

AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI METANOL DAN FRAKSI KLOOROFORM KAYU GAHARU BUAYA (*Aetoxylon sympetalum*) TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli*

Emelia^{1*}, Afghani Jayuska¹, Harlia¹

¹Program Studi Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Tanjungpura

Jl. Prof. Dr. H. Hadari Nawawi, Pontianak

*email: asmadiemelia@gmail.com

ABSTRAK

Gaharu buaya (*Aetoxylon sympetalum*) merupakan jenis tanaman Hasil Hutan Bukan Kayu (HHBK). Fraksi metanol dan fraksi kloroform kayu gaharu buaya memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Kedua bakteri tersebut sering mengalami resisten terhadap antibiotik, maka perlu dilakukan eksplorasi terhadap senyawa yang memiliki potensi sebagai antibakteri yang dapat mengatasi masalah infeksi. Oleh karena itu, pada penelitian ini telah dilakukan uji untuk mengetahui aktivitas ekstrak kayu gaharu buaya (*A.sympetalum*) terhadap bakteri *E.coli* dan *S.aureus*. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari fraksi metanol dan fraksi kloroform kayu gaharu buaya (*A.sympetalum*) terhadap bakteri *S.aureus* dan *E.coli* dan menentukan sifat antibakteri dari masing-masing fraksi. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi sumuran. Berdasarkan uji aktivitas antibakteri, diketahui bahwa ekstrak kayu Gaharu Buaya memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S.aureus* dan *E.coli* yang memiliki sifat bakteristatik ditunjukkan terbentuknya zona bening pada setiap fraksi. Fraksi metanol menghasilkan zona bening terhadap bakteri *E.coli* dengan zona hambat 9,7556 mm sedangkan terhadap bakteri *S.aureus* menghasilkan zona bening sebesar 8,2556 mm. Fraksi kloroform menghasilkan zona bening terhadap bakteri *S.aureus* dengan zona bening 8,3111 mm sedangkan terhadap bakteri *E.coli* menghasilkan zona bening sebesar 5,3667 mm.

Kata kunci : aktivitas antibakteri, *Escherichia coli*, gaharu buaya, *Staphylococcus aureus*

PENDAHULUAN

Gaharu merupakan hasil dari pohon yang mengalami infeksi secara alami maupun buatan dan menghasilkan kayu harum karena mengandung damar yang wangi (Tim Trubus, 2009). Gaharu buaya (*A.sympetalum*) merupakan salah satu jenis tanaman penghasil gaharu memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, flavonoid, steroid, terpenoid dan fenolik (Meidianto dkk, 2019). Beberapa jenis tanaman obat yang mengandung flavonoid, memiliki aktivitas antioksidan, antikanker, dan antibakteri (Artanti *et al.*, 2006). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Hadi (2015) bahwa daun gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lamk.) memiliki aktivitas antioksidan paling baik pada ekstrak kental metanol, sedangkan yang memiliki aktivitas antibakteri paling baik pada ekstrak kloroform.

Antibiotik merupakan obat yang mengandung zat kimia, yang dalam jumlah kecil dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme lain (Harmita dan Radji, 2008). Beberapa bakteri seperti bakteri *E.coli* dan *S.aureus* mengalami peningkatan kekebalan terhadap antibiotik. Hal ini dikarenakan penggunaan antibiotik secara terus menerus dan tidak sesuai dengan dosis. Menurut Agtini (2011), *E.coli* merupakan salah satu dari beberapa bakteri patogen yang menyebabkan diare pada anak. Riset kesehatan dasar (Riskesdas) juga menyatakan bahwa kematian pada bayi (31,4%) dan pada balita (25,2%) disebabkan oleh diare. Sedangkan *S.aureus* merupakan bakteri yang dapat menyebabkan 70% kasus infeksi nosokomial (Kayser, *et al* 2005).

Bakteri *E.coli* dan *S.aureus* sering mengalami resisten terhadap antibiotik, maka perlu dilakukan eksplorasi terhadap senyawa yang memiliki potensi sebagai antibakteri yang dapat mengatasi masalah infeksi. Oleh karena itu diperlukan penelitian untuk mengkaji sejauh mana

aktivitas fraksi metanol dan fraksi kloroform kayu gaharu buaya (*A. sympetalum*) terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah *autoclave*, bunsen, *hot plate*, jangka sorong, kapas, kasa, kawat ose, *laminary flow cabinet*, *micropipet*, neraca analitik, seperangkat alat gelas. Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah agar pura, amoksilin, bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, fraksi metanol dan fraksi kloroform kayu gaharu buaya (*Aetoxylon sympetalum*), kloroform, metanol, *Nutrient Agar* (NA) dan media *Nutrient Broth* (NB).

Prosedur Kerja

Preparasi alat dan bakteri

Preparasi alat dan bahan dimulai dengan proses sterilisasi alat. Sterilisasi alat dilakukan sebelum semua peralatan digunakan, yaitu dengan cara membungkus semua peralatan dengan menggunakan kertas kemudian dimasukkan dalam *autoclave* pada suhu 121°C dengan tekanan 2 atm selama 15 menit. Alat yang tidak tahan panas tinggi disterilisasi dengan alkohol 70% (Barrow and Feltham, 1992). Selanjutnya adalah peremajaan bakteri uji, yaitu sebanyak 1 ose bakteri uji diinokulasi pada media NA kemudian diinkubasi selama 24 jam. Pembuatan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dilakukan dengan cara mengambil isolat bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dari media NA sebanyak 1 ose kemudian dimasukkan dalam media NB dan diinkubasi selama 24 jam.

Pembuatan larutan kontrol positif dan negatif

Larutan kontrol positif yang dibuat dengan menggunakan amoksilin dengan konsentrasi 1 µg/µL yang dilarutkan dalam 10 ml akuades. Kontrol negatif yang digunakan adalah pelarut metanol dan pelarut kloroform.

Pengujian antibakteri dengan metode difusi sumuran

Media NA 20 mL dicampur dengan suspensi bakteri *S. aureus* dan *E. coli* sebanyak 60 µL dituangkan kedalam cawan petri dan dibiarkan 15-20 menit hingga padat. Setelah media padat, kemudian dibuat sumur. Masing-masing sumur dimasukan 20 µL larutan fraksi metanol dan fraksi kloroform, 20 µL kontrol positif dan 20 µL kontrol negatif. Pengujian ini dilakukan triplo pada masing-masing konsentrasi (50 µg/µL; 25 µg/µL; 12,5 µg/µL; 6,25 µg/µL; 3,125 µg/µL dan 1,5625 µg/µL). Media yang telah berisi bakteri uji diinkubasi pada inkubator selama 24 jam. Zona bening diukur menggunakan jangka sorong.

Analisis selanjutnya dilakukan analisis statistik dengan menggunakan uji *One Way ANOVA* untuk menentukan fraksi yang memiliki aktifitas antibakteri paling baik dengan membandingkan diameter zona bening yang terbentuk pada tiap fraksi. Pengujian *One Way ANOVA* dilakukan menggunakan tingkat keyakinan 95% dan α sebesar 5%.

Penentuan sifat antibakteri

Penentuan kemampuan sifat antibakteri dari masing-masing fraksi dilakukan dengan menggores 1 ose zona bening yang terbentuk pada media NA. Media NA yang telah digores diinkubasi pada inkubator selama selama 24 jam selanjutnya dilihat pertumbuhan bakteri dari goresan pada NA.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Preparasi bakteri dimulai dengan mensterilisasi alat yang digunakan untuk uji. Peralatan yang digunakan disterilisasi dalam *autoclave* pada suhu 121°C dengan tekanan 2 atm selama 15 menit. Alat yang tidak tahan terhadap suhu tinggi disterilisasi dengan alkohol 70% (Barrow and Feltham, 1992). Hal ini dilakukan untuk membersihkan alat-alat dari mikroorganisme. Penggunaan suhu 121°C dikarenakan pada tekanan 2 atm air akan mendidih, sehingga penggunaan suhu yang terlalu tinggi dikhawatirkan dapat memecahkan alat gelas didalamnya,

namun bila menggunakan suhu dibawah 121°C dikhawatirkan tidak dapat membersihkan mikroorganisme alat yang disterilisasi.

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi sumuran terhadap bakteri *S.aureus* dan *E.coli*. Media yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri ini adalah media padat NA. Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan kontrol positif dan kontrol negatif sebagai pembanding. Kontrol positif yang digunakan adalah antibiotik amoksisilin sedangkan kontrol negatif yang digunakan adalah pelarut dari masing-masing fraksi, yaitu kloroform dan pelarut metanol. Tujuan metode ini adalah untuk mengamati zona bening yang terbentuk terhadap bakteri uji agar hasil yang terlihat lebih jelas.

Diameter zona bening terbesar yang dihasilkan pada konsentrasi 50 µg/µL dari fraksi metanol terhadap bakteri *E.coli* adalah sebesar 9,7556 mm dan untuk bakteri *S.aureus* adalah sebesar 8,2556 mm. Konsentrasi terkecil dari fraksi metanol dengan konsentrasi 3,125 µg/µL terhadap bakteri *E.coli* sebesar 2,3493 mm dan terhadap *S.aureus* tidak terbentuk zona bening. Zona bening yang terbentuk pada fraksi metanol menunjukkan bahwa fraksi metanol dari kayu gaharu buaya memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S aureus* dan bakteri *E.coli*. Potensi antibakteri yang dimiliki fraksi metanol terhadap bakteri *E.coli* dikonsentrasi 50 µg/µL dan 25 µg/µL adalah sedang. Konsentrasi 12,5 µg/µL hingga konsentrasi 3,125 µg/µL potensinya adalah lemah dan pada konsentrasi 1,5625 µg/µL tidak aktivitas antibakteri karna tidak terbentuk zona bening. Potensi antibakteri fraksi metanol terhadap bakteri *S.aureus* dikonsentrasi 50 µg/µL adalah sedang. Konsentrasi 25 µg/µL hingga 6,25 µg/µL potensinya adalah lemah dan pada konsentrasi 3,125 µg/µL dan konsentrasi 1,5626 µg/µL tidak memiliki aktivitas antibakteri karena tidak terbentuknya zona bening, hal ini berbanding lurus dengan pernyataan dari Davis and Stout (1971) yang menyatakan bahwa zona bening dengan diameter <5 mm berpotensi lemah dalam menghambat pertumbuhan bakteri, sedangkan zona bening dengan diameter 5-10 mm berpotensi sedang dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Diameter 11-19 mm berpotensi kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri dan pada diameter >20 mm memiliki potensi yang sangat kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri (Tabel 1).

TABEL 1. Diameter Zona Bening pada Fraksi Metanol Kayu Gaharu Buaya Terhadap Bakteri Uji

Sampel Uji	Dosis µg/sumur	Diameter Zona Bening (mm) ± STD	
		<i>E.coli</i>	<i>S.aureus</i>
Fraksi metanol	1000	9.93 ± 0.813	8.4 ± 0.84
	500	7.63 ± 0.81	5.71 ± 0.94
	250	5.69 ± 1.11	4.66 ± 0.68
	125	5.31 ± 0.72	4.22 ± 0.33
	62.5	2.35 ± 0.27	-
	31.25	-	-
Kontrol positif		19.2±1.4	21.8±1.14
Kontrol negatif		-	-

*Keterangan STD : Standar Deviasi data dari 3 pengulangan

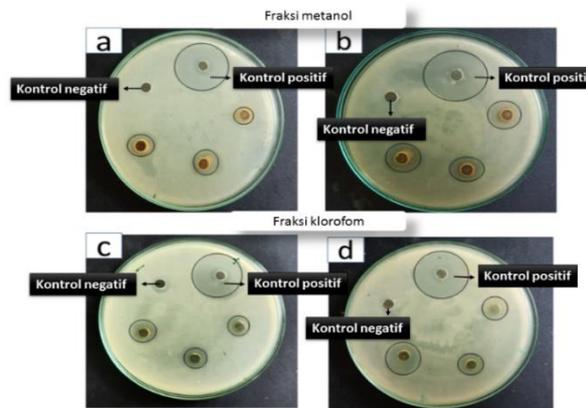
Diameter zona bening terbesar yang dihasilkan pada fraksi kloroform adalah sebesar 5,3667 mm terhadap bakteri *E.coli* dan pada bakteri *S.aureus* adalah sebesar 8.3111 mm. Hasil konsentrasi terkecil dari fraksi kloroform yaitu pada konsentrasi 6,25 µg/µL terhadap bakteri *E.coli* adalah sebesar 2,5333 mm dan pada bakteri *S.aureus* sebesar 2,7207 mm. Zona bening yang terbentuk dari fraksi kloroform menunjukkan bahwa fraksi kloroform memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S.aureus* dan bakteri *E.coli*. Potensi antibakteri yang dimiliki oleh pada fraksi kloroform terhadap bakteri *E.coli* dikonsentrasi 50 µg/µL sampai konsentrasi 6,25 µg/µL adalah lemah dan tidak terbentuk zona bening pada konsentrasi 3,125 µg/µL dan konsentrasi 1,5625 µg/µL. Potensi antibakteri pada bakteri *S.aureus* dikonsentrasi 50 µg/µL adalah sedang. Berbeda pada konsentrasi 25 µg/µL sampai 6,25 yaitu lemah dan pada konsentrasi 3,125 µg/µL hingga konsentrasi 1,5625 µg/µL tidak memiliki aktivitas antibakteri karena tidak terbentuknya zona bening (Tabel 2). Dibandingkan dengan zona bening yang diperoleh dari kontrol positif amoksisilin, kemampuan daya hambat fraksi metanol dan fraksi kloroform jauh lebih kecil, hal ini menunjukkan bahwa amoksisilin memiliki daya hambat yang lebih besar. Amoksisilin merupakan obat

semisintetis yang termasuk dalam golongan antibiotik kelas penisilin. Amoksilin, diketahui memiliki spektrum antibiotik yang luas terhadap bakteri gram positif dan gram negatif pada manusia maupun hewan. Mekanisme kerja dari amoksilin adalah dengan menghambat biosintesis dari mukopeptida dinding sel bakteri ketika bakteri bermultiplikasi (Kaur *et al.*, 2011).

TABEL 2. Diameter Zona Bening pada Fraksi Kloroform Kayu Gaharu Buaya terhadap 2 Bakteri Uji

Sampel Uji	Dosis µg/sumur	Diameter Zona Bening (mm) ± STD	
		<i>E.coli</i>	<i>S.aureus</i>
Fraksi kloroform	1000	5.53 ± 0.53	8.4 ± 0.55
	500	4.78 ± 0.65	5.86 ± 0.36
	250	3.1 ± 0.43	3.89 ± 0.59
	125	2.53 ± 0.32	2.72 ± 0.17
	62.5	-	-
	31.25	-	-
Kontrol positif		20.1 ± 0.45	21 ± 0.84
Kontrol negatif		-	-

*Keterangan STD : Standar Deviasi data dari 3 pengulangan



GAMBAR 1. Diameter zona bening yang dihasilkan pada konsentrasi 50 µg/µL (a) Fraksi metanol pada *E.coli* (b) Fraksi metanol pada *S.aureus* (c) Fraksi kloroform pada *E.coli* (d) Fraksi kloroform pada *S.aureus*

Zona bening yang dihasilkan dari fraksi metanol dan fraksi kloroform terhadap bakteri *S.aures* dan bakteri *E.coli* pada konsentrasi 50 µg/µL dilakukan dengan tiga kali pengulangan (triplo) (Gambar 1). Hasil uji menunjukkan bahwa dari masing-masing fraksi terbentuk zona bening yang menandakan bahwa kedua fraksi memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S.aureus* dan *E.coli*.

Penentuan kemampuan sifat antibakteri dari masing-masing fraksi dilakukan dengan menggores 1 ose zona bening yang terbentuk dari masing-masing fraksi pada media NA. Media NA yang telah digores dengan bakteri uji diinkubasi pada inkubator selama selama 24 jam untuk melihat pertumbuhan bakteri. Hasil goresan bakteri pada media NA sudah bisa diamati setelah 24 jam. Hasil goresan pada media NA dari bakteri *S.aureus* dan bakteri *E.coli* menunjukkan bahwa kedua bakteri bersifat bakteristatik ditunjukkan dengan adanya koloni yang muncul pada goresan di media NA (Gambar 2).



GAMBAR 2. Hasil uji bakteristatik terhadap bakteri *S.aureus* dan *E.coli* dari ekstrak gaharu buaya

Menurut Waluyo (2004) antibakteri memiliki beberapa sifat diantaranya ialah bakterisidal yang mampu menghentikan pertumbuhan bakteri dan mampu membunuh bakteri. Kedua bersifat bakteristatik merupakan antibakteri yang bersifat menghambat pertumbuhan bakteri namun tidak mematikan bakteri. Pertumbuhan koloni bakteri menunjukkan bahwa fraksi kloroform dan fraksi metanol mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan merusak sel bakteri karena adanya aktivitas antibakteri.

Berdasarkan penelitian Medianto (2019) fraksi metanol dan fraksi kloroform gaharu buaya (*A.sympetalum*) memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, flavonoid, terpenoid dan fenolik. Senyawa metabolit sekunder memiliki mekanisme kerja antibakteri yang berbeda-beda. Penghambatan pertumbuhan bakteri dari senyawa metabolit sekunder dimulai dengan merusak dinding sel. Alkaloid menghambat pertumbuhan bakteri dengan menghambat sintesis dinding sel (Lamothe *et al.*, 2009). Mekanisme kerja antibakteri pada flavonoid yaitu dengan menyebabkan kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom bakteri dan lisosom bakteri. Mekanisme kerja antibakteri pada terpenoid adalah bereaksi dengan porin pada membran luar dinding sel bakteri dan membentuk ikatan sehingga permeabilitas dinding sel bakteri akan mengganggu keluar masuknya nutrisi dan menghambat pertumbuhan bakteri. Menurut Robinson (1995) menjelaskan bahwa senyawa fenolik menghambat bakteri diduga dengan mengganggu komponen penyusun petidoglikan sel bakteri sehingga lapisan sel tidak terbentuk secara utuh.

SIMPULAN

Fraksi metanol dan fraksi kloroform memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E.coli* dan bakteri *S.aureus* karena terbentuknya zona bening pada kedua fraksi. Fraksi metanol menghasilkan zona bening dengan diameter sebesar 9,7556 mm pada bakteri *E.coli* dan 8,2556 mm pada bakteri *S.aureus*. Fraksi kloroform menghasilkan zona bening dengan diameter 5,3667 mm pada bakteri *E.coli* dan 8,3111 mm pada bakteri *S.aureus*. Fraksi metanol dan fraksi kloroform bersifat bakteristatik terhadap bakteri *E.coli* dan bakteri *S.aureus* ditandai dengan terbentuknya koloni bakteri *E.coli* dan *S.aureus* pada media *Nutrient Agar*. Hasil perbandingan zona bening fraksi metanol dan fraksi kloroform dengan kontrol positif amoksisilin, menghasilkan zona bening yang lebih kecil dibandingkan zona bening yang dihasilkan oleh amoksisilin, hal ini menunjukkan bahwa fraksi metanol dan fraksi kloroform memiliki daya hambat yang lebih kecil terhadap bakteri *S.aureus* dan *E.coli*.

DAFTAR PUSTAKA

- Agini, D. M., 2011, Morbiditas dan Mortalitas Diare pada Balita di Indonesia, Tahun 2000-2007, Kementerian Kesehatan RI, Jakarta.
- Artanti, N. M., and Hanafi, M. Y., 2006, Isolation and Identification of Active Antioxsidant Compound from Star Fruit Mistletoe *Dendrophthoe Pentandra* (Ethanol extract, *Journal of applied sciences* 6(8) 1659-1663).
- Barrow, G.I., and R.K.A. Feltham., 1993, *Cowan and Steel's Manual for the Identification of Medical Bacteria*, 3rd Edn, Cambridge University Press, Cambridge, London.

- Davis, W.W. and Stout, T.R., 1971, Disc Plant Methods of Microbiological antibiotic Assay, *Journal of Microbiology.*, 22:659-665.
- Hadi, H., 2015, Identifikasi Golongan Senyawa Antioksidan dan Antibakteri Ekstrak Daun Gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lamk), *Jurnal Fakultas Biologi Univeritas Gadjah Mada*, Yogyakarta.
- Harmita, dan Radji, M., 2008, Buku Ajar Analisis Hayati, Edisi 3, pp. 125-9, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta
- Kaur SP, Rao R, Nanda S. Amoxicillin: A Broad Spectrum Antibiotic. India. 2011;3(3):30-37.
- Kayser, F.H., Bienz, K & Eckert, J., 2005, Color Atlas of Medical Microbiology. Stuttgart. New York: Thieme Kementerian Pertanian. 2012, Statistik Konsumsi Pangan Tahun 2012, Jakarta: Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian Kementerian Pertanian.
- Lamothe, R.G., G. Mitchell, M. Gattuso, M.S. Diarra, F. Malouin, K. Bouarab. 2009. Plant Antimicrobial Agents and Their Effects on Plant and Human Pathogens. *International Journal Science* 10:3400- 3419.
- Meidianto, A., Jayuska, A dan Wibowo, M.A., 2019, Bioaktivitas Antirayap Ekstrak Kayu Gaharu Buaya (*Aetoxylon sympetalum*) Terhadap Rayap Tanah (*Coptotermes sp*), *Jurnal Kimia Khatulistiwa*.
- Tim Trubus., 2009, Info Kit Minyak Asiri Vol : 07, Trubus Swadaya
- Robinson, T. 1995. Kandungan Kimia Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi. (Skripsi). Bandung Institute of Technology, Bandung. (Indonesia)
- Waluyo, Lud., 2004, Mikrobiologi Umum, UMM PRESS, Malang