

## Penentuan aktiviti antimikrob bagi beberapa aksesii kesum terpilih

(Determination of antimicrobial activity of selected kesum accessions)

Mohd Effendi Mohamed Nor, Ainon Dzahirah Zulkafli, Mirfat Ahmad Hasan Salahuddin, Muhammad Faidhi Towhid, Muhammad Faris Mohd Radzi dan Ahmad Syahman Mohd Dalee

### Pendahuluan

Kajian kefungsiian pokok-pokok herba telah lama diterokai sementelah ia digunakan dalam perubatan tradisional semenjak zaman dahulu lagi. Pertubuhan Kesihatan Dunia (WHO) dan *Food and Drug Administration* (FDA) telah menggalak dan membenarkan penggunaan herba dan bahan daripada tanaman dalam perubatan dan penghasilan ubat-ubatan. Permintaan terhadap ubatan dan bahan pengawet yang lebih selamat dan semula jadi bagi menggantikan ubat-ubatan dan pengawet sintetik telah meningkatkan penerokaan herba berfungsi. Kemunculan mikrob yang rintang terhadap antibiotik yang digunakan sekarang juga menyumbang kepada penerokaan dan kajian mencari sumber antimikrob alternatif daripada bahan-bahan semula jadi. *Staphylococcus aureus* (*golden staph* atau MRSA) dan *Neisseria gonorrhoea* sudah rintang sepenuhnya kepada *benzyl penicillin* yang didapati sudah kurang berkesan terhadap kebanyakan mikroorganisma daripada sistem pencernaan manusia. *Benzyl penicillin* atau sering dikenali sebagai *Penicillin* merupakan antibiotik yang sering digunakan dalam bidang perubatan dalam merawat penyakit disebabkan oleh jangkitan bakteria antaranya seperti penyakit jangkitan paru-paru (*pneumoniae*), gangren, sifilis, jangkitan kencing tikus (*leptospirosis*), tetanus dan jangkitan kuman dalam darah (*septicemia*). Kesum (*Persicaria minor*) ialah herba yang berasal dari negara Asia Tenggara terutama Malaysia, Thailand dan Indonesia yang digunakan sebagai bahan masakan dan perubatan tradisional. Sifatnya yang beraroma dapat memberi dan menambah rasa kepada masakan seperti asam pedas, kuah laksa, kerabu dan tomyam. Kesum kaya dengan pelbagai sebatian fitokimia seperti bahan fenolik dan flavonoid dengan kompoun utama ialah *quercertin* dan *quercitrin*. Bahan fitokimia ini memberi kefungsiian dan aktiviti biologi pada kesum seperti aktiviti antioksidan, antimikrob, antiradang dan antitoksik. Dalam perubatan tradisional, kesum digunakan dalam perawatan ulser, kelemumur, jangkitan kulat pada kulit dan senak perut. Terdapat beberapa kajian aktiviti antimikrob kesum yang telah dijalankan. Aktiviti biologi seperti antimikrob dan antioksidan boleh dijadikan saringan dalam menentukan kefungsiian sesuatu herba. Walau bagaimanapun, masih belum terdapat kajian antimikrob kesum daripada aksesii yang berlainan. Aksesii merujuk kepada tempat asal atau lokaliti di mana sesuatu herba itu

ditemui atau diperoleh. Lokaliti dipercayai mempengaruhi sifat dan ciri-ciri herba. Herba dari kawasan yang berbeza didapati mempunyai komposisi, juzuk dan ciri tumbuhan yang berbeza selain nama vernakular yang berbeza daripada spesies yang sama berdasarkan tempat ia tumbuh. Terdapat kajian melaporkan aksesori mempengaruhi kandungan sebatian fenolik dalam herba. Faktor-faktor lain seperti perubahan iklim, altitud, keadaan persekitaran, jenis tanah, suhu, kelembapan, teduhan dan lokasi memberi kesan kepada komposisi metabolit sekunder dalam tumbuhan. Dengan itu, objektif kajian ini adalah menentukan ciri-ciri antimikrob aksesori-aksesori kesum bagi menyaring dan memilih aksesori kesum elit dan terbaik.

### **Pengumpulan aksesori kesum**

Dalam kajian ini, aksesori kesum telah dikumpul dari pelbagai lokaliti di sekitar Selangor secara rawak. Dua aksesori diperoleh daripada plot penanaman komersial menggunakan penanaman berbatas dan bekas bertakung, manakala aksesori selebihnya hidup dalam saliran air di kampung-kampung. Dua jenis habit pertumbuhan yang dikenal pasti pada aksesori yang telah dikumpul ini iaitu jenis menegak dan menjalar. Maklumat koleksi dan jenis aksesori kesum yang dikumpul adalah seperti dalam *Jadual 1*. Semua keratan setiap aksesori ini ditanam semula di plot nurseri herba Pusat Penyelidikan Tanaman Industri, MARDI Serdang untuk kajian selanjutnya.

Jadual 1. Maklumat aksesori kesum yang dikumpul dari pelbagai lokaliti

Nama aksesori	Lokaliti	Latitud	Longitud	Habit pertumbuhan	Habitat
MKSM002	Sabak Bernam	N 3°36'12.4"	E 101°03'43.6"	Menjalar	Saliran air
MKSM004	Kuala Selangor	N 3°27'08.6"	E 101°09'12.7"	Menegak	Saliran air
MKSM006	Kuala Selangor	N 3°15'59.4"	E 101°20'51.1"	Menjalar	Komersial berbatas
MKSM011	Kuala Langat	N 2°53'20.7"	E 101°33'11.2"	Menegak	Saliran dapur
MKSM013	Klang	N 3°04'29.6"	E 101°23'44.1"	Menjalar	Komersial bertakung
MKSM020	Hulu Langat	N 3°05'30.9"	E 101°47'26.9"	Menjalar	Saliran dapur

### **Penyediaan sampel kajian dan ekstrak aksesori kesum**

Setiap aksesori kesum yang telah ditanam dituai pada minggu 16 selepas tanam. Daun dan batang aksesori kesum dibersihkan dan diracik-racik halus sebelum dikeringkan pada suhu 50 °C di dalam oven sehingga kandungan kelembapan turun ke 10%. Aksesori kesum yang telah dikering dikisar menggunakan pengisar industri

IKA sehingga menjadi serbuk. Serbuk setiap aksesori kesum ini diekstrak dalam larutan 70% metanol dengan nisbah 1:10 (w:v) dan digoncang di atas *orbital shaker* pada kelajuan 200 rpm selama dua hari sebelum ditapis menggunakan kertas tapis Whatmann No. 4 bagi mengasingkan serbuk dengan larutan ekstrak. Larutan ekstrak aksesori kemudian dikeringkan dalam kelalang bulat pada suhu 60 °C menggunakan *rotary evaporator* dalam keadaan vakum. Ekstrak setiap aksesori yang telah kering dikumpul dan berat dicatatkan dan dilarutkan dalam larutan *dimethyl sulfoxide* (DMSO) bagi mencapai kepekatan ekstrak 100 mg/mL. Ekstrak disimpan pada suhu 5 °C untuk analisis selanjutnya.

#### **Penentuan aktiviti antimikrob ekstrak aksesori kesum**

Analisis antimikrob dijalankan menggunakan teknik resapan cakera (*disc diffusion technique*) berdasarkan standard *National Committee for Clinical Laboratory* terhadap lima jenis bakteria patogenik iaitu *Bacillus cereus* ATCC 10876, *Cronobacter sakazakii* ATCC 29544, *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, *Listeria innocua* ATCC 33090 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Kelima-lima patogen ini dihidupkan dalam 9 mL larutan kaldu nutrien dan dieram dalam inkubator pada suhu 37 °C semalaman sebelum analisis dijalankan. Larutan inokulum bakteria yang telah dihidupkan dicairkan menggunakan larutan *Ringers* yang steril bagi mendapatkan kekeruhan inokulum setara kekeruhan standard McFarland 0.5. Sebanyak 100 µL inokulum bakteria dipindahkan ke atas agar Mueller Hinton (MH) yang steril di dalam piring Petri yang telah disediakan lebih awal dan diratakan menggunakan *cotton swab* yang steril. Cakera resapan (*susceptible blank disc*) diletakkan di atas agar MH. Sebanyak 20 µL ekstrak setiap aksesori kesum dititiskan ke atas cakera tersebut dan dibiarkan meresap. Cakera yang mengandungi antibiotik komersial iaitu *Penicillin* 0.5 µg (Oxoid) dijadikan sampel kawalan. Semua piring Petri dieram dalam inkubator pada suhu 37 °C selama 24 jam. Sebarang pembetulan zon perencatan di sekeliling cakera di atas agar MH selepas 24 jam diukur dan dicatatkan.

#### ***Penentuan kepekatan perencatan minimum [minimum inhibitory concentration (MIC)]***

Penentuan MIC ekstrak aksesori kesum dijalankan menggunakan kaedah *microdilution*. Ekstrak berkepekatan 100 mg/mL yang digunakan dalam analisis antimikrob dilakukan pencairan bersiri berganda bagi mendapatkan julat kepekatan ekstrak 0.19 – 100 mg/mL. Sebanyak 100 µL daripada setiap kepekatan dipipetkan ke dalam plat mikro telaga 96 sebelum ditambah dengan 100 µL inokulum bakteria daripada analisis sebelumnya. Plat mikro kemudian dieram dalam inkubator pada suhu 37 °C selama 24 jam. Larutan dalam setiap telaga plat mikro diperhatikan jika terdapat kekeruhan yang boleh dilihat atau tidak selepas 24 jam. Kepekatan ekstrak terendah yang tidak menunjukkan sebarang kekeruhan (tiada pertumbuhan bakteria) direkodkan sebagai MIC.

### Keputusan kajian

Aktiviti antimikrob ditunjukkan oleh diameter zon perencatan di atas agar Mueller Hinton selepas 24 jam pengeraman (*Jadual 2*). Setiap ekstrak aksesori memberikan diameter perencatan yang berbeza-beza justeru menandakan aktiviti antimikrob yang berbeza-beza terhadap setiap patogen yang diuji. Diameter zon perencatan yang diukur adalah antara 7.25 – 15.75 mm. Aktiviti antimikrob paling tinggi ditunjukkan oleh ekstrak aksesori MKSM002, MKSM004 dan MKSM006 terhadap *E. aerugenes* (masing-masing 14.12 mm, 14.25 mm dan 15.75 mm,) lebih tinggi secara bererti dibandingkan dengan antibiotik komersial, *Penicillin* (10 mm) dan ekstrak aksesori yang lain; MKSM011 (10.50 mm), MKSM013 (9 mm) dan MKSM020 (8.25 mm). Ekstrak aksesori MKSM002, MKSM004 dan MKSM006 juga menunjukkan aktiviti yang lebih tinggi terhadap *S. aureus* (masing-masing 11 mm, 11.75 mm dan 10.75 mm) dibandingkan dengan ekstrak aksesori yang lain. Tiada perbezaan signifikan dalam aktiviti antimikrob antara aksesori terhadap bakteria *B. cereus*, *C. sakazakii* dan *L. innocua*. Zon perencatan menandakan mikrob rentan terhadap ekstrak. Zon perencatan yang melebihi diameter 7 mm menunjukkan terdapat aktiviti antimikrob.

Dalam kajian antimikrob, kepekatan perencatan minimum (MIC) merujuk kepada kepekatan paling rendah ekstrak yang boleh merencat pertumbuhan mikrob. Nilai MIC ekstrak aksesori kesum ditunjukkan seperti dalam *Jadual 3*. Aksesori MKSM002 dan MKSM011 menunjukkan nilai MIC paling rendah yang boleh merencat patogen kajian iaitu 0.19 mg/mL, diikuti aksesori MKSM006 dan MKSM013 (0.39 mg/mL), MKSM020 (0.78 mg/mL) dan MKSM004 (1.56 mg/mL).

Kepelbagaian nilai dalam zon perencatan dan kepekatan perencatan minimum ekstrak membayangkan kekuatan dan perbezaan sebatian fitokimia dalam tumbuhan herba terhadap strain bakteria tertentu. Fisiologi spesies bakteria yang berbeza juga mempengaruhi keupayaan ekstrak herba untuk mengganggu pertumbuhan, sekali gus menyumbang kepada variasi dalam

Jadual 2. Diameter perencatan pertumbuhan patogen oleh ekstrak metanol aksesori kesum

Aksesori	Diameter perencatan (mm)				
	<i>B. cereus</i>	<i>C. sakazakii</i>	<i>E. aerugenes</i>	<i>L. innocua</i>	<i>S. aureus</i>
MKSM002	8.25 ± 1.50ghi	7.50 ± 0.57hi	14.12 ± 0.25b	9.75 ± 0.50cdefg	11.00 ± 0.81cd
MKSM004	9.75 ± 0.50cdefg	7.25 ± 0.50i	14.25 ± 2.98b	10.62 ± 3.19cde	11.75 ± 0.50c
MKSM006	8.25 ± 0.50ghi	8.25 ± 0.50ghi	15.75 ± 3.77b	9.00 ± 0.81defghi	10.75 ± 0.95cde
MKSM011	9.50 ± 0.57defgh	9.25 ± 0.50defghi	10.50 ± 1.00cdef	10.50 ± 0.57cdef	9.75 ± 0.50cdefg
MKSM013	8.75 ± 0.50efghi	9.00 ± 0.81defghi	9.00 ± 0.00defghi	8.75 ± 0.50efghi	9.75 ± 0.50cdefg
MKSM020	8.50 ± 0.57fghi	9.50 ± 1.29defgh	8.25 ± 0.50ghi	8.00 ± 0.81ghi	8.50 ± 0.57fghi
<i>Penicillin</i>	0j	11.00 ± 0.00cd	10.00 ± 0.00cdef	0j	40.00 ± 0.57a

Nilai min diikuti abjad yang sama menandakan perbezaan tidak signifikan

aktiviti antimikrob. Dapatan daripada kajian ini menunjukkan aksesori kesum mempunyai sifat antimikrob yang baik dan berpotensi untuk dikomersialkan sebagai agen antimikrob. Terdapat beberapa kajian terdahulu yang telah dijalankan bagi menentukan aktiviti antimikrob kesum melaporkan penemuan yang hampir sama dengan hasil kajian ini. Terdapat kajian melaporkan aktiviti ekstrak kesum terhadap patogen *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. pneumonia* dan *S. pyogenes* dengan julat diameter perencatan 7.33 – 19 mm dan kepekatan perencatan minimum (MIC) 3.12 dan 12.5 mg/mL. Manakala laporan yang lain pula membuktikan sifat antimikrob kesum terhadap patogen *S. aureus*, *E. coli* dan *E. faecalis* dengan julat diameter perencatan 7.30 – 19.50 mm dan kepekatan perencatan minimum 6.25 – 12.50 mg/mL. Kesum kaya dengan pelbagai sebatian fitokimia yang menyumbang kepada aktiviti antimikrob ini. Sebatian bioaktif seperti fenolik, flavonoid, alkaloid, aldehid dan terpenoid menyumbang kepada aktiviti antimikrob kesum. Terdapat kajian yang menemui 28 sebatian utama daripada ekstrak daun kesum dengan sebatian tertinggi ialah dodecanal, dekanal,  $\alpha$ -citral, drimenol, Z-citral, caryophyllene, euporone dan 2,4-heptadiena,2,6-dimetil.

### Kesimpulan

Hasil kajian ini menunjukkan aksesori kesum yang diperolehi dari beberapa lokaliti berbeza mempamerkan aktiviti antimikrob yang baik dan berpotensi. Aksesori kesum MKSM002 dan MKSM004 mempamerkan aktiviti antimikrob yang paling baik berdasarkan diameter perencatan dan kepekatan perencatan minimum yang diperolehi. Kajian lanjut yang lebih komprehensif boleh dijalankan bagi menentukan komposisi sebatian fitokimia dalam setiap aksesori bagi mengetahui lebih lanjut kesan lokaliti atau aksesori terhadap sifat antimikrob kesum seterusnya membangunkan agen antimikrob atau produk herba baharu berasaskan kesum. Kajian ini boleh dijadikan panduan dalam menyaring dan memilih aksesori elit kesum untuk pembangunan penanaman komersial.

### Penghargaan

Penulis ingin merakamkan ucapan terima kasih kepada semua yang terlibat dalam aktiviti penyelidikan ini dan kepada MARDI atas pembiayaan bagi menjayakan penyelidikan ini. Penyelidikan ini dibiayai oleh dana Projek Pembangunan Rancangan Malaysia Kedua belas (RMK-12) (PIC-507).

Jadual 3. Kepekatan perencatan minimum (MIC) ekstrak metanol aksesori kesum

Aksesori	MIC (mg/mL)
MKSM002	0.19
MKSM004	1.56
MKSM006	0.39
MKSM011	0.19
MKSM013	0.39
MKSM020	0.78

## Bibliografi

- Musa Ahmed, A., Razauden, M. Z., Wan Nur Atiqah, W. H., Amir Husni, M. S., Nik Ahmad Nizam, N. M., Zarita, Z., & Farediah, A. (2015). Antibacterial properties of *Persicaria minor* (Huds.) ethanolic and aqueous-ethanolic leaf extracts. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 5(2), 050–056.
- Ridzuan, P. M., Hairul Aini, H., Norazian, M. H., Shah, A., Roesnita, & Aminah K. S. (2013). Antibacterial and antifungal properties of *Persicaria odorata* leaf against pathogenic bacteria and fungi. *The Open Conference Proceedings Journal*, 4, (Suppl 2, M17), 71–74.
- 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.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. (1999). *Handbook of Methods*. 2nd Ed. CAB International. Washington, UK.

## Ringkasan

Kesum atau nama saintifiknya *Persicaria minor* ialah herba yang sinonim sebagai bahan masakan kerana memberi rasa dan aroma. Selain digunakan dalam masakan, kesum juga digunakan dalam perubatan tradisional kerana bersifat antioksidan, antimikrob, antiulser, antiinflamatori dan antitoksikiti. Kajian aktiviti antimikrob kesum telah banyak dilaporkan, tetapi maklumat tentang aktiviti antimikrob aksesori-aksesori kesum masih terhad. Objektif kajian ini adalah menentu dan menyaring aktiviti antimikrob enam aksesori kesum (MKSM002, MKSM004, MKSM006, MKSM011, MKSM013 dan MKSM020) yang diperolehi dan dikumpul dari pelbagai lokaliti di Selangor. Aktiviti antimikrob ekstrak aksesori kesum ini ditentukan melalui kaedah resapan cakera terhadap lima patogen iaitu *Bacillus cereus* ATCC 10876, *Cronobacter sakazakii* ATCC 29544, *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, *Listeria innocua* ATCC 33090 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Hasil kajian menunjukkan setiap aksesori mempamerkan aktiviti antimikrob yang baik dan berpotensi. Aktiviti antimikrob paling tinggi ditunjukkan oleh ekstrak aksesori MKSM002, MKSM004 dan MKSM006 terhadap *E. aerogenes* (masing-masing 14.12 mm, 14.25 mm dan 15.75 mm) lebih tinggi secara bererti dibandingkan dengan antibiotik komersial, *Penicillin* (10 mm) dan ekstrak aksesori yang lain; MKSM011 (10.50 mm), MKSM013 (9 mm) dan MKSM020 (8.25 mm). Ekstrak aksesori MKSM002, MKSM004 dan MKSM006 juga menunjukkan aktiviti yang lebih tinggi terhadap *S. aureus* (masing-masing 11 mm, 11.75 mm dan 10.75 mm) dibandingkan dengan ekstrak aksesori yang lain. Tiada perbezaan signifikan dalam aktiviti antimikrob antara aksesori terhadap bakteria *B. cereus*, *C. sakazakii* dan *L. innocua*. Aksesori MKSM002 dan MKSM011 menunjukkan kepekatan perencatan minimum paling rendah yang boleh merencat patogen kajian iaitu 0.19 mg/mL, diikuti aksesori MKSM006 dan MKSM013 (0.39 mg/mL), MKSM020 (0.78 mg/mL) dan MKSM004 (1.56 mg/mL).

## Summary

*Kesum* or its scientific name *Persicaria minor* is an herb that is synonymous as a cooking ingredient because it gives flavour and aroma. In addition to being used in cooking, *kesum* is also used in traditional medicine due to its property of antioxidant, antimicrobial, anti-ulcer, anti-inflammatory and anti-toxicity. Studies on the antimicrobial activity of *kesum* have been widely reported, but information about the antimicrobial activity of *kesum* accessions is still limited. The objective of this study is to determine and screen the antimicrobial activity of six *kesum* accessions (MKSM002, MKSM004, MKSM006, MKSM011, MKSM013 and MKSM020) obtained and collected from various localities in the state of Selangor. The antimicrobial activity of the extract of this accession of *kesum* was determined by the disc diffusion method against five pathogens; *Bacillus cereus* ATCC 10876, *Cronobacter sakazakii* ATCC 29544, *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, *Listeria innocua* ATCC 33090 and *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. The results of the study showed that each accession exhibits good and potential antimicrobial activity. The highest antimicrobial activity was shown by accession extracts MKSM002, MKSM004 and MKSM006 against *E. aerogenes* (14.12 mm, 14.25 mm and 15.75 mm, respectively) significantly higher than commercial antibiotic, Penicillin (10 mm) and other accession extracts; MKSM011 (10.50 mm), MKSM013 (9 mm) and MKSM020 (8.25 mm). Accession extracts MKSM002, MKSM004 and MKSM006 also showed higher activity against *S. aureus* (11 mm, 11.75 mm and 10.75 mm, respectively) compared to other accession extracts. There was no significant difference in antimicrobial activity between accessions against the bacteria *B. cereus*, *C. sakazakii* and *L. innocua*. Accession MKSM002 and MKSM011 showed the lowest minimum inhibitory concentration that can inhibit the pathogen which is 0.19 mg/mL, followed by accession MKSM006 and MKSM013 (0.39 mg/mL), MKSM020 (0.78 mg/mL) and MKSM004 (1.56 mg/mL).

## Pengarang

Mohd Effendi Mohamed Nor

Pusat Penyelidikan Tanaman Industri

Ibu Pejabat MARDI, Persiaran MARDI-UPM, 43400 Serdang, Selangor

E-mel: effendi@mardi.gov.my

Ainon Dzahirah Zulkafli, Mirfat Ahmad Hasan Salahuddin (Dr.), Muhammad

Faidhi Towhid, Muhammad Faris Mohd Radzi dan Ahmad Syahman Mohd Dalee

Pusat Penyelidikan Tanaman Industri

Ibu Pejabat MARDI, Persiaran MARDI-UPM, 43400 Serdang, Selangor

