



## Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Ethanol Daun Kayu Putih (*Melaleuca leucadendron L.*) terhadap Pertumbuhan *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)

### *Antibacterial Test Activities of White Wood Ethanol Extract (Melaleuca leucadendron L.) on Growth of Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA)*

Rifqi Ikhsanil Hakim<sup>1</sup>, Wildiani Wilson<sup>2</sup>, Sri Darmawati<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Diploma III Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang

<sup>2</sup>Program Studi Diploma III Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang

<sup>3</sup>Program Studi Magister Sains Laboratorium Medis, Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang

*Corresponding author:* ciciekdarma@unimus.ac.id

Riwayat Artikel: Dikirim; Diterima; Diterbitkan

#### Abstrak

Daun kayu putih dikenal oleh masyarakat Indonesia sebagai obat herbal atau obat tradisional karena manfaatnya yang dapat menyembuhkan penyakit. Daun kayu putih mengandung senyawa antibakteri yaitu 1,8-sineol,  $\alpha$ -pinene,  $\beta$ -pinen,  $\alpha$ -terpineol. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kayu putih terhadap pertumbuhan MRSA. Ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut ethanol 96%. Aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi sumuran dengan media MHA. Konsentrasi ekstrak(b/v) yang digunakan adalah 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, dan 100%. Hasil penelitian ini menunjukkan ekstrak ethanol daun kayu putih memiliki aktivitas antibakteri terhadap MRSA yang ditunjukkan oleh terbentuknya zona hambat berturut-turut pada konsentrasi (b/v) 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, dan 100% yaitu 17,2 mm; 18,1 mm; 19,1 mm; 19,4 mm; 19,7 mm; dan 20,1 mm.

**Kata kunci:** Ekstrak ethanol, daun kayu putih, MRSA

#### Abstract

*Eucalyptus leaves are known by the people of Indonesia as herbal medicine or traditional medicine because of its benefits that can cure diseases. Eucalyptus leaves contain antibacterial compounds, 1,8-sineol,  $\alpha$ -pinene,  $\beta$ -pinen,  $\alpha$ -terpineol. This study aims to determine the antibacterial activity of ethanol extracts of eucalyptus leaves on the growth of MRSA. Extraction using maceration method with 96% ethanol solvent. Antibacterial activity using the diffusion method of wells with MHA media. The extract concentration (w/v) used was 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, and 100%. The results of this study indicate that ethanol extract of eucalyptus leaves has antibacterial activity against MRSA which is shown by the formation of inhibitory zones respectively at concentrations (w/v) 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, and 100%, namely 17, 2 mm; 18.1 mm; 19.1 mm; 19.4 mm; 19.7 mm; and 20.1 mm.*

**Keywords:** Ethanol extract, Eucalyptus leaves, MRSA

## 1. PENDAHULUAN

Infeksi merupakan kondisi dimana adanya mikroorganisme masuk ke dalam tubuh dan menimbulkan gejala sakit. *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) adalah bakteri Gram-positif yang dikenal secara luas sebagai penyebab infeksi pada pasien pasca bedah dan pneumonia dengan angka resistensi tinggi (Yuwono, 2012). Infeksi yang terjadi dapat disebabkan oleh penggunaan dosis yang tinggi selama masa pengobatan, lamanya waktu perawatan, *carrier*, dan penggunaan alat-alat penunjang perawatan (Dellit *et al.*, 2004 dalam Putra *et al.*, 2014).

*Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) merupakan salah satu strain dari *S.*



*aureus* yang resisten terhadap beberapa antibiotik seperti golongan betalaktam (18%), rifampisin (6,7%), floroquinolon (84%), linezolid (1,3%), dan ampicillin (93,4%) (Azizah *et al.*, 2017). Sampai tahun 2014, angka kematian mencapai 700.000 akibat resistensi setiap tahunnya (Depkes RI, 2016).

Bahaya resistensi antibiotik saat ini menjadi masalah besar. Kasus yang terjadi di Queensland, Australia selama tahun 2000-2006 terdapat peningkatan infeksi *MRSA* dari 71 kasus menjadi 315 kasus per satu juta pasien (David dan Daum, 2010 dalam Rahmadiani *et al.*, 2015). Tahun 2010 proporsi *MRSA* diperkirakan sebesar 28% (Hongkong dan Indonesia) dan 70% (Korea) dari semua *isolate* klinik *S. aureus*, sedangkan *S. aureus* yang ditemukan dimasyarakat terkait di negara-negara Asia sangat bervariasi, dari 5% - 35% (Chen & Huang, 2014 dalam Nismawati *et al.*, 2018).

Terapi antibakteri dengan menggunakan obat kimia dapat menyebabkan angka resistensi bakteri yang terus meningkat. Oleh karena itu, harus ada pengembangan antibakteri dengan menggunakan bahan alami sehingga dapat digunakan sebagai alternatif menekan tingkat resistensi, dan salah satunya daun kayu putih.

Daun kayu putih (*Melaleuca leucadendron* L) diketahui mengandung senyawa antibakteri yang dikenal oleh masyarakat Indonesia sebagai obat herbal atau obat tradisional. Obat tradisional ini masih banyak digunakan masyarakat karena manfaatnya dalam penyembuhan penyakit (Helfiansah *et al.*, 2013). Pemanfaatan obat tradisional untuk menyembuhkan sakit tenggorokan, gatal-gatal, diare, radang usus, gangguan pernafasan dan sakit kepala serta tanaman kayu putih memiliki aktivitas antibakteri.

Pemanfaatan kayu putih sebagai obat dapat diperoleh dari semua bagian tanaman seperti daun, kulit batang, ranting, buah. Pengobatan dalam bentuk daun yang diremas halus lalu diletakan pada bagian yang sakit atau dapat juga dalam bentuk air rebusan daun kayu putih (Hariana, 2006 dalam Tuhi *et al.*, 2008).

Senyawa aktif yang terkandung dalam daun kayu putih segar menunjukkan minyak atsiri mengandung 32 komponen, tujuh diantaranya merupakan komponen utama yaitu  $\alpha$ -pinene (1,23%), sineol (26,28%),  $\alpha$ -terpineol (9,77%), kariofilen (3,38%),  $\alpha$ -kariofilen (2,76%), Ledol (2,27%), elemol (3,14%), dan daun kayu putih kering mengandung 26 komponen, tujuh komponen diantaranya merupakan komponen utama yaitu  $\alpha$ -pinene(1,23%), sineol(32,15%),  $\alpha$ -terpineol (8,87%), kariofilen (2,86%),  $\alpha$ -kariofilen (2,31%), Ledol (2,17%), dan El emol (3,11%) (Siregar, 2010). Pada penelitian sebelumnya minyak atsiri daun kayu putih pada konsentrasi 10% dapat menghambat bakteri *S. aureus* dengan zona hambat sebesar  $8,3 \pm 3$  mm (Ula, 2014), namun belum diketahui zona hambat ekstrak daun kayu putih terhadap bakteri *MRSA*.

## 2. METODE

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimentasi, karena menguji adanya aktivitas antibakteri ekstrak daun kayu putih terhadap pertumbuhan *MRSA* dengan menggunakan variasi konsentrasi 50% b/v, 60% b/v, 70% b/v, 80% b/v, 90% b/v, dan 100% b/v. Penelitian dilakukan pada bulan Mei 2019 di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Muhammadiyah Semarang. Obyek penelitian yang digunakan adalah bakteri *MRSA* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Muhammadiyah Semarang dan daun kayu putih diperoleh dari perkebunan perhutani KPH Gundih, Kecamatan Toroh, Kabupaten Grobogan. Ciri-ciri daun yang digunakan yaitu daun tunggal, bertangkai pendek, berbentuk lonjong dengan panjang 40 mm sampai 150 mm dan lebar 7,5 mm sampai 60 mm.

Alat yang digunakan dalam penelitian diantaranya timbangan analitik, seperangkat alat maserasi, batang pengaduk, gelas ukur, kasa, mikropipet, cawan petri, kapas, lampu spirtus,



autoclave, kertas Whatmann no.1, corong, inkubator, tabung reaksi, rak tabung, waterbath, blender. Bahan yang digunakan dalam penelitian diantaranya daun kayu putih, media *Blood Agar Plate* (BAP), media *Mueller Hinton Agar* (MHA), larutan NaCl fisiologis 0,85%, media *Brain Heart Infusion Broth* (BHI), media MSA, HIA, etanol, suspensi bakteri *MRSA*. dan standar *Mc Farland 0,5*.

### **Ekstrak Daun Kayu Putih**

Pemilihan metode untuk pembuatan ekstrak ini adalah metode maserasi. Serbuk ditimbang sebanyak 500 gram lalu direndam etanol dengan perbandingan 1:1 dan didiamkan selama 72 jam 3×24 jam ditempat yang sejuk dan terlindung dari cahaya sambil dilakukan pengadukan setiap 3 jam sekali selama 5 menit. Setelah 72 jam, hasil maserasi disaring menggunakan corong yang dilapisi kertas Whatmann no 1. Kemudian diambil filtratnya, lalu filtrat dilakukan evaporasi menggunakan rotary evaporator pada suhu 55 °C untuk memisahkan ekstrak dengan larutannya. Kemudian ekstrak dipekatan diatas waterbath sehingga dihasilkan ekstrak kental. Pada penelitian ini menggunakan 6 variasi pengenceran yaitu 50% b/v, 60% b/v, 70% b/v, 80 b/v, 90% b/v, dan 100% b/v.

### **Persiapan Bakteri**

Bakteri *S. aureus* di sub kultur pada media BHIB diinkubasi pada suhu 37°C selama 6-10 jam. Suspensi yang telah keruh dikultur pada media BAP diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Identifikasi koloni dilakukan berdasarkan bentuk ukuran warna, secara mikroskopis menggunakan pengecatan Gram. Uji Biokimia yang diujikan yaitu Uji MSA, Uji Koagulase, Uji Katalase, dan Uji Antibiotik dengan menggunakan *Oxacillin*. Bakteri yang sudah teridentifikasi *S. aureus* di kultur pada media HIA.

### **Uji Aktivitas Antibakteri**

Uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi menggunakan sumuran pada media MHA, bertujuan untuk menentukan konsentrasi ekstrak yang mempunyai kemampuan untuk menghambat pertumbuhan *MRSA*. Metode ini dilakukan dengan cara membuat suspensi bakteri *MRSA* dengan mengambil koloni murni *MRSA* dari media HIA dan dimasukkan ke dalam tabung yang berisi NaCl fisiologis dan disamakan kekeruhannya menggunakan larutan standar *Mc Farland 0,5* ( $1,5 \times 10^8$  CFU/ml). Sebanyak 100 µl suspensi dimasukkan dan diratakan pada media menggunakan ose bulat dan diamkan selama 5-10 menit agar bakteri meresap, setelah itu dibuat sumuran dengan menggunakan *cork borer*, lalu dimasukkan ekstrak kedalam setiap sumuran sebanyak 100 µl dengan konsentrasi variasi konsentrasi 50% b/v, 60% b/v, 70% b/v, 80 b/v, 90% b/v, dan 100%. Diameter sumuran yang digunakan sebesar 0,5 cm dengan ketebalan media MHA 0,6 cm serta jarak antar sumuran 2 cm.

Kontrol positif yang digunakan menggunakan antibiotik *Vancomycin* 30 µg dan kontrol negatif menggunakan aquadest. Pembacaan dilakukan dengan cara mengukur zona hambat dengan menggunakan penggaris.

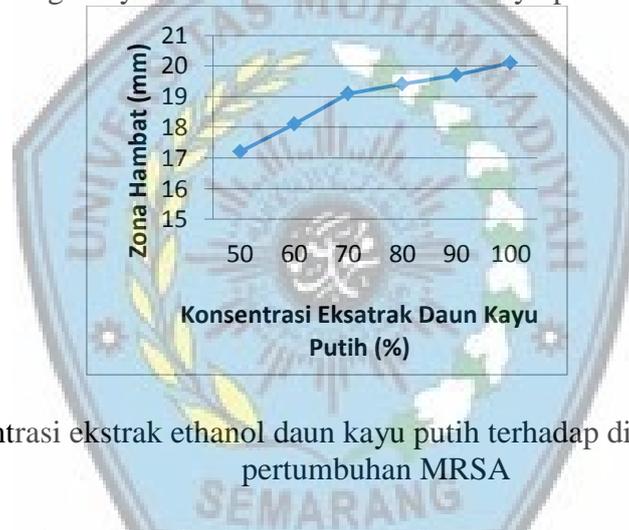
### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Ekstrak kental yang diperoleh sebanyak 44,17 gram. pengujian uji aktivitas antibakteri ekstrak daun kayu putih terhadap bakteri dengan memasukan ekstrak kedalam sumuran media MHA. Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan 6 variasi konsentrasi yaitu 50% b/v, 60% b/v, 70% b/v, 80 b/v, 90% b/v, dan 100% dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Nilai rata-rata diameter zona hambat aktivitas antibakteri ekstrak daun kayu putih terhadap bakteri MRSA.

Pengulangan	Diameter Zona Hambat (mm)					
	Konsentrasi (%)					
	50	60	70	80	90	100
P1	17,3	18	19,3	19,6	19,6	20
P2	17,3	18	19	19,6	19,6	20
P3	17	18,3	19	19,3	20	20,3
P4	17,3	18	19	19,3	19,7	20,3
<b>Rata-rata</b>	<b>17,2</b>	<b>18,1</b>	<b>19,1</b>	<b>19,4</b>	<b>19,7</b>	<b>20,1</b>
Kontrol +	20					

Zona hambat ekstrak ethanol daun kayu putih terhadap bakteri MRSA berdasarkan Tabel 1 rata-rata terendah pada konsentrasi 50% b/v dengan diameter zona hambat 17,2 mm dan rata-rata tertinggi pada konsentrasi 100% b/v dengan diameter zona hambat sebesar 20,1 mm. Hasil pengukuran diameter zona hambat menunjukkan ukuran diameter yang semakin bertambah dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak daun kayu putih seperti pada Gambar 1.

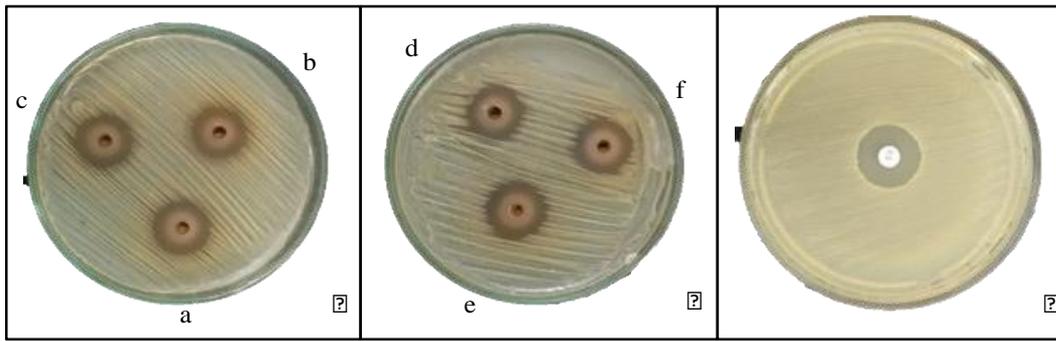


Gambar 1. Konsentrasi ekstrak ethanol daun kayu putih terhadap diameter zona hambat pertumbuhan MRSA

Diameter zona hambat ekstrak daun kayu putih terhadap pertumbuhan MRSA dan diameter kontrol positif dapat dilihat pada Gambar 2.

Gambar 2. Diameter zona hambat terhadap pertumbuhan MRSA

- A. Konsentrasi ekstrak 50% b/v (a), 60% b/v (b) dan 70% b/v (c)
- B. Konsentrasi ekstrak 80% b/v (d), 90% b/v (e) dan 100% b/v (f)
- C. Kontrol positif (*Vancomycin*)



A B C  
Gambar 2. Diameter zona hambat terhadap pertumbuhan MRSA  
A. Konsentrasi ekstrak 50% b/v (a), 60% b/v (b) dan 70% b/v (c)  
B. Konsentrasi ekstrak 80% b/v (d), 90% b/v (e) dan 100% b/v (f)  
C. Kontrol positif (Vancomycin)

## PEMBAHASAN

Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak daun kayu putih pada konsentrasi (b/v) 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, dan 100% menunjukkan adanya perbedaan diameter zona hambat dimana pada konsentrasi (b/v) 50% (17,2 mm), 60% (18,1 mm), 70% (19,1 mm), 80% (19,4), 90% (19,7 mm), dan 100% (20,1) seperti data yang ditunjukkan pada Tabel 1.

Semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun kayu putih maka akan semakin tinggi pula kandungan senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak daun kayu putih tersebut. Oleh karena itu, ukuran diameter zona hambat yang terbentuk akan berbeda-beda. Faktor lain yang mempengaruhi aktivitas antibakteri antara lain konsentrasi ekstrak, kandungan senyawa antibakteri, dan jenis bakteri (Jawartz, 2010).

Penelitian sebelumnya oleh Ula (2014), ekstrak daun kayu putih yang diujikan terhadap bakteri *S. aureus* dengan konsentrasi 10%, 15%, 20%, 25% berturut-turut mendapatkan hasil 8,3 mm; 9,8 mm; 11 mm; 12,2 mm, sedangkan pada penelitian ini menggunakan bakteri uji MRSA dengan zona hambat seperti pada Tabel 1. Daya hambat ekstrak daun kayu putih ini terbentuk karena beberapa komponen yang terkandung di dalamnya, diantaranya 1,8-sineol,  $\alpha$ -pinene,  $\beta$ -pinen, dan  $\alpha$ -terpinolen yang memiliki aktivitas antibakteri ( Kulkarni et al., 2012 dalam Ula et al., 2014).

1,8 sineol,  $\alpha$ -pinene,  $\beta$ -pinen, dan  $\alpha$ -terpinolen merupakan senyawa antibakteri dengan spektrum luas, keempat kandungan senyawa antibakteri daun kayu putih di atas merupakan golongan monoterpen hidrokarbon. Mekanisme kerja dari monoterpen hidrokarbon adalah mendisintegrasi membran terluar dari bakteri. Aktivitas antibakteri keempat senyawa tersebut dalam menghambat pertumbuhan bakteri yaitu melalui proses terbentuknya dinding sel, merusak membran sel, menghambat kerja enzim, dan menghancurkan material genetik yang ada pada bakteri (Bassole & Rodolfo, 2012 dalam Ula et al., 2014) (Carson, 2002).

Kontrol positif pada penelitian ini menggunakan disk antibiotik Vancomycin 30 $\mu$ g, fungsi kontrol positif sebagai kontrol dari zat uji, dengan membandingkan zona hambat yang terbentuk. Kontrol negatif pada penelitian ini menggunakan aquadest, fungsi kontrol negatif untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh pelarut terhadap pertumbuhan bakteri sehingga terbentuknya zona hambat terbentuk oleh zat uji bukan pelarut. Kekuatan daya hambat kontrol positif terhadap MRSA menurut CLSI (2014) dapat dilihat pada Tabel 2.



Tabel 2. Diameter Daya Hambat Vancomycin berdasarkan CLSI (2014)

Diameter Zona Terang (mm)	Respon Hambatan Pertumbuhan
$\leq 15$	Resisten
16-20	Intermediet
$\geq 21$	Sensitive

Penelitian ini menunjukkan daya hambat ekstrak daun kayu putih konsentrasi (b/v) 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, dan 100% dengan diameter rata-rata seperti yang ditunjukkan pada Tabel 1, dapat disimpulkan berdasarkan CLSI (2014) respon hambatan pertumbuhan MRSA terhadap ekstrak daun kayu putih dari konsentrasi 50% b/v sampai 100% b/v termasuk ke dalam intermediet.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak ethanol daun kayu putih dengan konsentrasi (b/v) 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, dan 100% mampu menghambat aktivitas MRSA dengan diameter zona hambat secara berurutan 17,2 mm; 18,1 mm; 19,1 mm; 19,4 mm; 19,7 mm; dan 20,1 mm.

## 6. REFERENSI

- Carson, C. F., Mee, B. J. & Riley, T. V. 2002. Mechanism of Action of Melaleuca alternifolia (tea tree) oil on Staphylococcus aureus determined by time-kill, lysis, leakage, and salt tolerance assays and electron oil content and composition of peppermint Phytochemistry. 29, 2837-2840.
- Depkes RI. 2016. Mari Bersama Atasi Resistensi Antimikroba (AMR). (<http://www.depkes.go.id/article/view/16060800002/mari-bersama-atasi-resistensi-antimikroba-amr-.html>). Diakses tanggal 29 mei 2019.
- Helfiansah, R., Sastrohamidjojo, H., Riyanto. 2013. Isolasi, Identifikasi Dan Pemurnian Senyawa 1,8 Sineol Minyak Kayu Putih (*Melaleuca leucadendron*). ASEAN Journal of Systems Engineering. 1(1): 19-24.
- Jawetz, Melnick, dan Adel Adelsberg's. 2010. Mikrobiologi Kedokteran. Penerbit Salemba Medika. Jakarta. EGC
- Nismawati, Sjahril, R., Agus, R. 2018. Deteksi Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) Pada Pasien Rumah Sakit Universitas Hasanuddin Dengan Metode Kultur. Prosiding Seminar Nasional Megabiodiversitas Indonesia. 09 April 2018, Gowa. Indonesia. Hal. 15-21.
- Rahmadiani, M., Santosaningsih, D., AS, N. 2015. Perbandingan Efek Ekstrak Daun Kayu Putih (*Melaleuca leucadendron* L.) sebagai Antibiofilm *Staphylococcus aureus* Isolat Darah dan Urin. Majalah Kesehatan FKUB. 2 (2): 70-78.
- Sirregar, I. 2010. Isolasi Dan Analisis Komponen Minyak Atsiri Dari Daun Kayu Putih (*Melaleuca folium*) Segar Dan Kering Secara Gc - Ms. Skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara Medan.
- Tuhu, P. 2008. Efek Analgetika Ekstrak Etanol Daun Kayu Putih (*Melaleuca leucadendron* L) Pada Mencit Jantan. Skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Ula, E. 2014. Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Bawang Putih Anggur (*Pseudocalymma alliaceum* (L.) Sandwith) Dan Minyak Atsiri Daun Kayu Putih



(*Melaleuca leucadendron* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli*. Skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.

