

# Uji Antibakteri Fraksi Aktif Ekstrak Aseton Kulit Batang *Shorea acuminatissima* terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* Multiresisten antibiotik

## **Antibacterial Activity of Active Fraction Aceton Extract from *Shorea acuminatissima* to *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* Multiple Resistance Antibiotic**

Imam Prayitno<sup>1)</sup>, Haryoto Saroyobudiyono<sup>2)</sup>, Peni Indrayudha<sup>3)</sup>

<sup>1, 2, 3)</sup> Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta

<sup>1, 2, 3)</sup> Surakarta; [imamapt@gmail.com](mailto:imamapt@gmail.com)

---

### Intisari

Penyakit infeksi merupakan masalah serius di Indonesia, termasuk di dalamnya resistensi mikroba terhadap obat-obatan yang ada. Salah satu tumbuhan hutan tropis Indonesia adalah *Shorea acuminatissima* yang termasuk dalam famili Dipterocarpaceae dan dilaporkan mempunyai kandungan senyawa fenolik dengan aktivitas biologi seperti antibakteri, antioksidan dan antifungi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari ekstrak aseton dan fraksi aktif ekstrak aseton terhadap *S. aureus* dan *P. aeruginosa* multiresisten antibiotik.

Ekstrak aseton diperoleh dengan metode maserasi, selanjutnya diuji aktivitas antibakterinya. Ekstrak aseton difraksinasi menggunakan kromatografi cair vakum (KCV). Setiap fraksi diuji bioautografi untuk melihat aktivitas antibakterinya menggunakan metode *filter paper disk* dengan bakteri uji *S. aureus* dan *P. aeruginosa*. Fraksi dengan zona hambat terbesar merupakan fraksi aktif. Kemudian dilakukan uji aktivitas antibakteri fraksi aktif ekstrak aseton. Kadar terkecil yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri disebut sebagai kadar bunuh minimum (KBM).

Hasil penelitian menunjukkan ekstrak aseton kulit batang *Shorea acuminatissima* mempunyai nilai KBM 0,25% b/v terhadap *S. aureus* multiresisten antibiotik dan nilai KBM 1% b/v terhadap *P. aeruginosa* multiresisten antibiotik. Fraksi aktif adalah fraksi C. Fraksi aktif mempunyai nilai KBM 0,125% b/v terhadap *S. aureus* multiresisten antibiotik dan nilai KBM 0,25% b/v terhadap *P. aeruginosa* multiresisten antibiotik.

**Kata kunci: *Shorea acuminatissima*, bioautografi fraksi aktif, *S. aureus* dan *P. Aeruginosa* multiresisten antibiotik, KBM**

### Abstract

Infection disease has a serious problem in Indonesia, including antibiotic resistance of microorganisms. One of the tropical forest plant in Indonesia is *Shorea acuminatissima* which included in Dipterocarpaceae and reported to have compound content of phenolic

with biological activity like antibacterial, antioxidant and antifungi. This research aim to know the antibacterial activities of acetone extract and active fraction of acetone extract to *S. aureus* and *P. aeruginosa* multiple resistance antibiotic.

Acetone extract obtained with maceration method, then tested the antibacterial activity. Later, acetone extract fractioned use Vacuum Liquid Chromatography (VLC). Each fraction tested by bioautographic to determine the antibacterial activities using a filter paper disc method with *S. aureus* and *P. aeruginosa*. Fraction with the biggest radical zone is an active fraction, then tested the antibacterial activity. The lowest concentration that kills bacterial growth conceived as Minimum Bactericidal Concentration (MBC).

Research show that acetone extract of *Shorea acuminatissima* stembark have the MBC values at 0,25% to *S. aureus* multiple resistance antibiotic and 1% to *P. aeruginosa* multiple resistance antibiotic. Active fraction is fraction C. Active fraction have the MBC values at 0,125% to *S. aureus* multiple resistance antibiotic and 0,25% to *P. aeruginosa* multiple resistance antibiotic.

**Keywords:** *Shorea acuminatissima*, bioautographic active fraction, *S. aureus* and *P. aeruginosa* multiple resistance to antibiotic.

---

## Pendahuluan

Penyakit infeksi merupakan salah satu masalah dalam bidang kesehatan yang dari waktu ke waktu terus berkembang (Gibson, 1996). *Staphylococcus* merupakan penyebab penting penyakit infeksi. Dalam keadaan normal *Staphylococcus* terdapat di saluran pernafasan atas, kulit, saluran cerna dan vagina. *Staphylococcus* dapat menimbulkan penyakit terutama bila daya tahan tubuh hospes sedang turun, misalnya sedang menderita infeksi virus atau ada benda asing. Infeksi kulit *Staphylococcus* mungkin termasuk penyakit infeksi yang paling sering, misalnya, lebih dari 1,5 juta kasus furunkulosis terjadi di Amerika Serikat setiap tahunnya (Shulman *et al.*, 1994). Bakteri lain yang juga berbahaya adalah *Pseudomonas aeruginosa*. *Pseudomonas aeruginosa* menyebabkan infeksi pada luka dan luka bakar, menghasilkan nanah warna hijau biru, meningitis jika masuk melalui fungsi lumbal, dan infeksi saluran kencing jika masuk melalui kateter dan instrumen atau karena larutan irigasi (Jawetz *et al.*, 2001).

Dalam pengobatan penyakit infeksi, masalah yang sering timbul adalah terjadinya resistensi. Resistensi bakteri terhadap antibiotik membawa masalah tersendiri yang dapat menggagalkan terapi antibiotik

(Wattimena, 1991). Meluasnya resistensi mikroba terhadap obat-obatan yang ada, mendorong pentingnya penggalian sumber antimikroba dari bahan alam. Tanaman obat diketahui potensial dikembangkan lebih lanjut pada penyakit infeksi namun masih banyak yang belum dibuktikan aktivitasnya secara ilmiah (Hertiani *et al.*, 2003).

Isolasi dan identifikasi senyawa stilbenoid dari tumbuhan famili Dipterocarpaceae telah banyak dilaporkan (Sotheeswaran and Pasupathy, 1993). Senyawa-senyawa stilbenoid dilaporkan memiliki berbagai aktivitas biologis yang menarik, salah satunya adalah distichol yang diisolasi dari *Shorea disticha* sebagai antibakteri (Sultanbawa *et al.*, 1987). *Shorea acuminatissima* termasuk dalam famili Dipterocarpaceae sehingga diperkirakan mengandung senyawa stilbenoid yang mempunyai aktivitas antibakteri. Beberapa oligostilbenoid atau resveratrol seperti shoreaketon berhasil diisolasi dari ekstrak aseton *Shorea uliginosa* (Ito *et al.*, 2005). Selain itu, vateriafenol A dan vateriafenol B juga berhasil diisolasi dari ekstrak aseton *Vateria indica* (Ito *et al.*, 2003).

Berdasarkan data-data dari penelitian tersebut, pada penelitian ini akan dilakukan fraksinasi ekstrak aseton kulit batang meranti kuning (*Shorea accuminatissima*) dengan metode Kromatografi Cair Vakum untuk mengetahui pada fraksi manakah ekstrak aseton kulit batang meranti kuning (*Shorea accuminatissima*) tersebut beraktivitas sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* multiresisten antibiotik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri fraksi aktif ekstrak aseton kulit batang meranti kuning (*Shorea accuminatissima*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* multiresisten antibiotik.

## Metode Penelitian

### Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit batang *Shorea accuminatissima* wilayah HPH PT Aya Yayang Indonesia Camp 63, Tanjung, Tabalong, Kalimantan Selatan, aseton teknis, etil asetat teknis, n-heksan teknis, silika gel GF<sub>254</sub> (Merck), *S. aureus* ATCC 25923, *P.aeruginosa* ATCC 27853, aquadest steril, media Mueller Hinton (Merck), media *Brain Heart Infusion* (Merck), *filter paper disk* steril, DMSO p.a dan Standard Mc. Farland (konsentrasi 10<sup>8</sup> CFU/mL).

### Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat gelas, alat timbang, alat maserasi, *rotary evaporator*, kolom KCV, cawan petri, *yellow tips*, *blue tips*, pipet tetes, ose steril, pinset, oven, autoklaf, lampu spiritus, labu takar, mikropipet, tabung reaksi, rak tabung.

### Jalannya Penelitian

#### 1. Determinasi Tanaman

Determinasi dilakukan di laboratorium Herbarium Bogoriense, Balai Penelitian dan Pengembangan Biologi, LIPI, Bogor, Indonesia, dan

spesimen disimpan di Herbarium tersebut.

#### 2. Penyiapan Bahan

Kulit batang meranti kuning (*Shorea accuminatissima*) dibersihkan, dikeringkan kemudian diserbuk untuk memperoleh ukuran partikel yang lebih kecil.

#### 3. Penyarian Bahan (serbuk)

Simplisia kulit batang meranti kuning (*Shorea accuminatissima*) sebanyak 10 bagian yaitu 3 kg disari dalam minimal 75 bagian penyari yaitu aseton 22,50 liter. Remaserasi dilakukan dengan cara serbuk sampel sebanyak 3 kg direndam selama 24 jam menggunakan 8 liter aseton dan selama perendaman dilakukan proses pengadukan. Semua sari yang diperoleh diuapkan sampai kental dengan menggunakan *rotary evaporator*, kemudian dikeringanginkan pada suhu kamar sampai bau asetonnya hilang.

#### 4. Pemilihan Fase Gerak untuk Fraksinasi

Pemilihan dilakukan dengan metode KLT preparatif menggunakan campuran pelarut organik yaitu n-heksana dan etil asetat dengan berbagai perbandingan.

#### 5. Fraksinasi Ekstrak Aseton

Pemasukan sampel ke dalam kolom KCV dilakukan dalam bentuk teradsorpsi atau diimpregnasikan ke dalam silika gel G 60 dengan perbandingan berat sampel terhadap silika gel minimum 1 : 2. Pada penelitian ini digunakan silika gel G 60 sebanyak 50 gram dengan berat sampel 25 gram. Fase gerak yang digunakan adalah n-heksan, etil asetat dan metanol dengan perbandingan volume yang bervariasi (Tabel 1).

Elusi dilakukan dengan fase gerak sebanyak 200 mL. Urutan pemberian fase gerak seperti pada Tabel 1. Tiap tampungan diperiksa dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) untuk kemudian dikelompokkan berdasarkan profil kromatogram yang sama.

Tabel 1. Fase Gerak untuk Elusi pada Fraksinasi Ekstrak Aseton

No	Perbandingan pelarut	Elusi	Volume Penambahan
1	n-heksan : etil asetat ( 5:5 )	2 kali	200 mL
2	n-heksan : etil asetat ( 4:6 )	4 kali	200 mL
3	n-heksan : etil asetat ( 3:7 )	4 kali	200 mL
4	n-heksan : etil asetat ( 2:8 )	4 kali	200 mL
5	n-heksan : etil asetat ( 1:9 )	2 kali	200 mL
6	Metanol 100 %	1 kali	200 mL

## 6. Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat-alat gelas yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri disterilkan dalam oven dan bahan-bahan yang digunakan, *yellow* dan *blue tips* disterilkan dalam *autoclave*, sedangkan ose disterilkan dengan memanaskannya pada api sesaat sebelum digunakan.

## 7. Penyiapan Suspensi Bakteri

Diambil beberapa koloni bakteri dari biakan murni, kemudian ditanam pada media Mueller Hinton dan diinkubasi 37°C selama 18-24 jam.

Dengan ose steril diambil koloni lalu ditanam pada 2 mL BHI cair dan diinkubasi selama 4-8 jam kemudian disesuaikan dengan standard Mc. Farland sampai diperoleh suspensi bakteri 10<sup>6</sup> CFU/mL.

## 8. Penyiapan Kontrol

Kontrol 1 merupakan kontrol negatif pertumbuhan yang berisi hanya media MH. Kontrol 2 berisi media MH yang diinokulasi suspensi bakteri sebagai kontrol positif pertumbuhan bakteri. Kontrol 3 berisi media MH yang telah dicampur dengan DMSO 5% dan diberi suspensi bakteri digunakan untuk mengetahui pengaruh pelarut DMSO 5% terhadap pertumbuhan bakteri. Ketiga kontrol tersebut diinkubasi pada suhu 37 °C selama 18-24 jam.

## 9. Uji Pendahuluan aktivitas antibakteri ekstrak aseton kulit batang meranti kuning terhadap *S. aureus* ATCC 25923, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *S. aureus* dan *P. aeruginosa* multiresisten antibiotik.

Larutan stok ekstrak kadar 4% b/v dibuat. Lima seri kadar dibuat dari

larutan stok dengan kadar masing-masing 4%; 2%; 1%; 0,5%; 0,25% b/v untuk uji terhadap *S. aureus* ATCC 25923 dan *P. aeruginosa* ATCC 27853 dan enam seri kadar dibuat dari larutan stok dengan kadar masing-masing 4%; 2%; 1%; 0,5%; 0,25%; 0,125% b/v untuk uji terhadap *S. aureus* dan *P. aeruginosa* multiresisten antibiotik. Suspensi bakteri 10<sup>6</sup> CFU/mL diambil 25 µL, kemudian ditanamkan pada masing-masing tabung yang mengandung seri konsentrasi ekstrak yang berbeda. Setelah itu diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C dan diamati hasilnya. Pengujian ini direplikasi sebanyak tiga kali.

Hasil pengamatan uji aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* ATCC 25923 menunjukkan bahwa sampai kadar terkecil yaitu 0,25% b/v tidak diketemukan adanya pertumbuhan bakteri. Maka dilakukan uji lanjutan aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* ATCC 25923 dengan seri konsentrasi 0,25%; 0,125%; 0,0625%; 0,03125% b/v. Suspensi bakteri 10<sup>6</sup> CFU/mL diambil 25 µL, ditanamkan pada masing-masing tabung yang mengandung seri konsentrasi yang berbeda. Setelah itu diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C dan diamati hasilnya. Pengujian ini direplikasi sebanyak tiga kali.

## 10. Bioautografi Fraksi Aktif Antibakteri

Beberapa fraksi dari ekstrak aseton kulit batang meranti kuning, dilakukan bioautografi dengan metode *filter paper disk*. Masing-masing fraksi dibuat stok sediaan konsentrasi 25mg/mL dengan melarutkan 25 mg fraksi dalam 1 mL aseton. Stok sediaan diambil 100 µL dan diimpregnasikan

pada disk kertas saring steril berdiameter 7 mm sehingga masing-masing disk kertas saring mengandung fraksi 2,5 mg kemudian disk kertas saring tersebut diletakkan pada permukaan media MH yang sebelumnya telah diinokulasi dengan *S. aureus* ATCC 25923 dan *P. aeruginosa* ATCC 27853 diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Diamati zona hambatan yang terbentuk. Fraksi dengan zona hambat terbesar adalah fraksi yang mempunyai aktivitas antibakteri terbaik dan disebut sebagai fraksi aktif.

#### 11. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Aktif ekstrak aseton kulit batang meranti kuning terhadap *S. aureus* ATCC 25923, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *S. aureus* dan *P. aeruginosa* multiresisten antibiotik.

Larutan stok fraksi aktif antibakteri kadar 1% b/v dibuat. Lima seri kadar dari larutan stok dibuat dengan kadar masing-masing 1%; 0,5%; 0,25%; 0,125%; 0,0625% b/v pada tabung steril. 25 µL suspensi bakteri 10<sup>6</sup> CFU/mL diambil, kemudian ditanamkan pada masing-masing tabung yang mengandung lima seri konsentrasi fraksi aktif yang berbeda. Setelah itu diinkubasi selama 18 -24 jam pada suhu 37°C dan diamati hasilnya. Pengujian ini direplikasi sebanyak tiga kali.

#### 12. Analisis Data

Data diperoleh dengan melakukan pengamatan ada tidaknya pertumbuhan bakteri pada media Mueller Hinton, dibandingkan dengan kontrol positif dan negatif. Kadar terkecil yang dapat membunuh bakteri disebut kadar bunuh minimum (KBM).

### Hasil dan Pembahasan

Determinasi tanaman dilakukan di laboratorium Herbarium Bogoriense Balai Penelitian dan Pengembangan Biologi, LIPI, Bogor, Indonesia, dan spesimen disimpan di

Herbarium tersebut. Hasil determinasi yang dilakukan, didapatkan bahwa tanaman tersebut adalah *Shorea accuminatissima*.

Simplisa kulit batang *Shorea accuminatissima* yang telah diserbuk, diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan larutan penyari aseton teknis. Maserasi dipilih karena merupakan ekstraksi cara dingin sehingga kerusakan senyawa yang terkandung di dalam simplisia dapat diperkecil dengan tidak adanya faktor panas.

Penyarian dimulai dengan merendam serbuk simplisia dengan larutan penyari aseton. Aseton merupakan pelarut yang dapat menarik senyawa senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh Shorea yaitu senyawa polifenol (Noviany, *et al*, 2003).

Pada saat maserasi yang harus diperhatikan adalah kondisi kesetimbangan, ketika aseton telah mencapai konsentrasi tertentu sehingga tidak lagi mampu menarik zat aktif. Hal tersebut dapat diminimalkan dengan menggantikan aseton setiap hari selama tiga hari. Setiap 24 jam dilakukan penyaringan dengan menggunakan kain flanel, filtrat yang diperoleh diuapkan sampai kental.

Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak aseton kulit batang meranti kuning terhadap *S. aureus* ATCC 25923 dan *S. aureus* multiresisten antibiotik menunjukkan bahwa ekstrak aseton memberikan nilai KBM sebesar 0,25% b/v sedangkan hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak aseton kulit batang meranti kuning dapat terhadap *P. aeruginosa* ATCC 27853 dan *P. aeruginosa* multiresisten antibiotik menunjukkan bahwa ekstrak aseton memberikan nilai KBM sebesar 1% b/v. Hasil tersebut dapat dilihat pada Tabel 2. Berdasarkan pada hasil uji tersebut maka penelitian dilanjutkan dengan melakukan uji aktivitas antibakteri pada fraksi dari ekstrak aseton kulit batang meranti kuning (*Shorea accuminatissima*).

Tabel 2. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Aseton Kulit Batang Meranti Kuning (*Shorea acuminatissima*) terhadap *S. aureus* ATCC 25923, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *S. aureus* dan *P. aeruginosa* Multiresisten Antibiotik.

Konsentrasi b/v)	(%)	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>P. aeruginosa</i> multiresisten antibiotik	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>S. aureus</i> multiresisten antibiotik
4		-	-	-	-
2		-	-	-	-
1		-	-	-	-
0,5		+	+	-	-
0,25		++	+++	-	-
0,125		+++	++++	++	++
K+		++++	++++	++++	++++
K			-	-	-

Keterangan :

(+) = Tumbuh

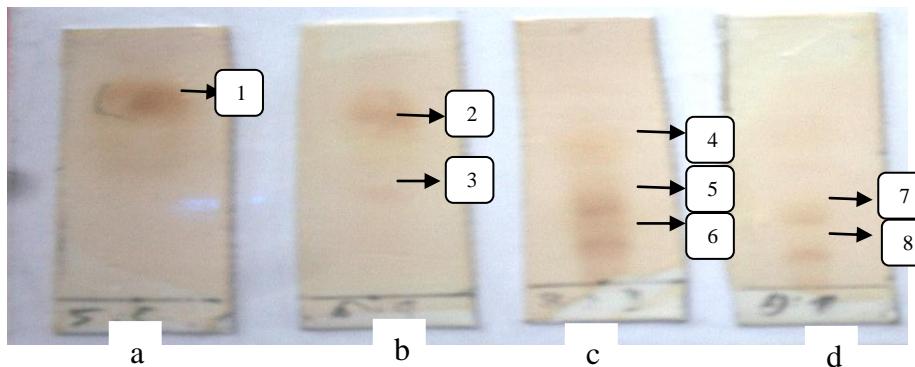
K- = Kontrol negatif (4,0 mL media MH)

(-) = Tidak tumbuh

K+ = Kontrol positif (4,0 mL media MH + 25 µL suspensi bakteri)

Metode fraksinasi dalam penelitian ini adalah Kromatografi Cair Vakum (KCV). Pemasukan sampel dalam kolom KCV dilakukan tidak dalam bentuk larutan, melainkan dalam bentuk teradsorpsi atau diimpregnasi ke dalam silika gel agar luas permukaan kontak antara sampel dan eluen besar.

Pemilihan fase gerak dilakukan dengan didahului orientasi fase gerak. Orientasi dilakukan dengan melarutkan ekstrak aseton dengan metanol dan ditotolkan pada plat KLT kemudian dielusi dengan fase gerak yang berisi campuran antara n-heksana dan etil asetat dengan berbagai perbandingan. Hasil kromatogram memperlihatkan spot yang ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Profil Kromatogram Orientasi Fase Gerak dengan Perbandingan Eluen Etil Asetat dan n-Heksana Berturut turut 5:5 (a); 6:4 (b); 8:2 (c); 9:1 (d)

Gambar 1 memperlihatkan adanya perbedaan pola kromatogram pada setiap perbandingan eluen n-heksana dan etil asetat. Pada eluen n-heksana-etil asetat (5:5) yang ditunjukkan kromatogram a. Sementara dengan eluen n-heksana-etil asetat (6:4) yang ditunjukkan kromatogram b, terlihat dua spot

terelusi dan terpisahkan dengan baik dengan Rf 0,63 dan 0,38. Kemudian kromatogram c terlihat adanya tiga spot dengan Rf berturut turut 0,5; 0,25 dan 0,13. Terakhir kromatogram d hanya ada dua spot dengan Rf 0,23 dan 0,1.

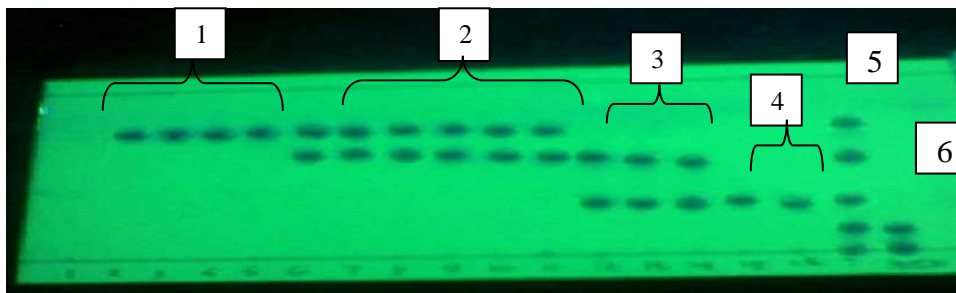
**Tabel 3. Perhitungan Harga Rf Kromatogram Elusi Ekstrak Aseton**

Spot	Jarak yang ditempuh bercak	Jarak pengembangan	Harga Rf
1	3,0cm	4cm	0,75
2	2,5cm	4cm	0,625
3	1,5cm	4cm	0,375
4	2,0cm	4cm	0,5
5	1,0cm	4cm	0,25
6	0,5cm	4cm	0,125
7	0,9cm	4cm	0,225
8	0,4cm	4cm	0,1

Fokus pemisahan akan terjadi pada perbandingan eluen etil asetat dan n-heksana (6:4), (7:3), dan (8:2), maka digunakan masing-masing empat kali elusi. Untuk mendapatkan pemisahan yang relatif lebih baik, eluen n-heksana-etil asetat (5:5) digunakan sebanyak dua kali elusi. Untuk memastikan bahwa semua komponen terelusi, eluen n-heksana-etil asetat (9:1) digunakan dalam dua kali elusi, sedangkan

untuk membersihkan kolom digunakan metanol.

Hasil fraksinasi yang mempunyai profil KLT yang sama (Gambar 2) digabung dan ditandai sebagai satu fraksi. Pada pemisahan ekstrak aseton kulit batang *Shorea accuminatissima* diperoleh empat fraksi (Tabel 4) kemudian ditentukan sifat fraksi tersebut apakah non polar, semi polar atau polar.



**Gambar 2. Profil Kromatogram Hasil Fraksinasi KCV pada UV 254**

Keempat fraksi yang diperoleh diuji bioautografi aktivitas antibakteri terhadap *P. aeruginosa* ATCC 27853 dan *S. aureus* ATCC 25923 untuk ditentukan fraksi yang aktif

sebagai antibakteri untuk kemudian ditentukan kadar bunuh minimum (KBM)-nya terhadap *P. aeruginosa* dan *S.aureus* multiresisten antibiotik.

**Tabel 4. Fraksi Ekstrak Aseton**

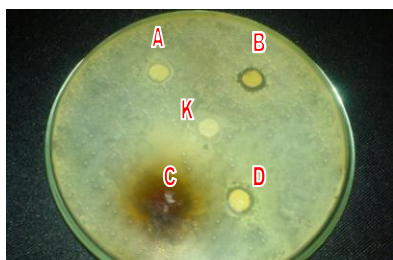
No	Fraksi	Eluan	Berat fraksi kering (gram)
1	A	1, 2, 3, 4, 5	1,739
2	B	6,7,8,9,10,11	1,0585
3	C	12,13, 14	7,2958
4	D	15, 16	0,2191
5	Ekstrak Aseton	17	-
6	Metanol	18	-

Metode bioautografi yang digunakan dalam penelitian ini adalah *filter paper disk* dengan menggunakan kertas saring yang diimpregnasi dengan masing-masing fraksi

untuk kemudian ditanam dalam media yang telah mengandung inokulum bakteri. Adanya aktivitas antibakteri ditunjukkan dengan

terdapatnya zona jernih (*zone radical*) pada

media agar yang telah diinokulasi bakteri.

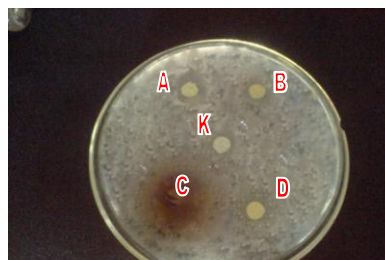


**Gambar 3. Hasil Uji Bioautografi terhadap *P. aeruginosa* ATCC 27853**

Keterangan :

- A : impregnasi fraksi A 2,5 mg
- B : impregnasi fraksi B 2,5 mg
- C : impregnasi fraksi C 2,5 mg

Hasil uji bioautografi terhadap *P. aeruginosa* ATCC 27853 menunjukkan bahwa pada fraksi B, C dan D terdapat zona hambatan dengan diameter masing-masing 10; 16; 10 mm. Sedangkan pada fraksi A dan kontrol negatif tidak terdapat zona hambatan. Hasil uji bioautografi terhadap *S. aureus* ATCC 25923 menunjukkan bahwa pada fraksi C terdapat zona hambatan dengan diameter 18 mm. Sedangkan pada fraksi A, B, D dan kontrol negatif tidak terdapat zona hambatan. Semakin besar diameter zona hambat, semakin besar pula aktivitas antibakterinya. Dengan demikian fraksi C yang memiliki zona hambatan terbesar merupakan fraksi aktif antibakteri



**Gambar 4. Hasil Uji Bioautografi terhadap *S. aureus* ATCC 25923**

- D : impregnasi fraksi D 2,5 mg
- K : Kontrol, disk kertas saring steril

terhadap *P. aeruginosa* ATCC 27853 dan *S. aureus* ATCC 25923.

Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi aktif ekstrak aseton kulit batang meranti kuning terhadap *S. aureus* ATCC 25923 dan *S. aureus* multiresisten antibiotik menunjukkan bahwa ekstrak aseton memberikan nilai KBM sebesar 0,125 % b/v. Sedangkan hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak aseton kulit batang meranti kuning dapat terhadap *P. aeruginosa* ATCC 27853 dan *P. aeruginosa* multiresisten antibiotik menunjukkan bahwa ekstrak aseton memberikan nilai KBM sebesar 0,25% b/v. hasil tersebut dapat dilihat pada Tabel 5.

**Tabel 5. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Aseton Kulit Batang Meranti Kuning (*Shorea acuminatissima*) terhadap *S. aureus* ATCC 25923, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *S. aureus* dan *P. aeruginosa* Multiresisten Antibiotik.**

Konsentrasi (% b/v)	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>P. aeruginosa</i> multiresisten antibiotik	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>S. aureus</i> multiresisten antibiotik
1	-	-	-	-
0,5	-	-	-	-
0,25	-	-	-	-
0,125	++	++	-	-
0,0625	+++	+++	+	+
K+	++++	++++	++++	++++
K	-	-	-	-

Keterangan :

- (+) = Tumbuh
- (-) = Tidak tumbuh

- K- = Kontrol negatif (4,0 mL media MH)
- K+ = Kontrol positif (4,0 mL media MH + 25 µL suspensi bakteri)



Bakteri *S. aureus* merupakan bakteri yang mewakili Gram positif, dan *P.aeruginosa* merupakan bakteri Gram negatif meskipun lapisan peptidoglikannya tebal, *S. aureus* tidak mempunyai selaput luar yang berfungsi untuk mencegah kebocoran dari protein periplasma dan melindungi sel dari garam-garam empedu dan enzim-enzim hidrokisi lingkungan luar seperti pada *P. aeruginosa*. Hal ini menyebabkan *P. aeruginosa* yang merupakan Gram negatif relatif tahan terhadap antibiotik atau senyawa-senyawa pengganggu lain dari luar dalam penelitian ini adalah senyawa yang terkandung dalam fraksi aktif yaitu fraksi C. *P. aeruginosa* lebih resisten terhadap disinfektan dari pada kuman lain. Kebanyakan antibiotik dan antimikroba tidak efektif terhadap *P. aeruginosa* (Jawetz *et al*, 2001), sehingga senyawa aktif yang terdapat pada fraksi aktif ekstrak aseton kulit batang *Shorea accuminatissima* lebih mudah menembus dinding sel *S. aureus* multiresisten antibiotik dibandingkan dengan dinding sel *P. aeruginosa* multiresisten antibiotik.

Bakteri kokus Gram positif memproduksi enzim degradatif (autolisin) yang berpartisipasi dalam *remodeling* dinding sel bakteri normal. Dengan adanya senyawa tertentu, aksi degradatif autolisin didahului dengan hilangnya sintesis dinding sel. Mekanisme autolitik yang sebenarnya tidak diketahui tetapi kemungkinan adanya penghambatan yang salah dari autolysin sehingga, efek antibakteri merupakan hasil penghambatan sintesis dinding sel bakteri dan destruksi keberadaan dinding sel oleh autolisin (Mycek *et al*, 1995).

Kandungan senyawa dalam fraksi aktif (fraksi C) ekstrak aseton kulit batang *S.accuminatissima* menurut Sugiyarto (2007) adalah senyawa fenolik. Senyawa fenolik dalam menghambat pertumbuhan bakteri yaitu dengan cara mendenaturasi dan mengkoagulasi protein. Turunan fenol berinteraksi dengan sel bakteri melalui mekanisme adsorpsi yang melibatkan ikatan hidrogen dengan gugus fenol. Pada kadar rendah terbentuk kompleks protein

yang terdapat pada dinding sel bakteri dengan fenol yang ikatannya lemah dan segera mengalami peruraian, diikuti penetrasi fenol ke dalam sel dan menyebabkan presipitasi serta denaturasi protein plasma. Pada kadar tinggi fenol mempengaruhi permeabilitas membran sel sehingga menimbulkan kebocoran dan kehilangan senyawa intraseluler (Kuswandi *et al*, 2000).

Hasil dari uji antibakteri pada ekstrak aseton kulit batang meranti kuning (*Shorea accuminatissima*) maupun fraksi aktifnya menunjukkan bahwa pada fraksi aktif ekstrak aseton memiliki aktivitas antibakteri lebih tinggi daripada ekstraknya. Hal ini dimungkinkan karena dalam ekstrak masih terdapat senyawa yang sangat kompleks, sehingga kadar senyawa yang bertanggungjawab terhadap aktivitas antibakteri yaitu senyawa fenolik sangat kecil. Berbeda dengan fraksi aktifnya yang susunan senyawanya lebih sederhana, hanya terdiri atas kumpulan senyawa fenolik. Sehingga kadar senyawa fenolik dalam fraksi aktif ekstrak aseton lebih tinggi daripada ekstraknya. Selain itu hasil uji antibakteri pada ekstrak aseton kulit batang *Shorea accuminatissima* maupun fraksi aktifnya terhadap *S. aureus* ATCC 25923 dan *S. aureus* multiresisten antibiotik memberikan nilai KBM yang sama. Demikian pula terhadap *P. aeruginosa* ATCC 27853 dan *P. aeruginosa* multiresisten antibiotik memberikan nilai KBM yang sama. Hal ini dimungkinkan karena senyawa yang terkandung dalam ekstrak maupun fraksi aktifnya mempunyai mekanisme antibakteri dan tingkat sensitivitas yang sama. Dengan kata lain, bakteri yang bersifat multiresisten antibiotik belum mempunyai mekanisme pertahanan diri (resistensi) terhadap senyawa antibakteri yang terkandung dalam ekstrak maupun fraksi aktifnya.

## Kesimpulan dan Saran

### A. Kesimpulan

1. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari ekstrak aseton kulit

batang *Shorea acuminatissima* terhadap *Staphylococcus aureus* multiresisten antibiotik adalah 0,25% b/v dan terhadap *Pseudomonas aeruginosa* multiresisten antibiotik adalah 1% b/v.

2. Fraksi aktif ekstrak aseton kulit batang *Shorea acuminatissima* yang mempunyai aktivitas antibakteri tertinggi adalah fraksi C.
3. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari fraksi aktif ekstrak aseton kulit batang meranti kuning (*Shorea acuminatissima*) terhadap *Staphylococcus aureus* multiresisten antibiotik adalah 0,125% b/v dan terhadap *Pseudomonas aeruginosa* multiresisten antibiotik adalah 0,25% b/v.

#### B. Saran

1. Perlu dilakukan pengujian aktivitas antimikroba terhadap bakteri jenis lain pada ekstrak maupun fraksi aktif ekstrak aseton kulit batang *Shorea acuminatissima*.
2. Perlu dilakukan isolasi senyawa murni dari fraksi C untuk kemudian diuji aktivitas antibakterinya.

#### Ucapan Terima Kasih

1. Drs. Haryoto Saroyobudiyono, M.Sc., selaku pembimbing utama yang telah memberikan banyak bimbingan dan arahan.
2. Peni Indrayudha, S.F., Apt., selaku pembimbing pendamping yang telah memberikan banyak bimbingan dan arahan.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Gibson, J.M., 1996, *Mikrobiologi dan Patologi Modern untuk Perawat*, diterjemahkan oleh IKG Soma Persada, I, Penerbit Kedokteran EGC, Jakarta.
- Hertiani T., Palupi, I.S., Sanliferianti, Nurwindasari, H.D., 2003, Uji Potensi Antimikroba terhadap *S. aureus*, *E. coli*, *Shigella dysenteriae*, dan *Candida albicans* dari Beberapa Tanaman Obat Tradisional untuk Penyakit Infeksi, *Pharmakon*, vol. 4 no.2, UMS, Surakarta.
- Ito, Tetsuro., Furusawa, M., Iliya, I., Tanaka, T., Ichi N. K., Sawa, R., Kubota, Y., Takahashi, Y., Riswan, S., Inuma, M., 2005, Rotational Isomerism of a Resveratrol Tetramer, Shoreaketone, in *Shorea uliginosa*, *Tetrahedron Letters*, **46** : 3111-3114.
- Ito, Tetsuro., Tanaka, T., Inuma, M., Ichi N. K., Takahashi, Y., Sawa, R., Naganawa, H., Chelladurai, V., 2003, Two New Oligostilbenes with Dihydrobenzofuran from the Stem Bark of *Vateria indica*, *Tetrahedron*, **59** : 1255-1264.
- Jawetz, E, Melnick, J.L., Adelberg, E.A., 2001, *Mikrobiologi Kedokteran*, edisi I diterjemahkan bagian mikrobiologi Fakultas Kedokteran UNAIR, 224-227, 233-235, Salemba Medika, Surabaya.
- Kuswandi, M., Irvati, S., Rahayu, T.D.R., Setyaningsih, A., 2000, Daya Antibakteri Minyak Adas Manis (*Foeniculum vulgare*) terhadap Bakteri Resisten Antibiotik, *Pharmakon*, vol. 1, No. 2, Desember 2000, 36 -41.
- Mycek, M. J., Harvey, R. A., Champe, P. C., 1995, *Farmakologi : Ulasan Bergambar*, diterjemahkan oleh Azwar Agoes, 2<sup>nd</sup> edition, Widya Medika, Jakarta.
- Noviany, Hakim, E.H., Achmad, S.A., Syah, Y.M., Juliawaty, L.D., Aimi, N, Ghisalberty, E.L., Choudhary, I.M., 2003, Beberapa Oligomer Stilbenoid dari Tumbuhan *Shorea multiflora* (Bruck), *Bulletin Society Natural Product Chemical* (Indonesia), ITB, Bandung.

- Shulman, S. T., Phair, J. P., Sommers, H. M., 1994, *Dasar Biologi dan Klinis Penyakit Infeksi*, diterjemahkan oleh Sawik Wahab, GMU Press, Yogyakarta.
- Sotheeswaran S. and Pasupathy V., 1993, Distribution of Resveratrol Oligomer in Plants, *Phytochemistry*, **32(5)** : 1083-1092.
- Sugiyarto, 2007, Uji Aktivitas Antijamur Fraksi B dan Fraksi C Ekstrak Aseton Kulit Batang Meranti Kuning (*Shorea acuminatissima*) terhadap *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533, *Skripsi*, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.
- Sultanbawa, M.U.S., Surendrakumar, S., dan Bladon, P., 1987, Distichol, An Antibacterial Polyphenol From *Shorea disticha*, *Phytochemistry*, 26, 799-801.
- Wattimena, J.R., 1991, *Farmakodinamis dan Terapi Antibiotik*, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta, 48.