

## Skrining Aktivitas Antibakteri beberapa Ekstrak Tanaman terhadap Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus

Ratna Yuliani\*, Muhammad Nur Prasetyo, dan Sternatami Liberitera  
Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta  
\*Email: ratna.yuliani@ums.ac.id

### Keywords:

MRSA; antibakteri; ekstrak tanaman

### Abstrak

*Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) merupakan masalah serius dalam pengobatan infeksi sebab bakteri telah resisten terhadap beberapa antibiotik. Agen antibakteri yang dapat melawan MRSA sangat diperlukan untuk mengatasi masalah tersebut. Penelitian ini dilakukan untuk menguji aktivitas antibakteri beberapa ekstrak tanaman terhadap MRSA dan mengetahui senyawa aktif dari ekstrak dengan aktivitas antibakteri tertinggi.*

*Serbuk kering daun kemangi (*Ocimum sanctum*), daun sirih (*Piper betle*), daun pepaya (*Carica papaya*), bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*), kayu secang (*Caesalpinia sappan*), biji pala (*Myristica fragrans*), dan rimpang lengkuas (*Alpinia galanga*) diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan etanol 96%. Uji aktivitas antibakteri ekstrak dilakukan dengan metode difusi disk menggunakan 1 mg ekstrak/disk. Senyawa aktif antibakteri dalam ekstrak yang paling poten ditentukan dengan bioautografi.*

*Hasil uji menunjukkan bahwa ekstrak dapat menghambat pertumbuhan MRSA. Ekstrak bunga cengkeh mempunyai aktivitas anti-MRSA tertinggi dengan senyawa aktif antibakteri eugenol.*

### 1. PENDAHULUAN

Resistensi bakteri terhadap antibiotik adalah kekebalan bakteri penyebab infeksi terhadap antibiotik yang awalnya efektif untuk melawan bakteri tersebut [1]. Beberapa bakteri resisten yang menjadi perhatian internasional ialah *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Salmonella non typhoid*, *Shigella*, dan *Neisseria gonorrhoeae*. Data yang diperoleh menunjukkan bahwa 86% *S. aureus* telah resisten terhadap metisilin [2]. Di Indonesia, sebanyak 26 dari 68 (38,24%) sampel yang diuji di Rumah

Sakit Umum Daerah Abdul Moeloek Lampung merupakan bakteri MRSA. Bakteri tersebut diperoleh dari tenaga medis dan paramedis di ruang Intensive Care Unit (ICU) dan ruang perawatan bedah [3]. Di berbagai rumah sakit di Indonesia, prevalensi infeksi MRSA terus meningkat. Dari tahun 2001 sampai 2017 terjadi peningkatan kasus MRSA sebanyak 7,95% [4].

Peningkatan angka kejadian resistensi bakteri idealnya diiringi dengan peningkatan penemuan agen antibakteri yang poten untuk melawan bakteri resisten. Kenyataannya pengembangan antibakteri baru sangat kurang

dan penelitian tentang pengobatan alternatif sebagai pengganti antibiotik masih dalam tahap awal [2]. Alternatif senyawa pengganti antibiotik dapat diperoleh dari tanaman karena beberapa tanaman menghasilkan metabolit sekunder yang mempunyai aktivitas antibakteri [5].

Beberapa tanaman telah diteliti aktivitas antibakterinya terhadap *S. aureus*. Ekstrak tanaman yang telah terbukti mempunyai aktivitas terhadap *S. aureus* ialah daun sirih (*Piper betle*) [6], daun kemangi (*Ocimum sanctum*) [7], daun pepaya (*Carica papaya*) [8], bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) [9], kayu secang (*Caesalpinia sappan*) [10], biji pala (*Myristica fragrans*) [11], dan rimpang lengkuas (*Alpinia galanga*) [12]. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak tanaman tersebut terhadap MRSA dan senyawa aktif antibakteri dalam ekstrak dengan aktivitas tertinggi.

## 2. METODE

### 2.1. Alat

Alat-alat yang digunakan untuk penelitian ini adalah rotary evaporator (Heidolph), neraca analitik (Adventurer), penangas air (Memmert), autoklaf (Hirayama), oven (Memmert), inkubator (Memmert), incubator shaker (New Brunswick), Laminar Air Flow (LAF) (CV. Srikandi Laboratory), almari pengering, vorteks (Thermolyne Corporation), alat-alat gelas (Pyrex), blender, dan mikropipet (Socorex).

### 2.2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun kemangi (dari Pasar Kleco, Surakarta), daun sirih, bunga cengkeh, kayu secang, biji pala, dan rimpang lengkuas (dari Pasar Gede, Surakarta), daun pepaya (dari Desa Banyudono, Boyolali), etanol 96%, etanol 70%, akuades, dimetil sulfoksida (DMSO), media Mueller Hinton (MH), media Brain Heart Infusion (BHI),

larutan salin steril, lempeng silika gel GF 254, toluen p.a., dan etil asetat p.a.

## 2.3. Jalannya Penelitian

### 2.3.1. Ekstraksi

Seratus gram serbuk tanaman dimaserasi dalam 1 L etanol 96% selama 3 hari dan sesekali diaduk. Maserat disaring lalu diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C dan *waterbath* pada suhu 60°C hingga ekstrak mengental.

### 2.3.2. Pembuatan larutan ekstrak

Seratus milligram ekstrak dilarutkan dalam 1 mL pelarut yang sesuai untuk mendapatkan larutan 10%. Ekstrak kayu secang dan daun kemangi dilarutkan dalam etanol 96% sedangkan ekstrak daun pepaya, rimpang lengkuas, biji pala, bunga cengkeh, daun sirih dilarutkan dalam DMSO.

### 2.3.3. Uji aktivitas antibakteri ekstrak

Disk kosong ditetesi 10 µL larutan ekstrak 10% sehingga setiap disk mengandung 1 mg ekstrak. Disk kontrol pelarut ditetesi 10 µL pelarut ekstrak (DMSO atau etanol 96%). Media MH diinokulasi dengan 150 µL suspensi bakteri ( $1,5 \times 10^8$  CFU/mL). Disk diletakkan di atas media yang telah ditanami bakteri. Selanjutnya kultur diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Diameter zona hambat di sekitar disk diamati dan diukur untuk menentukan aktivitas antibakteri.

### 2.3.4. Kromatografi lapis tipis (KLT)

Larutan ekstrak bunga cengkeh ditotolkan ke lempeng silika lalu dielus dengan fase gerak toluen : etil asetat (93 : 7). Identifikasi golongan senyawa pada bercak hasil KLT dilakukan dengan mengamati bercak pada lampu UV 254 nm dan UV 366 nm. Lempeng disemprot dengan vanilin asam sulfat lalu dipanaskan dalam oven pada suhu 110°C selama 10 menit. Bercak diamati di bawah sinar tampak.

### 2.3.5. Bioautografi

Senyawa yang terkandung di dalam ekstrak dipisahkan dengan metode KLT.

Lempeng KLT ditempelkan pada media MH yang telah diinokulasi dengan 150  $\mu$ L suspensi bakteri ( $1,5 \times 10^8$  CFU/mL), lalu didiamkan selama 20 menit. Selanjutnya lempeng diambil dan kultur diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Senyawa aktif antibakteri akan menyebabkan zona hambat pada kultur bakteri.

### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 3.1. Uji aktifitas

Ekstrak daun kemangi, daun sirih, daun pepaya, bunga cengkeh, kayu secang, biji pala, dan rimpang lengkuas diuji aktivitas antibakterinya terhadap MRSA menggunakan metode difusi disk. Hasil uji menunjukkan bahwa ekstrak mempunyai aktivitas antibakteri yang ditandai dengan terhambatnya pertumbuhan bakteri di sekitar disk yang mengandung ekstrak (Tabel 1). Daerah hambatan pertumbuhan berupa zona radikal yaitu daerah yang tidak ditumbuhi bakteri uji dan zona iradikal yaitu daerah yang masih ditumbuhi bakteri uji dengan pertumbuhan yang kurang subur.

Aktivitas antibakteri antar ekstrak terhadap MRSA tidak sama. Ekstrak menunjukkan zona hambat dengan diameter yang bervariasi berkisar antara 8 sampai 12,5 mm. Zona hambat di sekitar ekstrak masih ditumbuhi bakteri dengan kepadatan yang lebih rendah dibanding kepadatan di luar zona hambat kecuali ekstrak bunga cengkeh yang zona hambatnya jernih. Walaupun diameter zona hambat ekstrak bunga cengkeh lebih kecil dibandingkan ekstrak rimpang lengkuas dan kayu secang, tidak adanya pertumbuhan pada zona hambat mengindikasikan bahwa diantara ekstrak yang diujikan, ekstrak bunga cengkeh mempunyai aktivitas antibakteri paling tinggi terhadap MRSA.

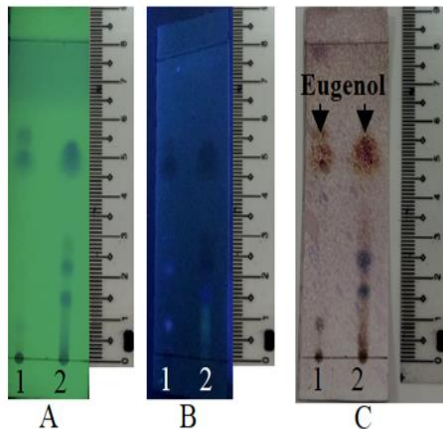
Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian sebelumnya. Ekstrak etanol bunga cengkeh mempunyai aktivitas antibakteri

terhadap isolat MRSA dengan nilai kadar hambat minimum 64- 512  $\mu$ g/mL dan diameter zona hambat 19-23 mm [13]. Ekstrak etanol bunga cengkeh dapat menghambat pertumbuhan MRSA dengan diameter zona hambat 12-21 mm [14]. Perbedaan hasil di antara penelitian kemungkinan disebabkan oleh perbedaan sensitivitas bakteri, konsentrasi ekstrak, penyari, asal tanaman, dan konsentrasi bakteri uji yang digunakan.

#### 3.2. Kromatografi Lapis Tipi

Kromatografi lapis tipis dilakukan untuk mengetahui senyawa yang terkandung dalam ekstrak bunga cengkeh. Pengamatan lempeng di bawah sinar UV 254 nm menunjukkan adanya 3 bercak pemataman pada ekstrak (Gambar 1). Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak bunga cengkeh mengandung senyawa yang mempunyai ikatan rangkap terkonjugasi. Pembanding eugenol diharapkan hanya mempunyai 1 bercak saja tetapi hasil KLT menunjukkan 4 bercak. Hal tersebut mengindikasikan bahwa pembanding eugenol yang digunakan tidak murni. Ketika lempeng diamati di bawah sinar UV 366 nm, pada ekstrak terlihat 2 bercak berfluoresensi biru dan bercak berwarna gelap di bagian atas sedangkan pada pembanding eugenol ada bercak yang berfluoresensi kuning, biru, dan bercak gelap. Setelah lempeng disemprot dengan vanilin-asam sulfat dan dipanaskan, pengamatan di bawah sinar tampak menunjukkan bercak berwarna coklat dan oranye-coklat pada ekstrak sedangkan pada pembanding eugenol terlihat 2 bercak berwarna biru dan bercak berwarna oranye-coklat. Bercak berwarna oranye-coklat pada ekstrak dan pembanding eugenol berada pada R<sub>f</sub> yang hampir sama. Senyawa eugenol jika disemprot dengan vanilin-asam sulfat akan berwarna kuning-coklat atau oranye-coklat [15].

**Tabel 1.** Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak terhadap MRSA, terlampir dibawah.



Gambar 1. Hasil Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Bunga Cengkeh. Lempong diamati di bawah sinar UV 254 nm (A), 366 nm (B), dan sinar tampak setelah disemprot vanilin-asam sulfat (C). 1: ekstrak etanol bunga cengkeh, 2: pembanding eugenol.

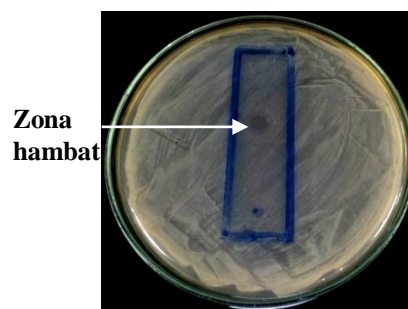
Bunga cengkeh mengandung banyak senyawa metabolit sekunder. Hasil analisis Gas Chromatography Mass Spectrometry (GC-MS) terhadap ekstrak metanol bunga cengkeh menunjukkan banyak senyawa yang terkandung di dalam ekstrak diantaranya eugenol; 1,2,3-benzentriol; kariofilen; dan eugenol asetat. Eugenol merupakan komponen utama ekstrak bunga cengkeh yang berperan dalam aktivitas antibakteri ekstrak [16]. Ekstrak air bunga cengkeh mengandung saponin, tanin, fenol, glikosida jantung, flavonoid, alkaloid, dan antrasen [17]. Penelitian lain melaporkan bahwa bunga cengkeh mengandung tanin, saponin, terpenoid, flavonoid, dan alkaloid [18]. Perbedaan kandungan ekstrak bunga di antara penelitian dapat disebabkan oleh perbedaan metode identifikasi, penyari, dan asal tanaman.

### 3.3. Bioautografi

Bioautografi dilakukan untuk mengetahui senyawa di dalam ekstrak bunga cengkeh yang bertanggung jawab terhadap aktivitas antibakteri. Hasil bioautografi menunjukkan adanya satu zona hambat

pertumbuhan bakteri MRSA pada daerah yang sebelumnya ditemplei lempeng silika hasil KLT (Gambar 2). Zona hambat tersebut berada di bagian atas bekas penempelan lempeng dan senyawa yang terdeteksi di daerah tersebut adalah eugenol. Kemungkinan besar senyawa pada ekstrak etanol bunga cengkeh yang berperan dalam menghambat pertumbuhan MRSA adalah eugenol.

Hasil penelitian ini didukung oleh penelitian-penelitian lain yang menyatakan bahwa eugenol mempunyai aktivitas antibakteri. Eugenol dapat menghambat pembentukan biofilm, mengganggu hubungan antar sel, melepaskan biofilm yang sudah terbentuk, dan membunuh MRSA [19]. Eugenol dengan konsentrasi 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri Gram positif dan negatif dengan kisaran diameter zona hambat 8,7-15 mm [20]. Pertumbuhan 30 strain *Helicobacter pylori* dapat dihambat oleh eugenol dengan konsentrasi 2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  [21]. Eugenol juga dilaporkan dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumoniae* [22].



**Gambar 2.** Hasil Bioautografi Ekstrak Bunga Cengkeh terhadap MRSA

Beberapa penelitian telah dilakukan untuk mengetahui mekanisme aksi eugenol sebagai antibakteri. Eugenol mengurangi viabilitas seluler dengan cara menginduksi pelepasan substansi sel. Hal tersebut mengindikasikan bahwa kematian sel disebabkan oleh lisis seluler. Eugenol juga

merusak envelope sel bakteri [23]. Eugenol sangat aktif dalam menyebabkan lisis dan kebocoran isi sel. Hasil scanning electron microscopy (SEM) menunjukkan bahwa eugenol menyebabkan kelainan bentuk sel. Selain itu, eugenol dapat menghambat produksi enzim beta laktamase dan aktivitas urease serta melemahkan pergerakan bakteri [24]. Pada *Salmonella typhi* eugenol meningkatkan permeabilitas membran, merusak membran sitoplasma, dan mengubah bentuk makromolekul pada membran [25]. Hal tersebut menunjukkan bahwa eugenol mempunyai beberapa mekanisme aksi antibakteri.

#### 4. KESIMPULAN

Ekstrak etanol bunga cengkeh berpotensi sebagai agen anti-MRSA dengan eugenol sebagai senyawa aktif antibakteri.

#### UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Universitas Muhammadiyah Surakarta yang telah mendanai penelitian ini dalam skim PID.

#### REFERENSI

- [1] World Health Organization. Antimicrobial Resistance. 2015. [cited 2015 May 6]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/en/>.
- [2] World Health Organization. Antimicrobial Resistance. Antimicrobial Resistance: Global Report in Surveillance, World Health Organization; 2014.
- [3] Mahmudah R, Soleha TU, Ekowati CN. Identifikasi methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) pada tenaga medis dan paramedis di ruang Intensive Care Unit (ICU) dan ruang perawatan bedah Rumah Sakit Umum Daerah Abdul Moeloek. *Medical Journal of Lampung University*. 2013; 2(3):70-78.
- [4] Sholikah B. Angka kasus MRSA meningkat. 2017. [cited 2017 August 19]. Available from: <http://nasional.republika.co.id/berita/nasional/umum/17/01/19/ojzjvy359-angka-kasus-mrsa-meningkat>.
- [5] Compean KL, Ynalez RA. Antimicrobial activity of plant secondary metabolites: a review, *Research Journal of Medicinal Plant*. 2014; 8(5): 204-213.
- [6] Khan JA, Kumar N. Evaluation of antibacterial properties of extracts of Piper betel leaf. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, 2011; 11(11): 1-3.
- [7] Karumari JR, Vijayalakshmi K, Tamilarasi L, Balasubramanian E. Antibacterial activity of leaf extracts of *Aloe vera*, *Ocimum sanctum* and *Sesbania grandiflora* against the Gram positive bacteria. *Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*. 2014; 04(35):60-63.
- [8] Aruljothi S, Uma C, Sivagurunathan P, Bhuvanewari M. Investigation on antibacterial activity of *Carica papaya* leaf extracts against wound infection-causing bacteria. *International Journal of Research Studies in Biosciences*. 2014; 2(11):8-12.
- [9] Pandey A, Singh P. Antibacterial activity of *Syzygium aromaticum* (clove) with metal ion effect against food borne pathogens. *Asian Journal of Plant Science and Research*. 2011; 1 (2):69-80.
- [10] Mohan G, Anand SP, Doss, A. Efficacy of aqueous and methanol extracts of *Caesalpinia sappan* L. and *Mimosa pudica* L. for their potential antimicrobial activity. *South Asian Journal of Biological Sciences*. 2011; 1(2):48-57

- [11] Ibrahim KM, Naem RK, Abd-Sahib AS. Antibacterial activity of nutmeg (*Myristica fragrans*) seed extracts against some pathogenic bacteria. *Journal of Al-Nahrain University*. 2013; 16(2):188-192.
- [12] Sunilson JAJ, Suraj R, Rejitha G, Anandarajagopal K, Kumari AVAG, Promwicht P. In vitro antimicrobial evaluation of *Zingiber officinale*, *Curcuma longa*, and *Alpinia galanga* extract as natural food preservatives. *American Journal of Food Technology*. 2009; 4(5):192-200
- [13] Mandal S, DebMandal M, Saha K, Pal NK. In vitro antibacterial activity of three Indian spices against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Oman Medical Journal*. 2011; 26(5):319-323.
- [14] Yadav J, Kumar P, Chaudary HS, Kushwah KS, Jain M, Chandoria RK, et al. The antibacterial potency of *Caryophyllus aromaticus* extracts against methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Pharmacy Research*. 2011; 4(10):3819-3820.
- [15] Wagner H, Bladt S. *Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas*. Berlin: Springer; 1996.
- [16] Hemalatha R, Nivetha P, Mohanapriya C, Sharmila G, Muthukumaran C, Gopinath M. 2016. Phytochemical composition. GC-MS analysis, in vitro antioxidant and antibacterial potential of clove flower (*Eugenia caryophyllus*) methanolic extract. *Journal of Food Science and Technology*. 2016; 53(2):1189-1198
- [17] Oshomoh EO, Idu M, Udinyiwe OC. Phytochemical screening and antimicrobial sensitivity of clove flower (*Syzygium aromaticum* L. Merrill and Perry) bud on dental pathogens. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Research*. 2015; 3(2):1-13.
- [18] Shailesh. Preliminary phytochemical and antimicrobial screening on *Syzygium aromaticum*, *Elettaria cardamomum* and *Piper nigrum* extracts. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 2015; 4(3):85-89.
- [19] Yadav MK, Chae S-W, Im GJ, Chung J-W, Song J. Eugenol: a phyto-compound effective against methicillin-resistant and methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* clinical strain biofilms. *Plos One*. 2015; March:1-21.
- [20] Sanla-Ead N, Jangchud A, Chonhenchob V, Suppakul P. Antimicrobial activity of cinnamaldehyde and eugenol and their activity after incorporation into cellulose-based packaging films. *Packaging Technology and Science*. 2012; 25:7-17.
- [21] Ali SM, Khan AA, Ahmed I, Musaddiq M, Ahmed KS, Polasa H, et al. Antimicrobial activities of eugenol and cinnamaldehyde against the human gastric pathogen *Helicobacter pylori*. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*. 2005; 4(20).
- [22] Dhara L, Tripathi A. Antimicrobial activity of eugenol and cinnamaldehyde against extended spectrum beta lactamase producing enterobacteriaceae by in vitro and molecular docking analysis. *European Journal of Integrative Medicine*. 2013; 5:527-536.
- [23] Bennis S, Chami F, Chami N, Rhayour K, Tantaoui-Elaraki, Remmal A. Eugenol induces damage of bacterial dan fungal envelope. *Moroccan Journal of Biology*. 2004; 1:33-39
- [24] El-Baky RMA, Hashem ZS. Eugenol and linalool: comparison of their antibacterial and antifungal activities.

African Journal of Microbiology  
Research. 2016; 10(44):1860-1872.  
[25] Devi KP, Nisha SA, Sakthivel R,  
Pandian SK. Eugenol (an essential oil of  
[26]

clove) acts as an antibacterial agent  
against *Salmonella typhi* by disrupting  
the cellular membrane. Journal of  
Ethnopharmacology. 2010; 130:107-115.

## Lampiran

**Tabel 1.** Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak terhadap MRSA

| No | Bagian Tanaman   | Rata-rata diameter zona hambat $\pm$ SD (mm) |                              |
|----|------------------|----------------------------------------------|------------------------------|
|    |                  | Ekstrak (1 mg)                               | Kontrol pelarut (10 $\mu$ l) |
| 1  | Daun pepaya      | 8 $\pm$ 0,71*                                | 6 $\pm$ 0 <sup>D</sup>       |
| 2  | Rimpang lengkuas | 12,5 $\pm$ 3,54*                             |                              |
| 3  | Biji pala        | 11 $\pm$ 1,41*                               |                              |
| 4  | Bunga cengkeh    | 8,75 $\pm$ 0,35**                            | 6 $\pm$ 0 <sup>D</sup>       |
| 5  | Daun sirih       | 8,5 $\pm$ 0,71*                              |                              |
| 6  | Kayu secang      | 11,75 $\pm$ 0,35*                            | 6 $\pm$ 0 <sup>E</sup>       |
| 7  | Daun kemangi     | 6,75 $\pm$ 0,35*                             |                              |

**Keterangan:**

Diameter zona hambat termasuk diameter disk (6 mm).

\* zona hambat masih ditumbuhi sedikit bakteri

\*\* zona hambat tidak ditumbuhi bakteri

D: DMSO

E: etanol