

## ISOLASI DAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI MINYAK ATSIRI DAUN GUGUR *Eucalyptus staigeriana*

Dian Semaya Rehul Koresy<sup>1\*</sup>, Afghani Jayuska<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Tanjungpura,  
Jl. Prof. Dr. H. Hadari Nawawi, Pontianak

\*email: diankoresy@gmail.com

### ABSTRAK

Tanaman *Eucalyptus* dimanfaatkan bagian batang sebagai bahan baku kertas dan industri, namun pada bagian daun terdapat sebagai limbah. Daun *Eucalyptus* memiliki aroma yang khas sehingga berpotensi sebagai minyak atsiri. Isolasi minyak atsiri menggunakan metode destilasi uap bertujuan untuk mengetahui profil senyawa minyak atsiri daun gugur *E. staigeriana*. Aktivitas antibakteri minyak atsiri daun gugur *E. staigeriana* dilakukan dengan menggunakan bakteri uji *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Senyawa utama minyak atsiri *E. staigeriana*  $\alpha$ -pinen (33,06%),  $\beta$ -pinen (8,28%), dan limonen (22,44%). Aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa minyak atsiri daun gugur *E. staigeriana* memiliki aktivitas lemah menghambat bakteri *E. coli* dengan zona hambat sebesar 5,621 mm dan 5,377 mm pada 500  $\mu$ g/sumur dan 1000  $\mu$ g/sumur, dan tidak aktif menghambat bakteri *S. aureus* dan sebagai bakteriostatik.

**Kata kunci** : antibakteri, *Eucalyptus staigeriana*, minyak atsiri

### PENDAHULUAN

PT. Finnantara Intiga yang berada di provinsi Kalimantan Barat telah membudidayakan tanaman *Eucalyptus*. Tanaman ini banyak dimanfaatkan pada bagian batang sebagai bahan baku kertas atau industri sedangkan pada bagian daun terdapat sebagai limbah. Kebanyakan tanaman *Eucalyptus* yang diekstrak menggunakan daun segar, namun belum ada yang menggunakan daun gugur *Eucalyptus*. Daun *Eucalyptus* memiliki aroma yang khas sehingga dapat berpotensi sebagai minyak atsiri. Minyak atsiri termasuk golongan senyawa terpenoid memiliki aktivitas melawan bakteri, fungi dan virus (Cowan, 1999).

Famili *Myrtaceae* merupakan genus yang mencakup lebih dari 700 spesies yang ditemukan didunia, 300 spesies dapat diekstraksi menjadi minyak atsiri yang digunakan sebagai antiseptik, aroma dan pengawet makanan salah satu tanamannya yaitu *Eucalyptus* (Vuong *et al.*, 2015). Daun *Eucalyptus* merupakan salah satu sumber minyak atsiri yang banyak digunakan sebagai antiseptik, *repellent*, parfum dan obat-obatan. Contohnya minyak atsiri *Eucalyptus* yang diproduksi yaitu *E. globulus*, *E. kochii* dan *E. polybractea* karena memiliki kandungan sineol yang tinggi sebesar 77,02%, 97,32% dan 82,95% (Aldoghsim *et al*, 2018). Pohon *Eucalyptus* yang berukuran kecil dan sedang. Kulit batangnya tipikal *ironbark* yang keras, hitam dan berkerut. Bagian tanaman yang digunakan sebagai minyak atsiri adalah daun dan menghasilkan warna kuning pucat dari hasil penyulingan minyak atsiri yang merupakan ciri-ciri dari *Eucalyptus staigeriana*. *E. staigeriana* merupakan tanaman endemik Australia yang biasa disebut lemon *ironbark* karena memiliki kandungan limonen yang cukup tinggi yaitu sebesar 72,9 % dan 28,82 % (Shutes, 2013; Ribeiro *et al*, 2013; Maciel *et al*, 2010). Senyawa yang tergolong minyak atsiri dapat diaplikasikan sebagai aktivitas antibakteri dengan menggunakan bakteri Gram Positif dan Gram Negatif.

Daun gugur *E. staigeriana* berwarna coklat ini belum pernah diteliti dan belum diketahui potensi minyak atsiri. Minyak atsiri *E. staigeriana* memiliki senyawa yang berperan sebagai antibakteri dengan menggunakan bakteri *E. coli* sebagai Gram Negatif dan *S. aureus* sebagai Gram Positif.

## METODOLOGI PENELITIAN

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu seperangkat alat penyulingan, autoklaf, hotplate, jangka sorong, laminar *air tech*, neraca analitik, piknometer, mikropipet *Acura 825*, cawan petri, gelas beaker dan erlenmeyer 500 mL. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu akuades, agar-agar, ekstrak yeast, natrium klorida, natrium sulfat anhidrat dan pepton.

### Prosedur Kerja

#### Sampling dan preparasi sampel

Daun gugur *E. staigeriana* diambil sebanyak 4 kg dari Mengkiang, Kabupaten Sanggau, Kalimantan Barat. Sampel daun gugur *E. staigeriana* (jatuh dari pohon) dan berwarna coklat di cuci menggunakan air dan dikeringanginkan dalam ruangan. Setelah kering, daun dipotong-potong menggunakan gunting dan siap digunakan untuk destilasi minyak atsiri.

#### Isolasi Minyak Atsiri *Eucalyptus staigeriana*

Isolasi minyak atsiri *E. staigeriana* menggunakan metode destilasi uap. Sebanyak 4 kg potongan daun *E. staigeriana* dimasukkan kedalam ketel sampel dan air dimasukkan kedalam ketel air. Setelah itu, dilakukan penyulingan selama 4 jam dengan suhu berkisar 100-105°C. Minyak atsiri yang diperoleh kemudian ditambahkan natrium sulfat anhidrat lalu disaring. Rendemen minyak atsiri dihitung dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{Rendemen} = \frac{\text{Massa Minyak Atsiri yang diperoleh}}{\text{Massa sampel awal}} \times 100\%$$

#### Analisis GC-MS

Minyak atsiri daun gugur *E. staigeriana* dianalisis menggunakan GC-MS, merk Shimadzu varian QP-2010S. Instrumen ini menggunakan kolom kapiler Rtz-5 MS dengan panjang 30 meter, interval diameter 0,25 mm dan ketebalan kolom 0,25 µm. Mode injeksi berupa split, suhu oven 40°C selama 2 menit, suhu injeksi 310°C selama 10 menit. *Flow control mode* bertekanan 21,2 kPa, total *Flow* 94,7 mL/min, aliran kolom 0,66 mL/min dengan kecepatan linear 29,3 cm/sec, *split* ratio 138. Detektor yang digunakan FID (*Flame Ionization Detector*), dilanjutkan ke analisis MS dengan waktu 5-30 menit dengan kecepatan *scan* 1250 dan molekul *m/z* dimulai 40 berakhir *m/z* 600.

#### Peremajaan Bakteri Uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Stok bakteri uji ditanamkan ke dalam media padat NA (pepton 1,25%, natrium klorida 1,25%, yeast 0,5%, dan agar-agar 5%) kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 12-16 jam.

#### Kultur Bakteri Uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Kultur bakteri uji disiapkan dengan menanam satu ose koloni bakteri uji pada media cair NB (pepton 0,25%, natrium klorida 0,25%, dan yeast 0,1%) dengan dikocok menggunakan *shaker incubator* kecepatan 150 rpm pada suhu 37°C selama 16-18 jam.

#### Pembuatan Kontrol Positif

Kontrol positif dalam uji antibakteri dibuat dalam 0,01 gram tetrasiklin yang dilarutkan dalam 10 mL akuades steril. Antibiotik tetrasiklin dibuat dengan konsentrasi antibiotik 1 mg/mL yang dimasukkan ke dalam well 20 µL.

#### Uji Aktivitas Antibakteri

Aktivitas antibakteri minyak atsiri daun gugur *E. staigeriana* ditentukan dengan metode difusi sumur. Sebanyak 60 µL kultur bakteri dicampurkan dengan 20 mL media NA 40°C kemudian dituang je dalam cawan petri. Setelah media padat, dibuat sumur pada media. Sebanyak 20 µL minyak atsiri *E. staigeriana* (50 mg/ml) dimasukkan ke dalam sumur, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 16-24 jam. Kontrol positif digunakan tetrasiklin 20 µL (1 mg/mL) dan kontrol negatif digunakan pelarut etil asetat. Zona bening yang terbentuk kemudian diukur

menggunakan jangka sorong. Aktivitas zona bening dapat di kelompokkan menjadi empat, yaitu (Morales *et al*, 2003): aktivitas lemah (< 6 mm); aktivitas sedang (6-10 mm); aktivitas kuat (10-20 mm); aktivitas sangat kuat (20-30 mm).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi minyak atsiri daun gugur *E. staigeriana* dilakukan dengan metode destilasi. Destilat yang diperoleh merupakan campuran minyak dan air yang terpisah. Keadaan ini terjadi pada pemisahan minyak atsiri dengan uap air yang sering disebut hidrodestilasi (Sastrohamidjojo, 2017). Minyak atsiri ditampung ke dalam botol *via*l. Natrium sulfat anhidrat ditambahkan ke dalam botol *via*l yang berfungsi untuk mengikat sisa-sisa air yang terdapat dalam minyak atsiri. Massa jenis minyak atsiri daun gugur *E. staigeriana* yang diperoleh dari hasil destilasi 4 kg adalah 856,9 mg/mL. Hasil analisis GC-MS minyak atsiri didapatkan 16 komponen senyawa dari minyak atsiri daun gugur *E. staigeriana* (Tabel 1).

Table 1. Profil Senyawa dan Waktu Retensi Minyak Atsiri Daun Gugur *E. staigeriana*

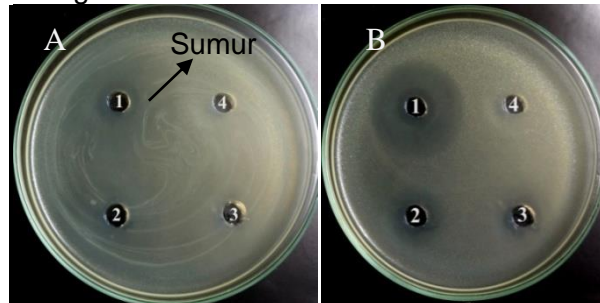
Senyawa Kimia	Minyak Atsiri			
	Daun gugur <i>E. staigeriana</i> , Indonesia (dalam penelitian ini)		Daun segar <i>E. staigeriana</i> , Brazil (Correa <i>et al</i> , 2019)	
	% Area	TR	% Area	TR
$\alpha$ -pinen	<b>33,06</b>	<b>8,864</b>	<b>0,83</b>	<b>8,171</b>
Camphane	3,41	9,272	-	-
$\beta$ -pinen	8,28	10,173	-	-
Limonen	<b>22,44</b>	<b>11,907</b>	<b>17,29</b>	<b>18,288</b>
o-cymene	2,49	11,704	0,44	22,305
$\gamma$ -terpinen	0,80	12,823	-	-
$\alpha$ -terpinolen	1,97	13,781	-	-
1,3,6-oktatriene, 3,7-dimethyl-	2,87	15,052	-	-
$\alpha$ -terpineol	1,12	16,974	-	-
Cyclohexasiloxan	3,71	20,424	-	-
Tetradecamethylcyloheptasixone	7,94	22,436	-	-
Trans-caryophyllen	4,86	23,634	-	-
$\alpha$ -humulen	0,64	24,523	-	-
Spathulenol	1,13	27,705	0,14	56,906
Globulol	2,02	27,872	-	-
Cyclododecasiloxane	3,25	29,589	-	-
1,8-cineol	-	-	6,16	18,743
Citronellol	-	-	1,31	45,092
$\alpha$ -phellandrene	-	-	0,28	16,268
Terpinen-4-ol	-	-	0,85	38,362
b-terpinen	-	-	0,62	20,901
Methyl geranate	-	-	3,78	42,226
Geranyl acetate	-	-	2,16	44,658
Linalool	-	-	1,3	35,767
Cis- $\beta$ -ocimene	-	-	0,3	21,397
Myrcene	-	-	0,47	16,494
$\delta$ -Careno	-	-	5,61	22,944
Cariofilene	-	-	0,26	37,84
Neral	-	-	<b>19,68</b>	<b>41,837</b>
Geranial	-	-	<b>28,67</b>	<b>43,921</b>
Nerol	-	-	1,72	46,462
Geraniol	-	-	3,77	48,243
Eugenol	-	-	0,18	57,636
Total	100		95,82	

- Tidak ada senyawa minyak atsiri

Tabel 2. Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Gugur *E. staigeriana*

Bakteri Uji	Diameter zona bening (mm)		
	Minyak atsiri daun gugur <i>E. staigeriana</i>		Tetrasiklin
	500 µg/sumur	1000 µg/sumur	20 µg/sumur
<i>E. coli</i>	5,621	5,377	6,121
<i>S. aureus</i>	-	-	-

- Tidak terbentuk zona bening



Gambar 1 Aktivitas antibakteri minyak atsiri daun gugur *E. staigeriana* melawan bakteri *S. aureus* (A); *E. coli* (B); 1. Tetrasiklin (20 µg/sumur); 2. Minyak atsiri *E. staigeriana* (500 µg/sumur); 3. Minyak atsiri *E. staigeriana* (1000 µg/sumur); 4. Etil asetat.

Hasil uji aktivitas antibakteri minyak atsiri daun gugur *E. staigeriana* menunjukkan aktivitas bakteri yang lemah menghambat *E. coli* dengan zona bening sebesar 5,621 mm dan 5,377 mm, dan tidak aktif menghambat bakteri *S. aureus* (Tabel 2; Gambar 1). Minyak atsiri *E. citriodora* dan *E. camaldensis* juga menunjukkan aktif melawan bakteri *E. coli* (20 mm dan 11 mm). Minyak atsiri *E. citriodora* aktif melawan bakteri *S. aureus* (18 mm), sedangkan minyak atsiri *E. camaldensis* tidak aktif melawan *S. aureus* (Mohammed *et al.*, 2001).

Minyak atsiri *E. staigeriana* termasuk dalam golongan senyawa terpenoid. Terpenoid memiliki aktivitas melawan bakteri, fungi, virus dan protozoa. Senyawa terpenoid bersifat antibakteri dikarenakan dapat menghambat pertumbuhan bakteri tertentu (Cowan, 1999). Senyawa  $\alpha$ -pinen dan limonen memiliki aktivitas terendah dalam antibakteri. Beberapa senyawa minyak *Eucalyptus* sp. memiliki peran dalam aktivitas antimikroba, senyawa tersebut adalah 1,8-cineole, linalool, pinocarveol, limonen, terpen-4-ol dan  $\alpha$ -terpineol (Inouye *et al.*, 2001; Vratnica *et al.*, 2011). Senyawa dengan konsentrasi rendah seperti  $\gamma$ -terpinen,  $\beta$ -pinen, camphene, dan o-cymene juga memiliki kontribusi dalam aktivitas antimikroba. Senyawa pinen dapat menghancurkan integritas sel serta menghambat respirasi dan transport ion (Zhu *et al.*, 2013). Senyawa minyak *E. staigeriana* diprediksi berperan sebagai antibakteri dalam penelitian ini adalah  $\alpha$ -pinen,  $\alpha$ -terpineol,  $\gamma$ -terpinen,  $\beta$ -pinen, camphene, o-cymene, dan limonen.

## SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka disimpulkan bahwa senyawa utama minyak atsiri daun gugur *E. staigeriana* berupa  $\alpha$ -pinen (33,06%),  $\beta$ -pinen (8,28%) dan limonen (22,44%). Aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa minyak atsiri daun gugur *E. staigeriana* memiliki aktivitas lemah menghambat bakteri *E. coli* dan tidak aktif menghambat bakteri *S. aureus*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aldoghaim, F.S., Gavin, R.F., and Katherine, A.H., 2018, Antimicrobial Activity of Several Cineole-Rich Western Australian *Eucalyptus* Essential Oils, *Microorganisms*, 122 (6) : 1-11.
- Correa, M.S., Joseli, S., Michele, B.M., Javerson, F., and Ana, P.G.F., 2019, Antimicrobial and Antibiofilm Activity of the Essential oil from Dried Leaves of *Eucalyptus staigeriana*, *Arquivos do Instituto Biologico*, 86 :1-8.
- Cowan, M.M., 1999, Plant Products as Antimicrobial Agents, *Clinical Microbiology Reviews*, 4(12):564-582.

- Inouye, S., Toshio, T., and Hideyo, Y., 2001, Antibacterial Activity of Essential Oils and their Major Constituents Against Respiratory Tract Pathogens by Gaseous Contact, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 47 : 566-673
- Maciel, M.V., Morais, S.M., Bevilaqua, C.M.L., Silva, R.A., Barros, R.S., Sousa, R.N., Sousa, L.C., Brito, E.S., and Souza-Neto, M.A., 2010, Chemical Composition of *Eucalyptus* spp. Essential Oils and Their Insecticidal Effects on *Lutzomyia longipalpis*, *Journal Veterinary Parasitology*, 167:1-7.
- Mohammed, G, Abe, AS, Inuwa, B, Babakura, MA, Sule, AM, and Hauwa, M., 2012, Comparative Evaluation of Ethno-Medicinal Use of two Species of *Eucalyptus* Plant as an Antimicrobial Agent, *Journal of Science and Technology*, 8 (2) : 548-550.
- Morales, G., Patricia, S., Arlett, M., Adrian, P., Luis, A.L., Oscar, G., and Jorge, B., 2003, Secondary Metabolites from Four Medicinal Plants from Northern Chile : Antimicrobial Activity and Biototoxicity Against *Artemia salina*, *Journal of the Chilean Chemical Society*, 1(49) :44-49.
- Sastrohamidjojo, H., 2017, Kimia Minyak Atsiri, UGM Press, Yogyakarta.
- Shutes, J., 2013, *Eucalyptus staigeriana* & fragonia, *Journal of Professional Holistic Aromatherapy*, 1 (2).
- Ribeiro, W.L.C., Iara,TFM, Jessica, MLS, Erick, F.O., Ana, L.F.C.V., Haroldo, C.B.P., and Claudia, M.L.B., 2013, Activity of Chitosan-encapsulated *Eucalyptus staigeriana* Essential Oil on *Haemonchus contortus*, *J. Experimental Parasitology*, 135:24-29.
- Vuong, Q.V., Chalmers, A.C., Bhuyan, J.D., Bowyer, M.C., Scarlett, C.J., 2015, Botanical Phytochemical, and Anticancer Properties of the *Eucalyptus* Species, *Chemistry Biodiversity*, 12 : 907-924.
- Vratnica, B.D., Tatjana, D., Danijela, S., and Jovanka, D., 2011, Antimicrobial Effect of Essential Oil Isolated from *Eucalyptus globulus* Labill. From Montenegro, *Czech Journal Food Science*, 3 (29) : 277-284.
- Zhu, L., Dai, J., Li, Y., and Jun, Q., 2013, Chemical Composition, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Essential Oil From *Wedelia Prostrata*, *Journal EXCLI*, 12 : 479-490.