

## Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kayu Kapur *Melanolepis multiglandulosa* Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan Bakteri *Escherichia coli*

Deo Tampongangoy<sup>1\*</sup>, Wilmar Maarisit<sup>1</sup>, Amal R. Ginting<sup>1</sup>,  
Silvana Tumbel<sup>2</sup>, Selvana Tulandi<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Farmasi, Fakultas MIPA, Universitas Kristen Indonesia Tomohon

<sup>2</sup>Program Studi Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Kristen Indonesia Tomohon

\*Penulis Korespondensi: deotampongangoy@gmail.com

Diterima: 4 Maret 2018, Disetujui: 21 Maret 2018

### ABSTRAK

Bakteri adalah salah satu penyebab terjadinya infeksi, *Staphylococcus aureus* menjadi penyebab infeksi pada kulit dan luka sedangkan *Escherichia coli* menyebabkan peradangan pada saluran kemih. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri serta nilai MIC dan MBC ekstrak daun Kayu Kapur (*Melanolepis multiglandulosa*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan bakteri *Escherichia coli*. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah difusi agar menggunakan kertas cakram. Hasil penelitian semua konsentrasi ekstrak daun Kayu Kapur (*Melanolepis multiglandulosa*) mulai dari 400, 500, 600, 700, 800, 900 hingga 1000 µg/10 µL menunjukkan adanya aktivitas antibakteri yang ditandai dengan terbentuknya zona hambat pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Dari penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun Kayu Kapur memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Nilai MIC ekstrak daun Kayu Kapur terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* adalah 43,1 µg/10 µL dan nilai MBC-nya adalah 172,4 µg/10 µL, sedangkan nilai MIC ekstrak daun Kayu Kapur terhadap bakteri *Escherichia coli* adalah 43,975 µg/10 µL dan nilai MBC-nya adalah 175,9 µg/10 µL.

**Kata kunci:** Kayu kapur, Antibakteri, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, MIC.

### ABSTRACT

Bacteria are one of the causes of infection, *Staphylococcus aureus* causes infections of the skin and wounds while *Escherichia coli* causes inflammation of the urinary tract. The purpose of this study was to determine the antibacterial activity as well as the value of MIC and MBC of Kapur Wood leaf extract (*Melanolepis multiglandulosa*) against *Staphylococcus aureus* bacteria and *Escherichia coli* bacteria. The method used in this study is agar diffusion to use paper discs. The results of all research concentrations of Kapur Wood extract (*Melanolepis multiglandulosa*) ranging from 400, 500, 600, 700, 800, 900 to 1000 µg / 10 µL showed antibacterial activity characterized by the formation of inhibitory zones in *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria. From the research conducted it can be concluded that the Kapur Wood leaves extract have antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. The MIC value of Kapur Wood leaf extract against *Staphylococcus aureus* bacteria was 43.1 µg / 10 µL and the MBC value was 172.4 µg / 10 µL, while the MIC value of Kapur Wood leaf extract against *Escherichia coli* bacteria was 43.975 µg / 10 µL and the MBC value is 175.9 µg / 10 µL.

**Keywords:** Kapur Wood, Antibacterial, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, MIC.

## PENDAHULUAN

Penyakit infeksi hingga saat ini masih menjadi masalah besar bagi negara-negara berkembang, salah satunya Indonesia. Penyakit ini dapat menular terutama pada individu dengan sistem kekebalan tubuh yang lemah (Mutsaqof *et al.*, 2015). Bakteri menjadi salah satu penyebab utama terjadinya penyakit infeksi, bakteri dapat menyebabkan terjadinya infeksi pada individu yang ditempatinya, terlebih jika terdapat luka terbuka pada bagian kulit. Bakteri terbagi atas bakteri gram positif dan bakteri gram negatif (Campbell *et al.*, 2003)

*Staphylococcus aureus* adalah salah satu bakteri gram positif yang dapat ditemukan hidup di kulit, saluran pernapasan dan saluran pencernaan (Vandepitte *et al.*, 2003). *S. aureus* umumnya dapat hidup berdampingan dengan inangnya namun, *S. aureus* dapat menjadi bakteri patogen jika sampai masuk ke jaringan bawah kulit. Pada beberapa situasi *S. aureus* dapat menyebabkan infeksi yang serius dan berlangsung lama. *S. aureus* memproduksi racun yang dapat mencemari makanan dan dapat membahayakan kesehatan (Murray *et al.*, 2003).

*Escherichia coli* adalah salah satu flora normal yang dapat ditemukan pada saluran pencernaan hewan maupun manusia. *E. coli* termasuk dalam bakteri gram negatif yang hidup normal di usus besar, akan tetapi dapat menjadi patogen apabila menyebar ke organ lain. Misalnya dapat menyebabkan peradangan pada saluran kemih (Melliawati, 2009).

Tumbuhan Kayu Kapur (*Melanolepis multiglandulosa*) yang adalah salah satu jenis tumbuhan dari keluarga *Euphorbiaceae*. Secara empiris, masyarakat Minahasa biasanya menggunakan tumbuhan ini untuk menyembuhkan berbagai macam penyakit seperti sakit kepala, patah tulang, cekok lender, obat penyakit kulit atau gatal-gatal (Kinho *et al.*, 2011). Di desa Toundanouw Satu, Kecamatan Touluaan, Kabupaten Minahasa Tenggara tumbuhan Kayu Kapur sering digunakan untuk mengobati patah tulang, luka gores ataupun luka yang disebabkan oleh benda tajam seperti pisau, tumbuhan ini juga untuk mengobati gatal-gatal. Bagian yang digunakan adalah daun yang di tumbuk halus dan ditempelkan pada bagian yang sakit, luka atau gatal.

Penelitian terdahulu yang dilakukan Kinho *et al.*, (2011) terhadap kandungan metabolit sekunder pada daun Kayu Kapur terindikasi mengandung senyawa flavonoid, saponin, dan alkaloid. Apostol *et al.*, (2016) dalam penelitiannya melaporkan

bahwa daun Kayu Kapur mengandung senyawa metabolit sekunder  $\beta$ -sitosterol dan beberapa senyawa metabolit sekunder lainnya. Diduga senyawa-senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam daun Kayu Kapur memiliki aktivitas dalam menghambat ataupun membunuh sel bakteri.

Antibakteri adalah zat yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan sel bakteri (bakteriostatik), ataupun membunuh sel bakteri (bakterisida) (Kohanski *et al.*, 2010). Antibakteri dapat bekerja pada bagian tertentu dari sel bakteri yaitu, membran sitoplasma, dan ada juga yang dapat menghambat beberapa proses yang terjadi pada sel bakteri yaitu proses sintesis dinding sel, sintesis asam nukleat, sintesis protein, dan jalur metabolisme sel bakteri (Tenover, 2006).

Selain digunakan secara empiris untuk mengobati berbagai macam penyakit, daun Kayu Kapur juga mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder yang diduga memiliki aktivitas antibakteri. Hal inilah yang melatarbelakangi peneliti untuk meneliti tentang uji aktivitas antibakteri dari ekstrak daun Kayu Kapur terhadap bakteri *S. aureus* dan bakteri *E. coli*. Hipotesis penelitian, ekstrak daun Kayu Kapur memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Tujuan penelitian ini, untuk mengetahui apakah ada aktivitas antibakteri dari ekstrak daun Kayu Kapur terhadap bakteri *S. aureus* dan bakteri *E. coli*, serta menentukan nilai MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) dan MBC (*Minimum Bactericidal Concentration*) ekstrak daun Kayu Kapur terhadap bakteri *S. aureus* dan bakteri *E. coli* dari nilai zona hambat yang terbentuk setelah pengujian.

## METODE PENELITIAN

Metode uji antibakteri yang dipakai dalam penelitian ini menggunakan teknik difusi agar dengan kertas cakram. Jenis penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium, dengan menggunakan 7 konsentrasi dengan 3 kali pengujian untuk dua jenis bakteri.

## Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain daun Kayu Kapur, bakteri *S. aureus* (ATCC 25923), bakteri *E. coli* (ATCC 25922), etanol 70% sebagai pelarut, aquadest, nutrient Broth (NB), Nutrien Agar (NA), etanol 70% sebagai kontrol negatif, dan ciprofloxacin sebagai kontrol positif.

Alat-alat yang digunakan adalah gelas ukur, erlenmeyer, oven, *aluminium foil*, timbangan analitik (Pgl 20001), bejana kaca, botol kaca, batang pengaduk, kertas saring, gelas *beaker*, *rotary evaporator eyela* (N-1001V-W), inkubator, kawat ose, pembakar bunsen, jangka sorong, cawan petri, autoklaf, gelas ukur, tabung reaksi, *Laminar Air Flow* (LAF), spektrofotometer (Uv-Vis T60), kuvet, *magnetic stirrer*, vortex, pinset, mikropipet, spatula, dan kertas cakram (advantec).

### Ekstraksi Sampel

Sampel daun Kayu Kapur yang diambil, dibersihkan, dirajang dan ditimbang sebanyak 500 gram. Setelah itu, diekstraksi dengan metode maserasi yaitu dengan merendam sampel menggunakan etanol 70% sebanyak 3 liter selama 1x24 jam, hasil maserasi difiltrasi dengan kertas saring hingga didapat filtrat dan residu, residu direndam kembali dengan etanol 70% sebanyak 3 liter. Proses ini dilakukan sebanyak 3 kali. Filtrat yang didapat dievaporasi hingga didapat ekstrak kental.

### Pembuatan Larutan Nutrien Agar (NA) dan Nutrien Broth (NB)

Untuk larutan *Nutrient Agar* (NA), sebanyak 1,2 g dilarutkan dalam 50 mL aquadest dalam erlenmeyer, selanjutnya dihomogenkan dengan *magnetic stirrer*, larutan NA digunakan untuk pembuatan media agar miring. Selanjutnya, sebanyak 1 gram NB ditimbang dan dilarutkan dengan 100 mL aquadest kemudian dihomogenkan dengan *magnetic stirrer*. Larutan NB kemudian dibagi, sebanyak 15 mL NB digunakan sebagai larutan blanko untuk analisis spektrofotometer dan 85 mL untuk media kultur bakteri.

### Sterilisasi dan Pembuatan Media Agar Miring

Alat-alat yang berbahan kaca disterilkan menggunakan oven pada suhu 160°C selama 2 jam, untuk alat-alat yang tidak berbahan kaca disterilkan bersama dengan larutan NA dan NB dengan autoclaf pada tekanan 1 atm dengan suhu 121 °C selama 15 menit. Larutan NA yang telah steril didinginkan sampai suhu ± 45-50 °C. Sebanyak 5 mL Larutan NA dituangkan dalam tabung reaksi dan diletakkan dengan posisi miring dan biarkan hingga memadat. Media agar miring digunakan untuk peremajaan bakteri uji.

### Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Bakteri uji pada media agar miring diambil dengan kawat ose steril lalu disuspensikan ke dalam

erlenmeyer yang berisi 100 ml NB yang telah disterilkan kemudian diaduk, selanjutnya suspensi bakteri di inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

### Pembuatan Media Padat

Sebanyak 1 gram NB dicampurkan dengan 1,5 g agar yang sudah ditimbang dan tambahkan aquadest sebanyak 100 mL kemudian dihomogenkan dengan *magnetic stirrer*, larutan yang sudah homogen disterilisasi dengan autoclaf pada suhu 121 °C selama 15 menit.

### Prosedur Uji Antibakteri

Ekstrak kental daun Kayu Kapur ditimbang sebanyak 1 g kemudian dilarutkan dalam 10 mL etanol 70 % sebagai larutan standar, kemudian dibuat 7 serial konsentrasi yaitu 40 mg/mL, 50 mg/mL, 60 mg/mL, 70 mg/mL, 80 mg/mL, 90 mg/mL, 100 mg/mL. Untuk kontrol positif sebanyak 50 mg ciprofloxacin dilarutkan dengan 100 mL aquadest steril dan untuk kontrol negatif digunakan etanol 70%. Masing-masing seri konsentrasi ekstrak, kontrol positif dan kontrol negatif diambil menggunakan mikropipet sebanyak 10 µL dengan konsentrasi akhir 400, 500, 600, 700, 800, 900 dan 1000 µg/10 µL, kemudian ditotolkan pada kertas cakram. Konsentrasi tersebut digunakan karena pada pra penelitian yang dilakukan sebelumnya, dengan konsentrasi 100, 150, 200, 250, 300, 350, dan 400 µg/10 µL, hanya konsentrasi 400 µg/10 µL yang menunjukkan adanya aktivitas antibakteri ditandai terbentuknya zona hambat pada bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Kertas cakram berisi ekstrak, kontrol positif, dan kontrol negatif dikeringkan dahulu pada suhu ruangan sebelum pengujian. Pengeringan bertujuan menghilangkan efek antibakteri etanol 70%.

Suspensi bakteri nilai kepadatannya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 600 nm. Myers *et al.*, (2013) menyatakan bahwa spektrofotometer UV-Vis akan mengukur jumlah cahaya yang diabsorpsi dan dihamburkan. Setelah kepadatan bakteri diketahui, suspensi bakteri kemudian diencerkan hingga menjadi  $1 \times 10^6$ . Suspensi bakteri yang telah diencerkan, diambil dan dimasukkan kedalam erlenmeyer yang berisi 100 mL media padat steril dan sudah didinginkan hingga suhu ± 45-50 °C.

Erlenmeyer kemudian digoyangkan hingga suspensi bakteri tercampur dengan media, selanjutnya media dituang sebanyak 20 mL untuk setiap cawan petri dan dibiarkan hingga memadat. Kertas cakram yang telah kering ditempelkan pada media pengujian dalam cawan petri yang telah diberi tanda dan dibiarkan selama 24 jam pada suhu

37°C. Selanjutnya diukur zona hambat yang terbentuk menggunakan jangka sorong. Pengujian ini dilakukan sebanyak 3 kali.

### Perhitungan Zona Hambat

Perhitungan diameter zona hambat Tethool (2017):

$$\text{Rumus : } d = \frac{A+B}{2} \quad (1)$$

Keterangan :

d = diameter zona hambat

A = diameter vertikal

B = diameter horisontal

Tabel 1. Kategori antibakteri Davis dan Stout (1971)

| Diameter Zona Hambat (mm) | Aktivitas Antibakteri |
|---------------------------|-----------------------|
| 2-5                       | Sangat Lemah          |
| 5-10                      | Sedang                |
| 10-20                     | Kuat                  |
| ≥20                       | Sangat kuat           |

### Penentuan MIC Dan MBC

Nilai MIC ditentukan untuk mengetahui konsentrasi minimum dari ekstrak daun Kayu Kapur yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan bakteri *E. coli*, sedangkan penentuan nilai MBC bertujuan untuk mengetahui konsentrasi minimum dari ekstrak daun Kayu Kapur yang dapat membunuh bakteri *S. aureus* dan bakteri *E. coli*. Nilai MIC dapat ditentukan dengan cara membuat kurva regresi linier antara sumbu X (ln Mo = ln konsentrasi ekstrak) dan sumbu Y (Z<sup>2</sup> = nilai kuadrat dari zona penghambatan). Kurva linier yang

### Hasil Pengujian Antibakteri

Tabel 3. Hasil pengujian aktivitas antibakteri pada bakteri *S. aureus* dan *E. coli*

| Konsentrasi Ekstrak                              | Diameter Zona Hambat (mm) |       |       |           |                |       |       |           |
|--|---------------------------|-------|-------|-----------|----------------|-------|-------|-----------|
|  | <i>S. aureus</i>          |       |       |           | <i>E. coli</i> |       |       |           |
|  | I                         | II    | III   | Rata-Rata | I              | II    | III   | Rata-Rata |
| 400 µg/10 µL                                     | 6.10                      | 6.40  | 6.10  | 6.20      | 6.10           | 6.10  | 6.10  | 6.10      |
| 500 µg/10 µL                                     | 6.10                      | 6.50  | 6.40  | 6.33      | 6.10           | 6.30  | 6.20  | 6.20      |
| 600 µg/10 µL                                     | 6.50                      | 6.60  | 6.40  | 6.50      | 6.30           | 6.30  | 6.30  | 6.30      |
| 700 µg/10 µL                                     | 6.60                      | 6.70  | 6.70  | 6.60      | 6.40           | 6.10  | 6.10  | 6.20      |
| 800 µg/10 µL                                     | 6.70                      | 6.70  | 6.80  | 6.73      | 6.60           | 6.60  | 6.60  | 6.60      |
| 900 µg/10 µL                                     | 6.80                      | 6.80  | 6.70  | 6.76      | 6.70           | 6.70  | 6.70  | 6.70      |
| 1000 µg/10 µL                                    | 6.70                      | 6.90  | 6.90  | 6.83      | 6.70           | 6.70  | 6.80  | 6.73      |
| Kontrol Positif<br>Ciprofloxacin<br>(5 µg/10 µL) | 21.00                     | 21.00 | 22.00 | 21.60     | 20.00          | 20.00 | 19.00 | 19.60     |
| Kontrol Negatif<br>Etanol 70 % 10 µL             | 0.00                      | 0.00  | 0.00  | 0.00      | 0.00           | 0.00  | 0.00  | 0.00      |

Keterangan: I = pengujian pertama, II = pengujian Kedua, III = pengujian ketiga

berpotongan dengan sumbu X merupakan nilai ln Mt, nilai MIC adalah 0,25 kali nilai Mt. sedangkan nilai MBC merupakan nilai MIC dikali empat (Bloomfield, 1991).

### Analisa Data

Data hasil yang didapat diuji homogenitas menggunakan uji *One Way ANOVA* dengan nilai signifikan > α = 0,05. Apabila nilai signifikan < α = 0,05 berarti datanya tidak homogen, sehingga harus dianalisis menggunakan uji non-parameter *Kruskal-wallis* dengan tingkat kepercayaan 95 %. Uji *Kruskal-wallis* untuk melihat perbedaan aktivitas penghambatan antara tiap-tiap perlakuan konsentrasi yang diberikan pada bakteri *S. aureus* dan bakteri *E. coli*. Uji *Kruskal-wallis* digunakan karena tidak memerlukan data homogen seperti uji *One Way Anova*.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

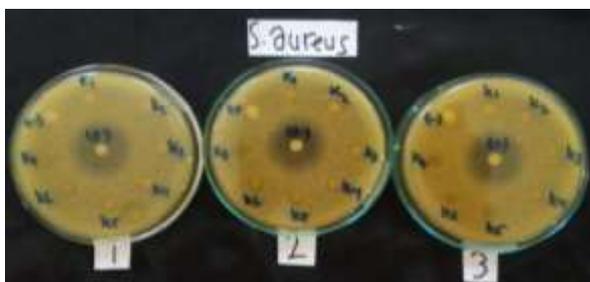
### Hasil Perhitungan Rendemen Ekstrak

Tabel 2. Rendemen ekstrak daun kayu kapur

| Sampel          | Berat Sampel | Pelarut    | Berat Ekstrak | % Rendemen |
|-----------------|--------------|------------|---------------|------------|
| Daun Kayu Kapur | 500 gram     | Etanol 70% | 42 gram       | 8.4        |

Dari tabel diatas dapat dilihat bahwa jumlah ekstrak yang didapat setelah evaporasi adalah 42 gram atau 8,4 % dari 500 gram sampel. Persen rendemen dihitung untuk membandingkan berat ekstrak dengan berat sampel.

Data hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun Kayu Kapur terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* pada tabel 3 diatas, menunjukkan bahwa semua konsentrasi ekstrak daun Kayu Kapur yang digunakan memiliki aktivitas antibakteri bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Konsentrasi ekstrak 400 µg/10 µL memiliki nilai zona hambat terkecil pada bakteri *S. aureus* dan *E. coli*, yaitu masing-masing 6,20 mm dan 6,10 mm. Sedangkan konsentrasi ekstrak 1000 µg/10 µL memiliki nilai zona hambat terbesar pada kedua bakteri, masing-masing 6,83 mm dan 6,73 mm. Dapat dilihat pula bahwa konsentrasi 500 dan 700 µg/10 µL pada bakteri *E. coli* memiliki nilai zona hambat yang sama. Hal ini dapat disebabkan oleh ekstrak pada konsentrasi 700 µg/10 µL dalam kertas cakram tidak berdifusi dengan baik kedalam media, sehingga penghambatan ekstrak terhadap bakteri *E. coli* tidak maksimal. Dari semua perlakuan yang diberikan pada kedua bakteri, nilai zona hambat terbesar terdapat pada kontrol positif ciprofloxacin dengan konsentrasi 5 µg/10 µL sedangkan kontrol negatif etanol 70% tidak menunjukkan adanya zona hambat yang terbentuk. Hasil pengujian antibakteri dapat dilihat pada gambar 1 dan 2.



Gambar 1. Hasil Pengujian Antibakteri Pada *S. aureus*

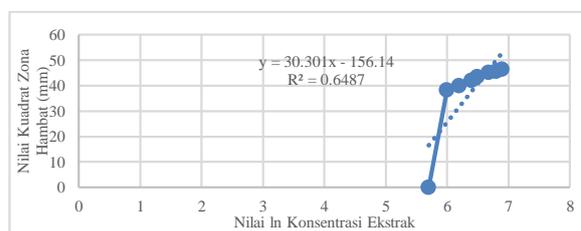


Gambar 2. Hasil Pengujian Antibakteri Pada *E. coli*

**Penentuan Nilai MIC dan MBC**

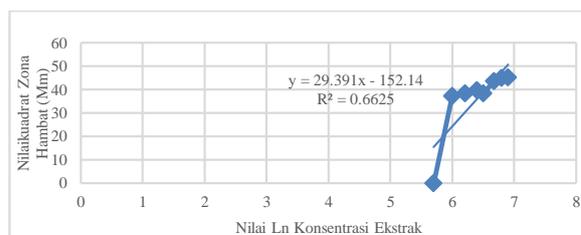
Untuk menentukan nilai MIC dan MBC diperlukan satu data konsentrasi ekstrak yang belum menunjukkan aktivitas antibakteri, karena itu data konsentrasi 300 µg/10 µL pada pra penelitian

sebelumnya yang tidak menunjukkan aktivitas antibakteri pada kedua bakteri uji, ditambahkan untuk membuat kurva regresi linier.



Gambar 3. Kurva regresi linier penentuan MIC dan MBC pada bakteri *S. aureus*

Dari kurva diatas, diketahui bahwa persamaan regresi linier antara sumbu X dan sumbu Y adalah  $y=30,301x-156,14$ . Setelah dihitung, nilai MIC ekstrak daun Kayu Kapur terhadap bakteri *S. aureus* adalah 43,1 µg/10µL dan nilai MBC-nya adalah 172,4 µg/10µL.



Gambar 4. Kurva Regresi Linier penentuan MIC dan MBC pada bakteri *E. coli*

Dari kurva diatas, diketahui bahwa persamaan regresi linier antara sumbu X dan sumbu Y adalah  $y = 29,391x - 152,14$ . Setelah dihitung, nilai MIC dari ekstrak daun Kayu Kapur Terhadap bakteri *E. coli* adalah 43,975 µg/10µL dan nilai MBC-nya adalah 175,9 µg/10µL.

Hasil perhitungan MIC dan MBC dari ekstrak daun Kayu Kapur terhadap bakteri *S. aureus* dan bakteri *E. coli* tidak menunjukkan adanya perbedaan yang besar, meskipun struktur sel dari bakteri *S. aureus* (gram positif) dan bakteri *E. coli* (gram negatif) berbeda. Hal ini dapat disebabkan oleh mekanisme kerja antibakteri yang berbeda dari beberapa kandungan senyawa metabolit sekunder pada daun Kayu Kapur, daun Kayu Kapur diketahui memiliki mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder yang memiliki efek antibakteri yaitu flavonoid, alkaloid, saponin, dan β-sitosterol.

Ada banyak senyawa turunan dari flavonoid, diantaranya: flavon, flavonon, isoflavon dan flavonol. Flavonoid memiliki banyak aktivitas, salah satunya aktivitas antibakteri. Flavonoid diduga dapat mengikat protein pada membran plasma sel bakteri dan membentuk senyawa kompleks,

sehingga membran plasma bakteri menjadi lemah dan terjadi kebocoran pada membran plasma. Hal ini mengakibatkan keluarnya komponen-komponen dalam sel bakteri (Cowan, 1999).

Alkaloid sebagai salah satu metabolit sekunder dari tumbuhan yang diketahui bersifat racun bagi organisme lain, hal ini juga yang membuat alkaloid dapat berfungsi sebagai antibakteri. Darsana *dkk.*, (2012) menyatakan alkaloid yang terkandung dalam daun Binahong *Anredera Cordifolia* dapat menghambat proses pembentukan komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri *E. coli*, akibatnya lapisan dinding sel yang terbentuk juga lemah dan menyebabkan sel bakteri lisis oleh tekanan osmotik.

Selain menghambat pembentukan peptidoglikan pada dinding sel bakteri, alkaloid dapat merusak enzim RNA polimerase yang merupakan enzim yang bertanggungjawab mengatur sintesis asam nukleat dari DNA menjadi RNA dan hal ini akan menghambat proses pembentukan RNA itu sendiri (Aniszewski, 2007). Alkaloid juga berfungsi sebagai interkelator DNA dan mengikat enzim topoisomerase II, enzim topoisomerase II adalah enzim yang bertugas untuk menahan puntiran pada saat sintesis asam nukleat DNA berlangsung. Alkaloid mengikat enzim topoisomerase II dan hal ini akan menyebabkan relaksasi pada untai DNA dan mengakibatkan kerusakan DNA bakteri (Bonjean *et al.*, 1998; Dassonneville *et al.*, 2000; Guittat *et al.*, 2003; Karou dan Savadogo, 2005).

Saponin (busa) pada tumbuhan diketahui memiliki aktifitas toksik yang cukup kuat, sehingga beberapa tumbuhan yang memiliki busa yang banyak, sering digunakan masyarakat sebagai racun ikan. Karena sifat racunnya saponin memungkinkan untuk dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri. Penelitian yang dilakukan oleh Madduluri *et al.*, (2013) melaporkan saponin bekerja sebagai antibakteri dengan menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel bakteri. Secara spesifik Cavalieri *et al.*, (2005) mengatakan saponin dapat berdifusi melalui membran luar dan dinding sel yang rentan kemudian mengikat membran sitoplasma kemudian menyebabkan kerusakan pada membran plasma dan menyebabkan sel bakteri lisis.

Selain flavonoid, alkaloid dan saponin, daun Kayu Kapur diketahui mengandung senyawa  $\beta$ -Sitosterol. Johannes (2013) menyatakan bahwa senyawa  $\beta$ -Sitosterol memiliki sifat bakteriostatik, senyawa ini bekerja dengan cara berikatan dengan membran menimbulkan ketidakaturan pada

membran sel bakteri, sehingga dapat menghambat pertumbuhan sel bakteri.

Meskipun bakteri gram positif (*S. aureus*) dan bakteri gram negatif (*E. coli*) memiliki struktur sel yang berbeda, terutama pada dinding sel, akan tetapi perbedaan mekanisme kerja antara senyawa-senyawa yang terkandung dalam daun Kayu Kapur menyebabkan nilai zona hambat serta MIC dan MBC dari ekstrak daun Kayu Kapur terhadap kedua bakteri uji tidak berbeda jauh.

### Uji Statistik

Data hasil uji aktivitas antibakteri pada bakteri *S. aureus* dan bakteri *E. coli* dianalisis dengan program SPSS versi 22 menggunakan uji *One Way ANOVA* untuk melihat apakah data tersebut homogen atau tidak. Hasil uji homogenitas data aktivitas antibakteri pada bakteri *S. aureus* dan bakteri *E. coli* dapat dilihat pada tabel 4 dan 5.

Tabel 4. Hasil Uji Homogenitas Data Aktivitas Antibakteri pada Bakteri *S. aureus*

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig.  |
|------------------|-----|-----|-------|
| 8,965            | 8   | 18  | 0,000 |

Tabel 5. Hasil Uji Homogenitas Data Aktivitas Antibakteri pada Bakteri *E. coli*

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig.  |
|------------------|-----|-----|-------|
| 12,941           | 8   | 18  | 0,000 |

Dari kedua tabel hasil uji homogenitas yang telah dilakukan dapat dilihat bahwa nilai signifikan = 0,000 kurang dari  $\alpha = 0,05$ . Hal menunjukkan bahwa data yang didapat setelah pengujian aktivitas antibakteri pada bakteri *S. aureus* dan *E. coli* tidak homogen, karena itu uji statistik harus dilakukan dengan menggunakan metode *Kruskal-Wallis* untuk melihat apakah tiap-tiap perlakuan konsentrasi yang diberikan memiliki aktivitas penghambatan yang berbeda pada bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

Tabel 6. Hasil Uji *Kruskal-Wallis* Aktivitas Antibakteri Pada Bakteri *S. aureus*

|            | ZonaHambat |
|------------|------------|
| Chi-Square | 24.334     |
| Df         | 8          |

|  |        |
|--|--------|
| Asymp. Sig.  | 0.002  |
| Tabel 7. Hasil Uji <i>Kruskal-Wallis</i> Aktivitas Antibakteri Pada Bakteri <i>E. coli</i> |        |
| ZonaHambat   |        |
| Chi-Square   | 24.801 |
| Df   | 8      |
| Asymp. Sig.  | 0.002  |

Dari hasil uji statistik menggunakan uji *Kruskal-Wallis* pada tabel 4 dan 5 dapat dilihat bahwa nilai signifikan 0,002 kurang dari  $\alpha = 0,05$ , karena itu dapat disimpulkan bahwa tiap-tiap perlakuan yang diberikan, memiliki nilai zona hambat yang berbeda pada bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Jones (2010) menyatakan bahwa jika nilai derajat bebas atau Df = 8, maka nilai Chi-Square yang memenuhi syarat untuk penelitian dengan tingkat kepercayaan 95% atau nilai  $\alpha = 0,05$  adalah 15,507 dan nilai Chi-Square uji statistik pada tabel 9 untuk bakteri *S. aureus* adalah 24.334 dan nilai Chi-Square pada tabel 10 untuk bakteri *E. coli* adalah 24.801. Dengan demikian, telah memenuhi syarat untuk penelitian dengan tingkat kepercayaan 95 %.

Setelah dilakukan penelitian, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun Kayu Kapur memiliki aktivitas antibakteri pada bakteri *S. aureus* dan bakteri *E. coli*. Dengan demikian hipotesis awal yang menyatakan bahwa daun Kayu Kapur memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* dan bakteri *E. coli* terbukti benar.

### KESIMPULAN

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan:

1. Ekstrak daun Kayu Kapur memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* dan bakteri *E. coli* dengan kategori sedang.
2. Nilai MIC dari ekstrak daun Kayu Kapur terhadap bakteri *S. aureus* adalah 43,1 µg/10µL dan nilai MBC-nya yaitu 172,4 µg/10µL. Sedangkan nilai MIC ekstrak daun Kayu Kapur terhadap bakteri *E. coli* adalah 43,975 µg/10µL dan nilai MBC-nya yaitu 175,9 µg/10µL.

### DAFTAR PUSTAKA

Aniszewski, T. 2007. Alkaloids-Secret of Life: Alkaloid Chemistry, Biological, Significance, Applications and Ecological Role. Elsevier Oxford. pp 6-12,130, and 187.

Apostol, P.G, M.M.D.L. Reyes, I.A.V. Altena, C.Y. Ragasa. 2016. Chemical Constituents of *Melanolepis multiglandulosa*. *International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 8(12): 0975-1556.

Bloomfield, S.F. 1991. Assessing antimicrobial activity. Di dalam: Denyer SP, Hugo WB. (eds). Mechanism of Action of Chemical Biocides. Oxford. Blackwell Scientific Publicat.

Bonjean, K, D. Pauw-Gillet, M.P. Defresne, P. Colson, C. Houssier, L. Dassonneville, C. Bailly, R. Greimers, C. Wright, J. Quentin-Leclercq, M. Tits, and L. Angenot. 1998. The DNA intercalating alkaloid cryptolepine interferes with topoisomerase II and inhibits the primarily DNA synthesis in B16 melanoma cells. *Journal Biochemistry* 37(15): 5136-5146.

Campbell, N.A, B.R. Jane, and G.M. Lawrence. 2003. Biologi Jilid II. Edisi V. Jakarta. Erlangga. hal 118.

Cavalieri, S.J, I.D. Rankin, R.J. Harbeck, R.S. Sautter, Y.S. McCarter, S.E. Sharp, J.H. Ortez, and C.A. Spiegel. 2005. Manual of Antimicrobial Susceptibility Testing. USA: American Society for Microbiology.

Cowan, M.M. 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*. 12: 564 – 582.

Darsana, O.G.I, K.N.I. Besung, dan H. Mahatmi. 2012. Potensi Daun Binahong (*Anredera Cordifolia* (Tenore) Steenis) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* secara In Vitro. *Jurnal Indonesia Medicus Veterinus*. 1(3): 337–351.

Dassonneville L, A. Lansiaux, A. Wattelet, N. Wattez, C. Mathieu, S. Van. Miert, L. Pieters, and C. Bailly. 2000. Cytotoxicity and cell cycle effect of the plant alkaloids cryptolepine and neocryptolepine: relation to drug-induced apoptosis. *Eur. Journal Pharmacol*. 409(1): 9-18.

Davis, W.W and Stout, T.R. 1971. Disc Plate Method of Microbiological Assay. *Journal of Microbiology*. 22(4): 659-665.

Guittat L, P. Alberti, F. Rosu, S. Van. Miert, E. Thetiot, L. Pieters, V. Gabelica, E.D. Pauw, A. Ottaviani, J.F. Roiu, and J.L. Mergny. 2003. Interaction of cryptolepine and neocryptolepine with unusual DNA structures. *Journal Biochemistry*. 85(5): 535-541.

Johannes, E. 2013. Pemanfaatan Senyawa Bioaktif Hasil Isolasi Hydroid *Aglophennia cupressina* Lamoureae Sebagai Bahan Sanitizer Pada

- Buah Dan sayuran Segar. Disertasi. Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Jones, D.S. 2010. Statistik Farmasi. EGC. Jakarta. hal 553
- Karou, D, and A. Savadogo. 2005. Antibacterial activity of alkaloids from *Sida acuta*. *African Journal of Biotechnology*. 4(12): 1452-1457.
- Kinho, J, D.I.D. Arini, J. Halawane, L. Nurani, Halidah, Y. Kafiari, dan M.C. Karundeng 2011. Tumbuhan Obat Tradisional Di Sulawesi Utara Jilid II. Balai Penelitian Kehutanan Manado, Manado. hal 45.
- Kohanski, M.A, D.J. Dwyer, and J.J. Collins. 2010. How antibiotics kill bacteria: from targets to networks. *Nature Journal Reviews Microbiology*. 8(6):423-435.
- Madduluri, S, K.B. Rao, and B. Sitaram. 2013. In Vitro Evaluation of Antibacterial Activity of Five Indigenous Plants Extract Against Five Bacterial Pathogens of Human. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 5(4): 679-684.
- Melliawati R. 2009. *Escherichia coli* dalam kehidupan manusia. *Bio Trends*. 4(1): 10-14
- Murray, P, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and Y.H. Tenover. 2003. Manual of Clinical Microbiology. 8th Ed. Washington, DC :American Society of Microbiology.
- Mutsaqof, A.A.N, Wiharto, E. Suryani. 2015. Sistem Pakar Untuk Mendiagnosis Penyakit Infeksi Menggunakan Forward Chaining. *Jurnal Itsmart*. 4(1): 2301-7201.
- Myers, J. A, B.S. Curtis, and W.R. Curtis. 2013. Improving accuracy of cell and chromophore concentration measurements using optical density. *BMC Biophys*. 6(1):4.
- Tenover, F.C. 2006. Mechanisms of Antimicrobial Resistance in Bacteria. *The American Journal of Medicine*. 119(1): 3-10.
- Tethol, A.M. 2017. Pengaruh Daya Hambat Sediaan Salep Ekstrak Daun Katuk (*Sauropus androgynus* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri (*Staphylococcus aureus*). Skripsi Program Studi Farmasi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Kristen Indonesia Tomohon.
- Vandepitte, J, J. Verhaegen, K, Engbaek, P. Rohner, P. Piot, and C.C Heuck. 2003. Basic laboratory procedures in clinical bacteriology. 2<sup>nd</sup> edition. pp 94.