air dan etanol meruap sepenuhnya dan meninggalkan hanya ekstrak pada cakera kertas tersebut. Selepas itu, 5 keping cakera kertas dipindahkan ke atas permukaan media berinokulat secara teliti dengan menggunakan forcep steril. Setiap cakera kertas dipastikan berjarak sekurang-kurangnya 1.5 cm antara satu sama lain dan dengan sisi piring petri. Cakera kosong bertindak sebagai kawalan.

Selepas dibiarkan sekitar 20 min, piring petri diterbalikkan dan dieram pada suhu 37°C selama 24 jam bagi bakteria, dan pada suhu 35°C selama 48 jam bagi yis dan kulat. Piring diperiksa untuk melihat kewujudan zon cerah dan dikenali sebagai zon perencatan. Hanya zon perencatan dengan diameter melebihi 7 mm diambilkira sebagai hasil positif. Semua kajian dijalankan secara duplikat.

*Ujian Perencatan Langsung* Ujian perencatan langsung dijalankan mengikut standard NCCLS (1997b). Kesan perlakuan suhu terhadap aktiviti antimikrob ekstrak air dan ekstrak etanol herba kacanggma dikaji melalui pendedahan pada suhu 50, 100 dan 121°C selama 15 min. Ekstrak ditambah ke dalam media pertumbuhan pada kepekatan 10, 25, 50 dan 100 mg/mL secara aseptik di dalam kebuk aliran laminar.

Bagi kajian kesan perlakuan suhu 50°C, ekstrak dimasukkan ke dalam media agar yang telah diautoklaf, disejukkan dan dikekalkan suhu 50°C dalam kukus air. Manakala bagi perlakuan suhu 100°C, ekstrak ditambah ke dalam media agar yang telah diautoklaf dan kemudian dipanaskan semula sehingga ke suhu 100°C. Bagi perlakuan suhu 121°C pula, ekstrak ditambahkan ke dalam media agar dan kemudian diautoklaf pada suhu 121°C.

Sebanyak 0.1 mL kultur mikroorganisme yang telah dicairkan kepada 10<sup>4</sup> cfu/mL dipindahkan ke atas media agar berekstrak kacanggma yang telah disediakan. Media yang tidak mempunyai sebarang penambahan ekstrak bertindak sebagai kawalan. Kultur disebar dengan seragam pada permukaan agar tersebut dengan menggunakan rod kaca bentuk L yang steril. Selepas itu, piring dieram pada suhu 37°C selama 24 jam untuk bakteria, dan suhu 35°C selama 24-72 jam untuk yis dan kulat. Bilangan koloni yang terbentuk pada setiap media berekstrak dihitung dan dibandingkan dengan bilangan koloni yang terbentuk pada media kawalan. Kesan perencatan pertumbuhan mikroorganisma oleh ekstrak kacanggma dikira sebagai peratus perbezaan bilangan koloni mikroorganisma antara media kawalan dengan media berekstrak mengikut formula berikut:

$$\frac{\text{Koloni pada media kawalan} - \text{koloni pada media berekstrak}}{\text{Koloni pada media kawalan}} \times 100\%$$

#### ANALISIS STATISTIK

Data dianalisis menggunakan perisian analisis statistik (SAS 1994). Ujian Duncan digunakan untuk menentukan

sampel yang bererti, sekiranya terdapat perbezaan bererti ( $p < 0.05$ ).

## HASIL DAN PERBINCANGAN

### UJIAN RESAPAN CAKERA

Kajian antimikrob dijalankan untuk melihat kesan langsung ekstrak air dan etanol herba kacanggma terhadap bakteria *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, yis *Saccharomyces cerevisiae* dan kulat *Aspergillus niger* pada 4 kepekatan iaitu 10, 25, 50 dan 100 mg/mL.

Hasil ujian resapan cakera ditunjukkan pada Jadual 1. Diameter zon perencatan yang minimum dikesan ialah 7 mm manakala yang paling tinggi ialah 10 mm. Secara umum, zon perencatan semakin luas dengan meningkatnya kepekatan ekstrak yang digunakan.

Ekstrak air kacanggma didapati mempunyai darjah perencatan pertumbuhan mikroorganisma yang lebih luas berbanding ekstrak etanol. Ia merencat *S. aureus* pada kepekatan 100 mg/mL, *A. niger* pada keempat-empat kepekatan (10, 25, 50 dan 100 mg/mL) dan *S. cerevisiae* pada kepekatan 25, 50 dan 100 mg/mL. Ekstrak air kacanggma juga didapati lebih berkesan dalam perencatan pertumbuhan yis dan kulat berbanding dengan bakteria. Sementara itu, ekstrak etanol kacanggma pula hanya merencat *S. aureus* pada kepekatan 50 dan 100 mg/mL dan *E. coli* pada kepekatan 100 mg/mL.

Kedua-dua ekstrak air dan ekstrak etanol herba kacanggma didapati lebih berkesan dalam perencatan pertumbuhan bakteria Gram positif (*S. aureus*) daripada bakteria Gram negatif (*S. typhimurium* dan *E. coli*). Ini kerana dinding sel bakteria Gram negatif terdiri daripada lapisan lipopolisakarida yang berfungsi menghalang perentasan molekul lipofilik. Selain daripada itu, dinding sel bakteria Gram negatif juga mempunyai lapisan membran luar tambahan yang bertindak sebagai penghalang tambahan dan bersifat memilih kepada molekul

JADUAL 1. Purata (n = 2) perencatan pertumbuhan mikroorganisma oleh ekstrak kacanggma melalui ujian resapan cakera

Mikroorganisma	Ekstrak Kacanggma Pada Kepekatan Berlainan (mg/mL)							
	Ekstrak Air				Ekstrak Etanol			
	10	25	50	100	10	25	50	100
<i>B. cereus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. aureus</i>	-	-	-	+	-	-	+	+
<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>S. typhimurium</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. cerevisiae</i>	-	+	+	++	-	-	-	-
<i>A. niger</i>	+	+	+	++	-	-	-	-

++ : Terdapat pembentukan zon cerah melebihi 10 mm

+ : Terdapat pembentukan zon cerah melebihi 7 mm

- : Tiada pembentukan zon cerah

hidrofilik (Black 2002). Sebagaimana yang dijelaskan oleh Chan et al. (2008), sebatian antimikrob yang terkandung dalam ekstrak kacangma besar kemungkinan tidak dapat menembusi lapisan membran luar ini untuk bertindak ke atas sel bakteria. Sementara itu, bakteria Gram positif (*S. aureus* dan *B. cereus*) hanya mempunyai lapisan peptidoglikan di dinding sel sebagai lapisan penghalang kepada molekul hidrofilik dan lebih senang ditembusi oleh sebatian antimikrob (Thomas & John 2006).

Kepekatan ekstrak juga akan mempengaruhi keberkesanan perencatan. Ini kerana kesemua hasil positif menunjukkan zon perencatan melebihi 10 mm pada kepekatan 100 mg/mL. Kepekatan ekstrak yang rendah misalnya 10 mg/mL lazimnya tidak membentuk zon perencatan. Keputusan ini amat selari dengan hasil kajian Wan Norhanizan (2005) yang menggunakan sumber herba kacangma yang sama. Bagaimanapun, beberapa pengkaji telah melaporkan penemuan yang berlainan. Heinrich et al. (1992) mendapati ekstrak etanol *L. sibiricus* berkesan untuk merencat *E. coli*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus subtilis*, manakala Wadt et al. (1996) melaporkan hasil positif ke atas *S. aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Candida albicans*. Menurut de Souza et al. (2004) pula, ekstrak metanol *L. sibiricus* hanya berkesan untuk merencat *B. subtilis*. Ini mungkin disebabkan sumber herba yang berlainan dan faktor agro-iklim dan pengendalian kandungan fitokimia dalam herba kajian (Erdman et al. 2007; Kyle & Duthie 2006).

#### UJIAN PERENCATAN LANGSUNG

Dalam ujian ini, kesan perlakuan suhu terhadap aktiviti antimikrob ekstrak herba kacangma dikaji melalui pendedahan pada suhu 50, 100 dan 121°C. Kesan perencatan pertumbuhan mikroorganisma oleh ekstrak kacangma dikira sebagai peratus perbezaan bilangan koloni mikroorganisma antara media kawalan dengan media berekstrak.

#### FAKTOR PELARUT PENGEKSTRAKAN

Dalam kajian ini, dua jenis pelarut telah digunakan sebagai medium pengekstrakan fitokimia herba kacangma iaitu air dan etanol. Kesan perencatan pertumbuhan mikroorganisma oleh ekstrak air dan ekstrak etanol herba kacangma masing-masing ditunjukkan pada Jadual 2 dan Jadual 3. Hasil kajian menunjukkan ekstrak air kacangma dapat merencat pertumbuhan *E. coli*, *S. aureus*, *A. niger* dan *S. cerevisiae*. Bagaimanapun, ekstrak air kacangma tidak menunjukkan kesan perencatan pertumbuhan terhadap *B. cereus* dan *S. typhimurium* pada kesemua kepekatan ekstrak dan perlakuan suhu yang diuji.

Dalam kumpulan bakteria yang dikaji, peratus perencatan oleh ekstrak air kacangma yang tertinggi untuk *S. aureus* (94.4%) ialah pada kepekatan ekstrak air 100 mg/mL dengan suhu perlakuan 121°C manakala peratus perencatan yang terendah (10.6%) ialah pada kepekatan 10 mg/mL dengan suhu 50°C. Bagi *E. coli*, peratus perencatan tertinggi (10.1%) ialah pada kepekatan 100 mg/mL dengan

JADUAL 2. Purata (n = 2) kesan perencatan mikroorganisma oleh ekstrak air kacangma

Mikroorganisma	Kepekatan Ekstrak Air (mg/mL)	Kesan Perencatan Pertumbuhan Mikroorganisma Pada Perlakuan Suhu Berlainan (%)		
		50°C	100°C	121°C
<i>S. aureus</i>	10	10.6	14.1	18.9
	25	26.4	27.8	53.6
	50	38.0	48.8	75.1
	100	59.3	70.5	94.4
<i>E. coli</i>	10	0	0	0
	25	0	0	0
	50	2.9	1.1	8.5
	100	7.6	6.7	10.1
<i>S. cerevisiae</i>	10	16.3	34.0	66.7
	25	68.5	100	100
	50	100	100	100
	100	100	100	100
<i>A. niger</i>	10	0	8.8	8.2
	25	12.1	29.9	22.3
	50	48.8	49.9	43.3
	100	56.7	47.3	67.6
<i>B. cereus</i>		0% untuk kesemua kepekatan ekstrak dan perlakuan suhu		
<i>S. typhimurium</i>		0% untuk kesemua kepekatan ekstrak dan perlakuan suhu		

JADUAL 3. Purata (n = 2) kesan perencatan mikroorganisma oleh ekstrak etano kacangma

Mikroorganisma	Kepekatan Ekstrak Eetanol (mg/mL)	Kesan Perencatan Pertumbuhan Mikroorganisma Pada Perlakuan Suhu Berlainan (%)		
		50°C	100°C	121°C
<i>S. aureus</i>	10	35.3	84.0	77.2
	25	43.6	90.8	84.6
	50	50.4	98.8	90.8
	100	63.3	100	100
<i>E. coli</i>	10	19.2	42.7	47.2
	25	31.4	67.7	78.5
	50	48.7	86.8	92.3
	100	69.7	100	100
<i>B. cereus</i>	0% untuk kesemua kepekatan ekstrak dan perlakuan suhu			
<i>S. typhimurium</i>	0% untuk kesemua kepekatan ekstrak dan perlakuan suhu			
<i>S. cerevisiae</i>	0% untuk kesemua kepekatan ekstrak dan perlakuan suhu			
<i>A. niger</i>	0% untuk kesemua kepekatan ekstrak dan perlakuan suhu			

suhu 121°C manakala peratus perencatan yang terendah (0%) adalah pada kepekatan 10 dan 25 mg/mL untuk kesemua perlakuan suhu.

Bagi kumpulan yis dan kulat pula, peratus perencatan yang tertinggi untuk *S. cerevisiae* ialah pada kepekatan 50 dan 100 mg/mL pada kesemua suhu perlakuan manakala peratus perencatan yang terendah (18%) ialah dengan kepekatan 10 mg/mL pada suhu 50°C. Bagi *A. niger* pula, peratus perencatan tertinggi (67.6%) ialah pada kepekatan ekstrak air 100 mg/mL dengan suhu 121°C manakala peratus perencatan terendah (0%) ialah pada kepekatan 10 mg/mL pada suhu 50°C.

Bagi kesan perencatan pertumbuhan mikroorganisma oleh ekstrak etanol kacangma, hasil kajian menunjukkan ekstrak etanol hanya dapat merencat pertumbuhan bakteria *S. aureus* dan *E. coli* sahaja. Ekstrak etanol kacangma didapati tidak menunjukkan kesan perencatan pertumbuhan terhadap *B. cereus*, *S. typhimurium*, *S. cerevisiae* dan *A. niger* pada kesemua kepekatan ekstrak dan perlakuan suhu yang diuji.

Bagi *S. aureus*, peratus perencatan oleh ekstrak etanol kacangma yang tertinggi (100%) ialah pada kepekatan 100 mg/mL dengan suhu perlakuan 100 dan 121°C, manakala peratus perencatan yang terendah (35.3%) ialah dengan kepekatan 10 mg/mL pada suhu 50°C. Bagi *E. coli* pula, peratus perencatan yang tertinggi (100%) ialah dengan kepekatan 100 mg/mL pada suhu 100 dan 121°C, manakala peratus perencatan terendah (19.2%) ialah dengan kepekatan 10 mg/mL pada suhu 50°C. Semakin tinggi kepekatan ekstrak, semakin tinggi kadar peratus perencatan pertumbuhan.

Kedua-dua ekstrak air dan ekstrak etanol menunjukkan hasil yang agak berbeza daripada segi perencatan pertumbuhan mikroorganisme. Jenis pelarut yang digunakan didapati mempengaruhi kandungan hasil ekstrak yang mana hasil ekstrak etanol didapati berbentuk

minyak akeus manakala hasil ekstrak air berbentuk serbuk kering.

Dalam ujian ini, ekstrak air didapati lebih berkesan dari segi kesan perencatan berbanding ekstrak etanol khususnya terhadap yis dan kulat. Mengikut Seidel (2005), air lebih bersifat polar dan berupaya mengekstrak sebatian-sebatian fitokimia seperti flavonoid, glikosida, tanin, saponin dan alkaloid. Sebilangan sebatian fitokimia ini menunjukkan aktiviti antibakteria dan antikulat yang baik (Duke 2000).

#### FAKTOR KEPEKATAN EKSTRAK

Kepekatan ekstrak yang berlainan memberikan keputusan yang berbeza terhadap kesan perencatan pertumbuhan mikroorganisme. Sebagaimana yang telah dijangkakan, semakin tinggi kepekatan ekstrak kacangma, semakin tinggi kesan perencatannya terhadap pertumbuhan mikroorganisma walaupun pada perlakuan suhu yang berlainan. Ini kerana semakin tinggi kepekatan ekstrak, semakin banyak amaun sebatian antimikrob yang terkandung dalam ekstrak tersebut. Kajian berkaitan aktiviti antimikrob lazim memperoleh keputusan seumpama ini (Ali et al. 2005; Joshi & John 2002; Prasad et al. 2008).

#### FAKTOR SUHU PERLAKUAN

Hasil kajian menunjukkan semakin tinggi suhu perlakuan ke atas ekstrak kacangma, semakin meningkat pula kesan perencatan pertumbuhan mikroorganismanya. Perlakuan pada suhu yang tinggi iaitu 100 dan 121°C tidak mejejaskan kuasa perencatan bahkan mempertingkatkan kesannya. Hasil ini bertentangan dengan jangkaan umum bahawa semakin tinggi suhu perlakuan, semakin banyak sebatian fitokimia dalam ekstrak akan termusnah dan semakin rendah aktiviti antimikrobnya.



Hasil kajian yang sama juga dilaporkan oleh Chan et al. (2008) yang mana sampel herba yang dididihkan selama 20 min didapati menunjukkan aktiviti antimikrob yang lebih tinggi terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Mycobacterium smegmatis* berbanding herba kawalan tanpa perlakuan.

Mengikut Zhu (1998), perlakuan haba ke atas ekstrak herba ubatan boleh membawa kepada penyingkiran, penguraian atau pembebasan suatu unsur fitokimia aktif, dan ini seterusnya akan menyebabkan perubahan sifat biologi atau kewujudan sifat biologi baru. Satu contoh ialah proses penggorengan akar *Rheum palmatum* (*Radix et Rhizoma Rhei*) yang akan mewujudkan sifat antibakteria pada herba ini. Kejadian ini berlaku kerana perlakuan haba semasa penggorengan telah menyebabkan kandungan fitokimia aktif antrakuinon glikosida dalam herba terurai. Penguraian seterusnya akan pembebasan antrakuinon yang membawa kepada fungsi baru iaitu antibakteria (Su & Qiao 1989; Wang 1985).

Kajian yang seumpama ini telah dijalankan oleh Traub & Leonhard (1995) ke atas 62 jenis bahan antimikrob pada 56°C selama 30 min dan 121°C selama 15 min. Hasil kajian menunjukkan 25 daripadanya bersifat stabil terhadap perlakuan haba. Antaranya termasuk  $\beta$ -laktam, azlosillin, aztreonam, mezlosillin and oksasillin. Kestabilan terhadap suhu tinggi amat penting untuk sesuatu agen antimikrob makanan kerana aktiviti pemprosesan makanan seringkali melibatkan proses haba.

#### KESIMPULAN

Ekstrak air kacangma didapati mempunyai darjah perencatan pertumbuhan mikroorganisma yang lebih luas berbanding ekstrak etanol. Ekstrak air kacangma berupaya merencat *S. aureus* pada kepekatan 100 mg/mL, *A. niger* pada keempat-empat kepekatan (10, 25, 50 dan 100 mg/mL) dan *S. cerevisiae* pada kepekatan 25, 50 dan 100 mg/mL. Ekstrak etanol kacangma pula hanya merencat *S. aureus* pada kepekatan 50 dan 100 mg/mL dan *E. coli* pada kepekatan 100 mg/mL. Dalam ujian perencatan langsung, ekstrak air kacangma berupaya merencat pertumbuhan *E. coli*, *S. aureus*, *A. niger* dan *S. cerevisiae*, manakala ekstrak etanol hanya dapat merencat pertumbuhan bakteria *S. aureus* dan *E. coli* sahaja. Semakin tinggi kepekatan ekstrak kacangma dan suhu perlakuan, semakin tinggi kesan perencatan pertumbuhan mikroorganisma. Perlakuan pada suhu tinggi tidak akan menjejaskan kesan perencatan bahkan mempertingkatkan kesannya.

#### RUJUKAN

- Ahmed, F., Islam, M.A. & Mustafizur Rahman, M. 2006. Antibacterial activity of *Leonurus sibiricus* aerial parts. *Fitoterapia* 77(4): 316-317.
- Ali, S.M., Khan, A.A., Ahmed, I., Musaddiq, M., Ahmed, K.S., Polasa, H., Rao, L.V., Habibullah, C.M., Sechi, L.A. & Ahmed, N. 2005. Antimicrobial activities of Eugenol and Cinnamaldehyde against the human gastric pathogen *Helicobacter pylori*. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials* 4: 20.
- Alzoreky, N.S. & Nakahara, K. 2003. Antibacterial activity of extracts from some edible plants commonly consumed in Asia. *International Journal of Food Microbiology* 80(3): 223-230.
- Anon. 2008. *Akta Makanan dan Peraturan-Peraturan*. Kuala Lumpur: MDC Publishers Sdn Bhd.
- Black, J.G. 2002. *Microbiology: Principles and Explorations*. Ed. ke-5. New York: Prentice Hall.
- Chan, L.W., Cheah, L.C.E., Saw, L.L.C. Weng, W.Y. & Heng, W.S.P. 2008. Antimicrobial and antioxidant activities of *Cortex Magnoliae Officinalis* and some other medicinal plants commonly used in South-East Asia. *Chinese Medicine* 3: 15.
- de Souza, G.C., Haas, A.P.S., von Poser, G.L., Schapoval, E.E.S. & Elisabetsky, E. 2004. Ethnopharmacological studies of antimicrobial remedies in the south of Brazil. *Journal of Ethnopharmacology* 90(1): 135-143.
- Duke, J.A. 2000. *Dr. Duke's phytochemical and ethnobotanical databases*. Phytochemical database, USDA-ARS-NGRL, Beltsville Agricultural Research Center, Beltsville, Maryland. <http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/html/taxon.pl?407779> [17 Feb 2004].
- Erdman, J.W., Balentine, D., Arab, L., Beecher, G., Dwyer, J.T., Folts, J., Harnly, J., Hollman, P., Keen, C.L., Mazza, G., Messina, M., Scalbert, A., Vita, J., Williamson, G. & Burrowes, J. 2007. Flavonoids and Heart Health. Proceeding of the ILSI North America Flavonoids Workshop, May 31-June 1, 2005, Washington, DC. *The Journal of Nutrition* 137: 718S-737S.
- Fasihuddin, A. & Hasmah, R. 1993. *Kimia Hasil Semula Jadi dan Tumbuhan Ubatan*. Kuala Lumpur: Dewan Bahasa dan Pustaka.
- Girish, H.V. & Satish, S. 2008. Antibacterial activity of important medicinal plants on human pathogenic bacteria- A comparative analysis. *World Applied Sciences Journal* 5(3): 267-271.
- Heinrich, M. Kuhnt, M., Wright, C.W., Rimpler, H. Philipson, J.D., Schandelmaier, A. & Warhurst, D.C. 1992. Parasitological and microbiological evaluation of mixed Indian medicinal plants (Mexico). *Journal of Ethnopharmacology* 36(1): 81-85.
- Huang, S.S., Liao J.P. & Tang, Y.J. 2005. Advances in the studies of glandular hairs and secretion in Labiateae plants. *Journal of Tropical and Subtropical Botany* 13(5): 452-456.
- Joshi, V.K. & John, S. 2002. Antimicrobial activity of apple wine against some pathogenic and microbes of public health and significance. *Alimentaria* 338: 67-72.
- Kyle, J.A.M. & Duthie, G.G. 2006. Flavonoids in food. Dlm. Andersen, M. & Markham, K.R. *Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications*, hlm. 219-262. Boca Raton: CRC Press.
- Mitscher, L.A., Leu, R.P., Bathala, M.S., Wu, W. & Beal, J.L. 1972. Antimicrobial agents from higher plants. I. Introduction, rationale, and methodology. *Lloydia* 35: 157-166.
- Nascimento, G.G.F., Locatelli, J., Freitas, P.C. & Silva, G.L. 2000. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. *Brazilian Journal of Microbiology* 31(4): 247-256.
- NCCLS. 1997a. *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Test*. Ed. ke-6. Approved Standard. M2-

- A6. Mayne: National Committee for Clinical Laboratory Standards.
- NCCLS. 1997b. *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Testing for Bacteria that Grow Aerobically*. Ed. ke-6. Approved Standard. M7-A5. Mayne: National Committee for Clinical Laboratory Standards.
- Prasad, R.N., Viswanathan, S., Devi, J.R., Nayak, V., Swetha, V.C., Archana, B.R., Parathasarathy, N. & Rajkumar, J. 2008. Preliminary phytochemical screening and antimicrobial activity of *Samanea saman*. *Journal of Medicinal Plants Research* 2(10): 268-270.
- Rukayah, A. 2006. *Tumbuhan Liar Berkhasiat Ubatan*. Kuala Lumpur: Dewan Bahasa dan Pustaka.
- SAS. 1994. *SAS User's Guide: Statistics Version 5*. Cary, NC.: SAS Institute Inc.
- Seidel, V. 2005. Initial and bulk extraction. Dlm. Sarker, S.D., Latif, Z., Gray, A.I. (pnyt.). *Natural Products Isolation*. Ed. ke-2. *Methods of Biotechnology Series*. No. 20, hlm. 323-351. Totowa: Humana Press.
- Su, Z.W. & Qiao C.Z. 1989. *Pharmacognosy*, Shanghai: Shanghai Medical University Press.
- Thomas, F.O. & John, M.S. 2006. Monitoring antimicrobial resistance. Dlm. Amabile-Cuevas, C.F. (pnyt.). *Antimicrobial Resistance in Bacteria*. New York: Taylor & Francis Inc.
- Topcu, G. & Goren, A.C. 2007. Biological activity of diterpenoids isolated from Anatolian Lamiaceae plants. *Records of Natural Products* 1(1): 1-16.
- Traub, W.H. & Leonhard, B. 1995. Heat stability of the antimicrobial activity of sixty-two antibacterial agents. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 35(1): 149-154.
- Wadt, N.S.Y., Ohara, M.T., Sakuda-Kaneko, T.M. & Bacchi, E.M. 1996. Antimicrobial activity of *Leonurus sibiricus* L. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 5(2): 167-174.
- Wang, J.M. 1985. *Chinese Herbal Pharmacology*, hlm. 14, 82-83. Shanghai: Shanghai Science & Technology Publisher.
- Wan Norhanizan, W.J. 2005. *Kesan Pemprosesan ke atas Ciri-Ciri Antimikrob Herba Kacangma (Leonurus sibiricus), Misai Kucing (Orthosiphon tamineus) dan Halia (Zingiber officinale)*. Tesis Ijazah Sarjana Sains, Fakulti Sains & Teknologi, Universiti Kebangsaan Malaysia.
- Woo, W.S., Lee, E.B. & Han B.H. 1979. Biological evaluation of Korean medicinal plants III. *Archives of Pharmacology Research* 2: 127-131.
- Zhu, Y.P. 1998. *Chinese Materia Medica: Chemistry, Pharmacology and Applications*. Australia: Harwood Academic.
- Chua Hun Pin\*  
 Pusat Penyelidikan Teknologi Makanan  
 Institut Penyelidikan dan Kemajuan Pertanian Malaysia  
 Stesen MARDI Kuching  
 Lot 411, Blok 14, Petra Jaya  
 93055 Kuching  
 Sarawak, Malaysia
- Aminah Abdullah  
 Program Sains Makanan  
 Pusat Pengajian Sains Kimia dan Teknologi Makanan  
 Fakulti Sains dan Teknologi  
 Universiti Kebangsaan Malaysia  
 43600 UKM Bangi  
 Selangor D.E.  
 Malaysia
- \*Pengarang untuk surat-menyurat; email: hpchua@mardi.gov.my
- Diserahkan: 23 Mac 2010  
 Diterima: 14 Disember 2010